



Universidad Nacional de Misiones. Facultad de Ciencias Exactas,
Químicas y Naturales. Secretaría de Investigación y Postgrado.
Maestría en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles

Maestranda
Bqca. María Lorena López

Distribución de *Chlamydia trachomatis* en embarazadas y coinfección con otros agentes de infecciones del tracto genital inferior

**Tesis de Maestría presentada para obtener el título de “Magíster
en Salud Pública y Enfermedades Transmisibles”**

“Este documento es resultado del financiamiento otorgado por el Estado Nacional, por lo tanto,
queda sujeto al cumplimiento de la Ley N°26.899”.

Directora
Dra. Graciela Beatriz Jordá

Posadas, Misiones 2019



Esta obra está licenciado bajo Licencia Creative Commons (CC) Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

MAESTRIA EN SALUD PÚBLICA Y ENFERMEDADES
TRANSMISIBLES

Distribución de *Chlamydia trachomatis* en
embarazadas y coinfección con otros agentes
de infecciones del tracto genital inferior

Maestrando: Bcqa. López, María Lorena

Directora: Dra. Jordá, Graciela Beatriz

Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales

Universidad Nacional de Misiones

Agradecimientos

Después de un arduo trabajo, finalmente ha llegado el momento de agradecer a todas las personas que me acompañaron a lo largo de este complejo y fascinante recorrido.

En primer lugar, quiero agradecer de manera especial y sincera a la Dra. Graciela Jordá por aceptarme para realizar esta tesis de maestría bajo su dirección. Su apoyo y confianza en mi trabajo y su capacidad para guiar mis ideas han sido un aporte invaluable, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora.

A las autoridades del IPS, al Director Eduardo Pegels, y a todos los compañeros del sector de Bacteriología Laura, Yanina, Lorena, Adriana, Luis y Mercedes, que me brindaron todo su apoyo, y sin los cuales la realización de este trabajo no hubiera sido posible.

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Misiones por facilitarme el desarrollo de esta tesis.

A Silvina Hanke por su desinteresado aporte en el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Jorge Deschutter muchas gracias por ayudarme en la revisión final.

Le doy gracias a mi familia, a mis padres por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado y por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

A Javier, por ser una parte muy importante de mi vida, por haberme apoyado en las buenas y en las malas, sobre todo por su paciencia y amor incondicional.

Resumen

Las infecciones vaginales son una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica en las mujeres en edad fértil. En el embarazo se asocian a un gran número de complicaciones ginecoobstétricas y pueden ser transmitidas verticalmente causando morbilidad y mortalidad neonatal.

Entre el 1 de Mayo de 2014 y 30 de Septiembre de 2015, se estudiaron 150 mujeres embarazadas que concurrieron al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones, con el objetivo de detectar la presencia de *Chlamydia trachomatis* y su coinfección con otros agentes causantes de infecciones ginecológicas en pacientes embarazadas.

El estudio incluye (secreción vaginal y endocervical) detección de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida* spp. y *Trichomonas vaginalis*. Mediante técnicas de amplificación génica (PCR), cultivo y observación en fresco respectivamente.

Se encontró una prevalencia del 8% para la infección por *Chlamydia trachomatis*, de las cuales el 25% presentaba síntomas. Se obtuvo un mayor porcentaje en el grupo etario entre 18-29 años. No se detectó *Neisseria gonorrhoeae*. En 30% de las mujeres se observó la presencia de *Candida* spp, distribuida en su mayoría entre las pacientes de mayor edad y las que se encontraban entre el 2º y 3º trimestre de gestación. Se observó una potente asociación estadística entre la candidiasis y la respuesta inflamatoria vaginal ($p < 0.001$). Se registró un 4% de infección por *Trichomonas vaginalis*. El 33.3% de las pacientes presentaron coinfección con *Chlamydia trachomatis* y *Candida* spp. No se registraron complicaciones durante la gestación y el post parto de las pacientes con clamidiasis.

De acuerdo a las prevalencias establecidas es recomendable estudiar microbiológicamente el contenido vaginal durante el embarazo independientemente de la presencia de síntomas clínicos. Y se debe contar con técnicas de diagnóstico sensibles que favorezcan el incremento en la detección y así reducir el riesgo de diseminación, además del tratamiento en forma temprana.

Abstract

Vaginal infections are one of the most frequent causes of gynecological consultation in women in fertile age. They are associated to a great number of gynecological complications and can be vertically transmitted causing neonatal morbidity and mortality.

Between May 1st, 2014 and September 30, 2015, 150 pregnant women were studied at the Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones, with the objective of detecting the presence of *Chlamydia trachomatis* and its coinfection with other causative agents of gynecological infections in pregnant women.

The protocol includes (endocervical and vaginal secretion) detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Candida* spp. and *Trichomonas vaginalis*, which were determined using techniques of gene amplification (PCR), cultivation and wet mount respectively.

A prevalence of 8% was found for *Chlamydia trachomatis* infections, with a 25% of them presenting symptoms. A larger percentage was found in the 18-29 age group. *Neisseria gonorrhoeae* was not detected. *Candida* spp was found in 30% of the women, distributed mostly between elder patients and those in the second and third trimester of gestation. A strong statistical association between candidiasis and vaginal inflammatory response was observed ($p < 0.001$). A 4% of infections caused by *Trichomonas vaginalis* was registered. 33.3% of the patients were presented with coinfection by *Chlamydia trachomatis* and *Candida* spp. There were no registered complications in patients with chlamydia infections during gestation and postpartum.

In accordance with the established prevalences, it is advisable to perform microbiological tests on the vaginal content during pregnancy, regardless of the presence of clinical symptoms. It is also of importance the availability of sensitive diagnostic techniques that promote an increase in detection, decreasing the risk of dissemination, and also help in providing an early treatment.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	10
1.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	10
1.1.1 Definición y Clasificación taxonómica	10
1.1.2 Epidemiología.....	10
1.1.3 Ciclo de vida del género <i>Chlamydia</i>	10
1.1.4 Estructura de <i>Chlamydia trachomatis</i>	11
1.1.5 Estructuras antigénicas	12
1.1.6 Biotipos de <i>Chlamydia trachomatis</i>	12
1.1.7 Aspectos clínicos.....	13
1.1.8 Diagnóstico	13
1.1.9 Tratamiento	15
1.2. <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	15
1.2.1. Definición y Clasificación taxonómica	15
1.2.2. Epidemiología.....	16
1.2.3. Biología y morfología.....	16
1.2.4. Estructura antigénica. Factores de virulencia.....	16
1.2.5. Mecanismos de patogenia	17
1.2.6. Aspectos clínicos.....	18
1.2.7. Diagnóstico	18
1.2.8. Tratamiento	20
1.3. <i>Candida</i> spp.	20
1.3.1. Definición y Clasificación taxonómica	20
1.3.2. Epidemiología.....	20
1.3.3. Mecanismos de patogenia	21
1.3.4. Aspectos clínicos.....	21
1.3.5. Diagnóstico	22
1.3.6. Tratamiento	23
1.4. <i>Trichomonas vaginalis</i>	23
1.4.1. Definición y Clasificación taxonómica	23
1.4.2. Epidemiología.....	23
1.4.3. Mecanismos de patogenia	24
1.4.4. Aspectos clínicos.....	24
1.4.5. Diagnóstico	24
1.4.6. Tratamiento	25
2. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	26

2.1.	Antecedentes	26
2.2.	Justificación.....	27
2.3.	Objetivos	29
2.3.1.	Objetivo general	29
2.3.2.	Objetivos específicos	29

3.	METODOLOGÍA	30
3.1.	Propuesta metodológica.....	30
3.1.1.	Diseño del estudio.....	30
3.1.2.	Lugar de desarrollo del estudio	30
3.1.3.	Población de estudio	30
3.1.4.	Definición del tamaño muestral	31
3.1.5.	Aspectos éticos	31
3.1.6.	Metodología para la recolección de datos y muestras cervicales.....	31
3.2.	Materiales y Métodos	32
3.2.1.	Toma de muestra	32
3.2.2.	Examen en fresco	32
3.2.3.	Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Gram	33
3.2.4.	Detección de <i>Candida</i> spp.	33
3.2.5.	Detección de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	33
3.2.6.	Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ADN	34
3.2.6.1.	Extracción de ADN.....	34
3.2.6.2.	Calidad de la muestra	34
3.2.6.3.	Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	34
3.2.7.	Análisis de los datos.....	36

4.	RESULTADOS.....	37
4.1.	Distribución y características de las mujeres estudiadas	37
4.2.	Investigación de <i>Chlamydia trachomatis</i>	38
4.3.	Investigación de <i>Neisseria gonorrhoea</i>	39
4.4.	Investigación de <i>Candida</i> spp	39
4.5.	Investigación de <i>Trichomonas vaginalis</i>	41
4.6.	Coinfección entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y los diferentes agentes etiológicos	42
4.6.1.	Coinfección entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Candida</i> spp.	42
4.6.2.	Coinfección entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Trichomonas vaginalis</i>	43
4.7.	Evolución del embarazo	43

5. DISCUSIÓN	45
5.1. Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	45
5.2. Detección de <i>Candida</i> spp	46
5.3. Detección de <i>Trichomonas vaginalis</i>	48
5.4. Detección de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	48
5.5. Coinfecciones.....	49
6. CONCLUSIONES	50
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
8. ANEXOS	59
8.1. Anexo I. Consentimiento Informado. Acuerdo Voluntario.....	59
8.2. Anexo II. Planilla de Encuesta.....	63
8.3. Anexo III. Procedimientos de Diagnóstico Molecular	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla Nº1. Asociación de <i>Chlamydia trachomatis</i> y RIV	39
Tabla Nº2. Distribución de <i>Chlamydia trachomatis</i> según rango de edad	39
Tabla Nº3. Asociación de <i>Candida</i> spp. y RIV	40
Tabla Nº4. Asociación de <i>Candida</i> spp. y 1º Trimestre de gestación	40
Tabla Nº5. Asociación de <i>Candida</i> spp. y 2º Trimestre de gestación	40
Tabla Nº6. Asociación de <i>Candida</i> spp. y 3º Trimestre de gestación	41
Tabla Nº7. Distribución de <i>Candida</i> spp. según rango de edad.....	41
Tabla Nº8. Asociación de <i>Trichomonas vaginalis</i> y RIV.....	42
Tabla Nº9. Distribución de <i>Trichomonas vaginalis</i> según rango de edad	42
Tabla Nº10. Coinfección entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Candida</i> spp.	43
Tabla Nº11. Coinfección entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y <i>Trichomonas vaginalis</i>	43

ABREVIATURAS

ADN: Acido Desoxirribonucleico

CDC: Centers Disease Control (Centro para el control de enfermedades)

CE: Cuerpo Elemental

CR: Cuerpo Reticular

CVV: Candidiasis vulvovaginal

IFD: Inmunofluorescencia directa

EIE: Enzimoimmunoensayo

ELISA: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

EPI: Enfermedad inflamatoria pélvica

IgA: Inmunoglobulina A

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IPS: Instituto de Previsión Social

ITS: Infecciones transmisibles sexualmente

KOH: Hidróxido de Potasio

LGV: Linfgranuloma venéreo

LOS: Lipooligosacárido

MOMP: Proteína Mayor de la Membrana Externa

OMS: Organización Mundial de la Salud

pb: Pares de bases

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa

pH: Potencial de Hidrógeno

RIV: Reacción inflamatoria vaginal

TAAN: Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos

1. INTRODUCCIÓN:

1.1. *Chlamydia trachomatis*:

1.1.1. Definición y clasificación taxonómica

Chlamydia trachomatis es una bacteria intracelular que pertenece al orden *Chlamydiales*, el cual está integrado por un conjunto de familias, géneros y especies bacterianas que comparten un único ciclo de mantenimiento en la naturaleza. Se las considera bacterias Gram negativas. Son ubicuas, y pueden infectar tanto al hombre como a vertebrados superiores e inferiores, invertebrados y protozoarios¹.

1.1.2. Epidemiología

La infección por *C. trachomatis* constituye en la actualidad una de las causas más frecuentes de infecciones transmisibles sexualmente a nivel mundial. En el año 2012, la Organización Mundial de la Salud (OMS) reportó un estimado de 105,7 millones de casos nuevos en adultos (según una medición efectuada en el año 2008), de los cuales 47% eran en mujeres².

Los estudios epidemiológicos publicados sobre *C. trachomatis* muestran una mayor prevalencia en adultos jóvenes y sexualmente activos³.

En Estados Unidos se producen anualmente 3 a 4 millones de infecciones nuevas, y la incidencia en el embarazo es de 2 a 3%, siendo mayor en ciertos grupos más vulnerables. En Chile, se estima que la tasa de infección de adolescentes y mujeres jóvenes es del 6,9%^{3,4}.

1.1.3. Ciclo de vida del género *Chlamydia*

C. trachomatis es una bacteria intracelular obligada. Tiene un ciclo de desarrollo bifásico en donde se observan formas infecciosas, inactivas metabólicamente denominadas cuerpos elementales (CE), y formas no infecciosas, activas metabólicamente, cuerpos reticulados (CR)⁵.

El ciclo se inicia cuando un CE se une a una célula eucariótica susceptible y es internalizado por endocitosis. En el interior de la célula, la vacuola endocítica evade la fusión con los lisosomas, por lo cual no es degradada. Posteriormente, este cuerpo compacto y pequeño (200-400nm) que es el CE evoluciona a una forma laxa: el cuerpo reticulado (500-800nm). La vacuola donde se desarrolla este proceso recibe el nombre de "inclusión"¹.

En el ambiente interno de la inclusión el CR desarrolla su actividad metabólica, se divide por fisión binaria y genera un crecimiento poblacional logarítmico. Este crecimiento hace aumentar el tamaño de la inclusión hasta ocupar la mayor parte del citoplasma, desplazando al núcleo hacia la periferia celular.

En las etapas temprana y media de este ciclo solo algunos CR evolucionan a CE. Cuando se logra un número máximo de CR, lo que se encuentra asociado a la disponibilidad de nutrientes u otros factores fisicoquímicos, se produce la maduración a CE. Los CE son liberados de la célula, ya sea por lisis celular o por extrusión de la inclusión con sobrevida celular, y pueden recomenzar el ciclo¹.

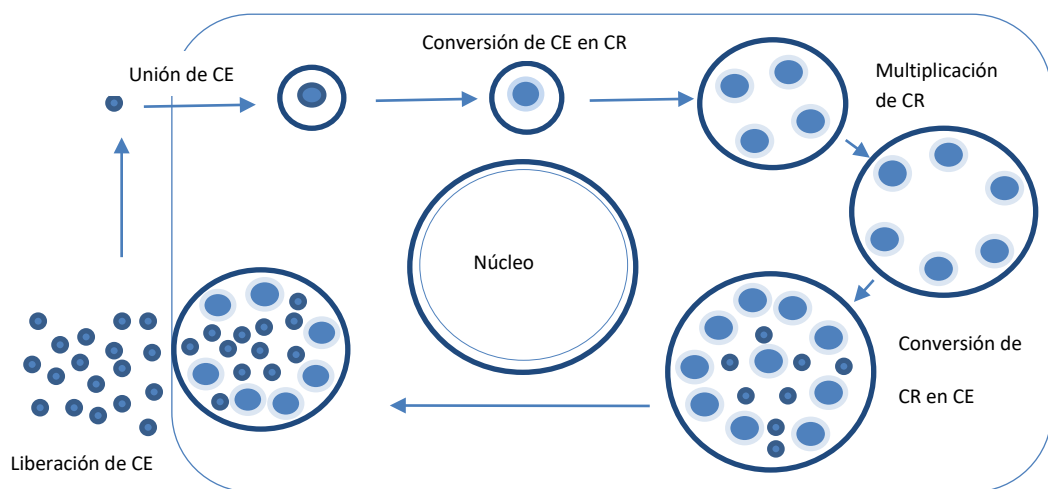


Figura 1: Ciclo de desarrollo de *Chlamydia trachomatis*. CR: cuerpo reticulado. CE: cuerpo elemental.

1.1.4. Estructura de *Chlamydia trachomatis*

La morfología de *C. trachomatis* varía según el estado polar que se encuentra: CE, CR o estadios intermedios dinámicos.

El cuerpo elemental es esférico, pequeño, de 200-400 nm, y electrodenso. El cuerpo reticulado es pleomórfico, de un tamaño aproximado entre 500-800 nm. Las inclusiones de *C. trachomatis* almacenan glucógeno en la mayoría de las cepas estudiadas, lo cual permite diferenciarla de otras especies de clamidias¹.

C. trachomatis tiene un plásmido críptico cuya función se desconoce aún y es el blanco molecular más utilizado para su detección por técnicas de amplificación génica (PCR). Las cepas estudiadas presentan entre cuatro y diez copias de plásmido críptico de 7493 pb, con información para 8 proteínas. Este plásmido no confiere resistencia antibiótica y sólo una de sus proteínas es

inmunogénica. Excepcionalmente existen cepas que carecen del plásmido, por lo tanto, no sería indispensable para su viabilidad¹.

1.1.5. Estructuras antigénicas

Todas las cepas estudiadas de la familia *Chlamydiaceae* presentan el mismo lipopolisacárido (LPS) en su membrana externa. Su estructura está formada por una porción lipídica de menor toxicidad que otras endotoxinas bacterianas, una región polisacárida escasa o nula, y un *core* o núcleo compuesto por una cadena corta de tres unidades de ácido 2-ceto-3-desooctanoico (KDO). Este LPS es inmunogénico y los anticuerpos contra el mismo pueden ser detectados por técnicas inmunológicas, como ser fijación del complemento, ELISA e inmunofluorescencia¹.

Otra estructura de relevancia en la membrana externa es la MOMP (Major Outer Membrane Protein), para la cual se postula una función de porina de los CR. Ésta representa el 60% de las proteínas de membrana externa de *C. trachomatis* y es fundamental en el mantenimiento de la rigidez del CE, tiene un peso molecular de 40kDa y está codificada por el gen *ompA*^{1,6}.

La MOMP presenta cuatro regiones variables V1, V2, V3 y V4 expuestas en la superficie celular, donde se encuentran epítopes específicos de género, especie y tipo. Se pueden diferenciar las especies de clamidias utilizando anticuerpos monoclonales dirigidos contra la MOMP, mediante inmunofluorescencia. En el caso particular de *C. trachomatis*, se la puede clasificar en sus diferentes serotipos¹.

1.1.6. Biotipos de *Chlamydia trachomatis*

Se ha clasificado a *C. trachomatis* en tres biotipos: el biotipo de la neumonía murina (cepa MoPn), actualmente separado como especie diferente (*C. muridarum*) y los biotipos LGV (linfogranuloma venéreo) y TRIC (tracoma, conjuntivitis de inclusión). Además, los biotipos LGV y TRIC pueden dividirse en 18 serotipos, que concuerdan con la clasificación en genotipos basada en la diversidad de la secuencia del gen *ompA*⁷.

Los serotipos de *C. trachomatis* presentan una marcada especificidad con respecto a su tropismo celular. Los serotipos A, B, Ba y C producen el tracoma ocular. Los serotipos D a K son patógenos de las células epiteliales columnares del tracto genital, y son responsables de las infecciones genitales y de la conjuntivitis del adulto⁸. En el recién nacido de una madre infectada pueden ocasionar conjuntivitis (*ophthalmia neonatorum*) y/o neumonía intersticial bilateral^{4,9}.

El biotipo LGV se divide en 4 serovares L1, L2, L2a y L3 y son los responsables del linfogranuloma venéreo^{4,9}.

1.1.7. Aspectos clínicos

C. trachomatis es uno de los patógenos comúnmente reportado como causante de infecciones del tracto urogenital femenino. Dado que la infección en la mujer es hasta en un 80% de los casos asintomática y a la dificultad para su diagnóstico, una gran proporción de pacientes no son tratados oportunamente, con el riesgo subsecuente de sufrir complicaciones como enfermedad inflamatoria pélvica, embarazo ectópico, infertilidad, artritis reactiva y endocarditis^{10,11}. También puede ser causa de abortos repetidos y rotura prematura de membranas.

En el recién nacido se ha asociado a bajo peso al nacer y aumento de la mortalidad perinatal. También puede producir conjuntivitis, ceguera y neumonía^{4,12,13}. Además, se asocia a este agente con un aumento de la susceptibilidad para la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana¹⁴.

En las mujeres infectadas el endocérnix puede encontrarse enrojecido y friable, con un exudado mucoide menos purulento que el observado para *Neisseria gonorrhoeae*.

En los varones puede presentarse una escasa cantidad de exudado uretral mucoide. En casos de uretritis, los microorganismos pueden llegar a colonizar el epidídimo (epididimitis) y la próstata (prostatitis), pero rara vez los testículos.

1.1.8. Diagnóstico

En todos los casos de uretritis, de cervicitis, de *ophthalmia neonatorum*, de conjuntivitis de inclusión, de tracoma y de sospecha de linfogranuloma venéreo debe realizarse la búsqueda de *C. trachomatis*. Al ser un parásito intracelular es importante que la muestra tenga un alto contenido de células.

El diagnóstico de laboratorio de *C. trachomatis* puede realizarse por:

- Métodos de aislamiento:

En un principio se utilizó huevos embrionados de gallina para el cultivo de *C. trachomatis*, el cual tiene una gran sensibilidad, pero presenta mayores problemas operativos y requiere condiciones de bioseguridad muy exigentes¹⁵. Posteriormente se descubrieron líneas celulares susceptibles, y en la actualidad se utilizan las líneas Mc Coy, LLCMK2, HeLa y Vero.

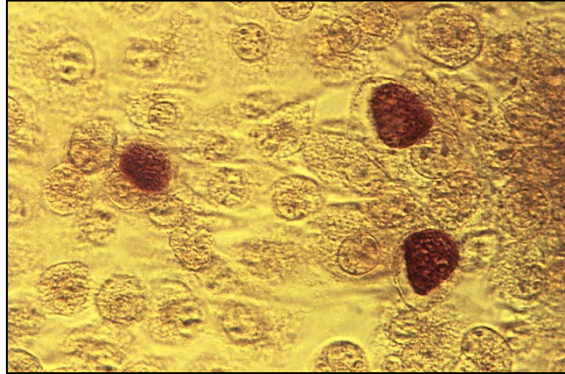


Figura 2: Cuerpos de inclusión de *Chlamydia trachomatis* (en color café) en un cultivo celular en medio McCoy.
(<http://phil.cdc.gov/phil/details.asp?pid=3802>)

Entre las 48 y 72 horas posteriores a la infección, se revela la presencia de inclusiones típicas, mediante el uso de anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína. En laboratorios experimentados el cultivo presenta una especificidad del 100% y una alta sensibilidad^{1,7}.

- Detección de antígenos

La inmunofluorescencia directa (IFD) es la prueba más frecuentemente utilizada para la detección de antígenos de *C. trachomatis*, a partir de hisopados endocervicales y uretrales o el extendido del sedimento de la orina de primer chorro. Se realiza con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína, y en su mayoría son dirigidos al LPS, pero también existen contra la MOMP.

También se encuentra muy difundida la utilización de técnicas de ELISA y “pruebas rápidas” (inmunoprecipitación y enzimoimmuno ensayos ópticos), los cuales utilizan anticuerpos contra el LPS. Estos métodos presentan una sensibilidad y especificidad menor a la del cultivo, pero resultan de utilidad en poblaciones con alta circulación de *C. trachomatis*.

- Detección de ácidos nucleicos

Puede realizarse mediante la hibridación con sondas específicas o por amplificación de segmentos génicos mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Las técnicas de amplificación génica presentan una sensibilidad mayor a las técnicas de detección de antígenos y al cultivo¹¹.

- Citohistopatología

La detección de células infectadas se puede realizar sobre extendidos coloreados con las técnicas de Giemsa o Machiavello. Tienen utilidad en el diagnóstico del tracoma y de la conjuntivitis de inclusión neonatal. En los estudios de las infecciones genitales, muestran una baja sensibilidad y especificidad¹⁶.

- Serología

No es de utilidad en el diagnóstico de las infecciones del biovar TRIC de *C. trachomatis*, ya que éstas no producen títulos de anticuerpos elevados. Y resulta imposible diferenciar entre infecciones actuales y previas dado que los títulos de anticuerpos pueden permanecer durante largos periodos de tiempo. Una excepción es la detección de IgM en los niños con neumonitis por clamidias⁷.

1.1.9. Tratamiento

Debido a la ausencia de una pared compuesta por peptidoglicano es desaconsejable el uso de antibióticos betalactámicos. Además, es naturalmente resistente a los aminoglucósidos, a las quinolonas de primera generación y a la vancomicina.

El esquema de tratamiento recomendado incluye Azitromicina 1 gr por vía oral en dosis única o Doxiciclina 100 mg por vía oral cada 12hs durante 7 días. La Eritromicina es una alternativa para mujeres embarazadas y neonatos⁴.

1.2. *Neisseria gonorrhoeae*:

1.2.1. Definición y clasificación taxonómica

Es una bacteria Gram negativa aeróbica perteneciente a la familia *Neisseriaceae*. El hombre es su único reservorio y se transmite por contacto interhumano¹⁷.

Es conocido comúnmente como gonococo, agente etológico de la gonorrea, una de las enfermedades de transmisión sexual más antiguas que se conocen, y corresponde a la segunda en frecuencia después de *C. trachomatis*⁴.

Neisseria gonorrhoeae se adhiere al epitelio columnar de las membranas mucosas uretrales, endocervicales, anales y faríngeas, por lo que afecta predominantemente estas áreas^{17,18}.

1.2.2. Epidemiología

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada año ocurren alrededor de 78 millones de casos nuevos de gonorrea¹⁹. Afectando principalmente a países en vías de desarrollo³. Constituye un ejemplo de la importante influencia que ejercen sobre la epidemiología de una enfermedad los factores socioeconómicos y demográficos y los cambios de conducta sexual.

La incidencia de gonorrea es alta en poblaciones densas y entre personas sexualmente activas, particularmente entre adolescentes y adultos jóvenes.

Entre los años 2012 y 2014 en la Argentina las notificaciones de supuraciones genitales gonocócicas indicaron una frecuencia anual de 2500 a 3500 casos aproximadamente²⁰.

1.2.3. Biología y morfología

Las especies del género *Neisseria* son diplococos Gram negativos con los lados adyacentes achatados en forma de granos de café. Tienen un tamaño de 0,6 a 1,5 µm, dependiendo de las especies, fuente de aislamiento y edad del cultivo. Son microorganismos inmóviles y no esporulados²¹.

La mayoría de las especies de *Neisseria* requieren de medios enriquecidos para crecer, como el agar chocolate, que proporciona una rica fuente de hierro. Todas las especies son aeróbicas y tienen una temperatura óptima de crecimiento de 35-37°C. Algunas especies necesitan humedad y CO₂ entre 5-15% para crecer, especialmente *N. gonorrhoeae*.

Son oxidasa y catalasa positivas, y producen ácido a partir de carbohidratos por oxidación, no por fermentación. También producen DNAsa y reducen nitratos a nitritos.

El aislamiento de estos microorganismos de sitios que normalmente contienen concentraciones elevadas de bacterias saprófitas (faringe, recto,

cérvix, etc.) puede ser difícil, para lo cual se utiliza medios selectivos como el Thayer Martin²¹.

1.2.4. Estructura antigénica. Factores de virulencia

N. gonorrhoeae presenta una compleja composición antigénica. Asociada con su estructura básica, la envoltura es similar a las de otras bacterias Gram negativas. Los componentes específicos de superficie se han relacionado con la adherencia, la penetración celular y tisular, la citotoxicidad y la pérdida de las defensas del huésped¹⁸, lo que tiene importancia en la patogenia de las enfermedades producidas por este microorganismo²¹.

Además, es capaz de revertir la expresión de sus moléculas de superficie, o experimentar variación antigénica con alta frecuencia. Se destacan por su variabilidad los pili, las proteínas de opacidad de colonias (Opa) y el lipooligosacárido (LOS), lo cual ha retrasado el desarrollo de vacunas¹⁷.

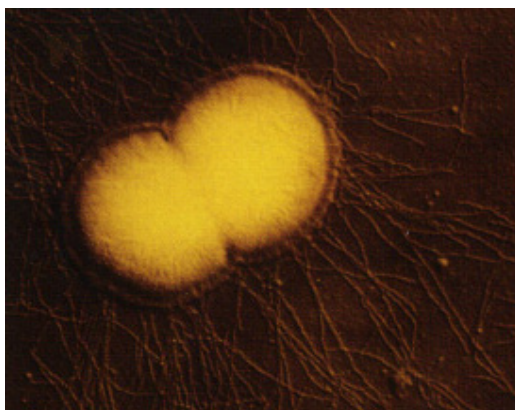


Figura 3: Microscopía electrónica de *Neisseria gonorrhoeae*, mostrando pili.

Fuente: (<http://www.textbookofbacteriology.net/N.gonorrhoeae.jpeg>)

1.2.5. Mecanismos de patogenia

El gonococo expresa su primer nivel de patogenicidad al adherirse a la superficie del epitelio transicional de la uretra, conductos y glándulas periuretrales en ambos sexos. También las mucosas cervical, conjuntival y rectal sirven como puertas de entrada.

Los gonococos se adhieren, mediante los pilis, solamente sobre las microvellosidades de las células del epitelio columnar no ciliado. La bacteria entra en las células epiteliales por endocitosis y es transportada rápidamente

por una vacuola a la base de las células, donde por exocitosis penetra al tejido subepitelial¹⁸, y allí se multiplica.

Durante la infección el LOS y el peptidoglicano son liberados por autólisis bacteriana, lo que activa por vía alterna el complemento y estimula la producción de factor de necrosis tumoral (TNF) causando daño celular. La liberación de mediadores y quimioattractantes provoca una enérgica respuesta inflamatoria, con descamación del epitelio, desarrollo de abscesos submucosos y exudación de pus. Los neutrófilos atraídos, eliminan las bacterias por fagocitosis. Algunos gonococos pueden evadir los mecanismos de destrucción y continuar su multiplicación intracelular²¹.

La diseminación a otras áreas a menudo ocurre directamente a través de vasos linfáticos o, menos corrientemente por vasos sanguíneos.

1.2.6. Aspectos clínicos

N. gonorrhoeae puede infectar útero, cérvix y trompas de Falopio, por lo que existe el riesgo de infertilidad o embarazo ectópico. Aunque la gran mayoría de las embarazadas son asintomáticas, la infección sintomática se caracteriza por flujo vaginal mucopurulento proveniente del endocérvix, disuria, inflamación de las glándulas de Skene y Bartholino. La endocervicitis puede llevar a rotura prematura de membrana, corioamnionitis, aborto séptico, prematuridad y sepsis pos parto. También pueden presentarse casos de proctitis y faringitis gonocócica⁴.

En el recién nacido expuesto se puede presentar un cuadro de conjuntivitis agudo (oftalmia neonatorum), sepsis, artritis o meningitis.

Aproximadamente el 1-3% de personas con gonorrea puede desarrollar infección gonocócica diseminada, siendo el embarazo un factor predisponente a este cuadro. Su presentación clásica es la del síndrome artritis-dermatitis, con poliartralgia migratoria, rash vesico-pustular en articulaciones distales, asociado a fiebre^{4,17}.

1.2.7. Diagnóstico

- Examen directo. Coloración de Gram:

El examen microscópico directo tiene gran utilidad para el diagnóstico presuntivo de uretritis gonocócica masculina, debido a que en hombres sintomáticos presenta una sensibilidad entre 90-95% y una especificidad entre 95-100%^{18,22}. De todos modos, posteriormente debe confirmarse por cultivo.

En la coloración de Gram de la secreción uretral se observan leucocitos polimorfonucleares con diplococos Gram negativos intra y extracelulares, y raramente se encuentran otras bacterias en estos extendidos.

Si bien, en la coloración de Gram de muestras endocervicales y anorrectales se pueden observar los diplococos Gram negativos, se debe tener en cuenta que éstas pueden estar colonizadas por microorganismos morfológicamente similares, como las especies del género *Neisseria* saprófitas, *Veillonella* spp., *Acinetobacter* spp., etc.^{18,21}. La sensibilidad de este método se encuentra entre el 50-70%, con una especificidad de 90%, por lo que no se recomienda su empleo como método presuntivo²². Debe confirmarse siempre con cultivos.

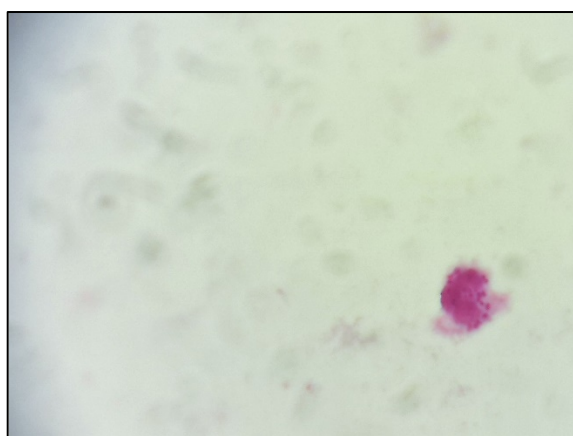


Figura 4: Coloración de Gram: diplococos Gram negativos intra y extracelulares.

Fuente: propia

- Cultivo y aislamiento

El cultivo posee una buena sensibilidad y especificidad, siendo más simple y económico que las técnicas moleculares. Además, permite recolectar las cepas circulantes para la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana.

Se utilizan medios de cultivos selectivos como Thayer-Martin y no selectivos como el agar chocolate. Se incuba a 35-37°C en una atmósfera húmeda con 3-5% de CO₂.

Las muestras clínicas obtenidas de sitios con microbiota comensal deben ser inoculadas en medios selectivos como no selectivos.

- Detección de antígenos por enzoinmunoensayo

Es muy sensible y específico en secreciones uretrales y en primera micción de orinas, pero es menos sensible para detectar gonococos en secreción endocervical²¹.

- Amplificación de ácidos nucleicos

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) tienen una sensibilidad del 100% comparadas al cultivo de endocérvix, uretra, recto y faringe; se pueden aplicar a muestras de vagina y de vulva pero no determinan la sensibilidad a los antimicrobianos por lo que se recomienda realizar cultivo en forma en paralela¹⁸.

1.2.8. Tratamiento

Es importante considerar que el uso indiscriminado de antibióticos ha llevado a un incremento de la resistencia a múltiples antimicrobianos y la sensibilidad de las cepas es materia de permanente revisión^{4,23}.

La terapia inicial para gonorrea no complicada es ceftriaxona 250 mg intramuscular, dosis única o cefixima 400mg vía oral, única dosis.

1.3. *Candida* spp.:

1.3.1. Definición y clasificación taxonómica

La vulvovaginitis por *Candida* es una de las afecciones vulvovaginales más frecuentes. Como agente causal están involucradas varias especies del género *Candida*, con predominio de *Candida albicans*⁴.

Candida (estado anamorfo) es el género de levaduras ubicadas en el filo Ascomycota, que incluye aproximadamente 150 especies, sin embargo, entre 85 y 90 % de las levaduras aisladas de vagina corresponden a *Candida albicans*, otras especies menos frecuentes son *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*, entre otras^{4,24}.

Candida spp. son levaduras mitospóricas alargadas u ovaladas de 2-6 x 3-9 µm, las cuales se reproducen por gemación a través de blastoconidios.

Las especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis pueden formar pseudomicelios, a excepción de *Candida glabrata*. *Candida albicans*, además forma hifas.

1.3.2. Epidemiología

La vulvovaginitis por *Candida* es un problema común asociado a altos índices de morbilidad. Su incidencia no se conoce realmente por ser una enfermedad no notificada y que se ve enmascarada por errores diagnósticos y estudios pocos representativos de la población general. Afecta entre el 70 y 75% de las mujeres en edad fértil, y se estima que el 40 y 50% experimentará recurrencia²⁵. Estudios realizados en Estados Unidos indican que es una de las principales causas por la que las mujeres acuden a la consulta ginecológica, con reportes de más de 10 millones de consultas al año, representando un 25% de las infecciones vaginales²⁴.

La incidencia de colonización por *Candida* spp. en mujeres embarazadas se considera aproximadamente de 10 a 50%²⁴.

Durante la gestación y particularmente en el tercer trimestre puede duplicarse la prevalencia de candidiasis comparada con mujeres no gestantes, además hay tendencia a la recurrencia como resultado de los elevados niveles de estrógeno y glucocorticoides, lo que reduce los mecanismos de defensa vaginal frente a gérmenes oportunistas como las *Candidas*²⁶.

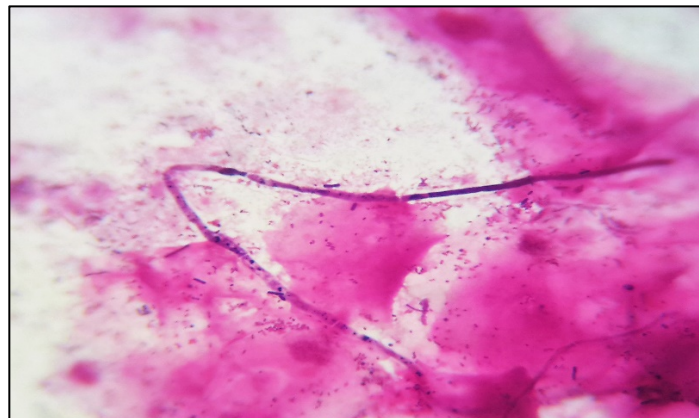


Figura 5: Coloración de Gram: Levaduras brotadas y pseudomicelios.

Fuente: Propia

1.3.3. Mecanismos de patogenia

En la patogénesis de la candidiasis vaginal un factor clave a considerar, es que de ser un microorganismo comensal puede evolucionar a agente causal de vulvovaginitis, con cuadros excepcionales invasivos o diseminados, en donde sigue la misma vía de infección que cualquier otro microorganismo: colonización y adhesión a la piel o mucosa, penetración de la mucosa y barrera epitelial, infección local y diseminación⁴. Siendo la adherencia el principal mecanismo de patogenicidad de la *Candida*²⁵.

La conversión de *Candida* de comensal a patógeno es consecuencia directa de la combinación de factores inmunitarios dependientes del huésped y de la virulencia propia de la *Candida*.

1.3.4. Aspectos clínicos

Presenta un cuadro clínico característico, siendo los principales síntomas prurito y ardor vaginal, los que se pueden exacerbar posterior a actividad sexual o durante la micción. Los hallazgos clínicos incluyen edema y eritema de vestíbulo, labios mayores y menores, con la presencia de flujo vaginal blanco, sin olor, espeso, similar a la leche cortada o cuajada, que se desprende en forma fácil de las paredes vaginales⁴.

En el recién nacido pueden producirse pequeñas infecciones locales de piel o mucosas, la más frecuente es la infección orofaríngea (muguet oral), hasta cuadros severos de hemorragias o infección sistémica con necrosis de cerebro, corazón, pulmones, riñones y otros órganos nobles. El cuadro de candidiasis congénita se manifiesta dentro de las primeras 24 horas de vida y se debe a una infección intrauterina o de una colonización vaginal severa al momento del parto y nacimiento⁴.

1.3.5. Diagnóstico

El diagnóstico se realiza por el cuadro antes descrito, más la observación en el flujo vaginal de cambios morfológicos de las levaduras, como la presencia de hifas o pseudohifas (la sensibilidad de la microscopia aumenta al agregar KOH 10 a 20%), la medición de pH también es importante (el rango de pH en CVV es de 4.0-4.5) y a través de cultivos específicos para hongos⁴. Como por ej., cultivo en agar Sabouraud con incubación de 72hs a 35^o-37^oC. Para la identificación de especies de levaduras puede realizarse la prueba de tubo germinativo a partir de colonias de 24hs. Esta prueba identifica presuntivamente *Candida albicans* con una exactitud del 95%. Además, existen medios cromogénicos como el CHROM agar Candida que permite la identificación presuntiva de *Candida albicans* (colonias color verde), *Candida krusei* (colonias color rosado), *Candida tropicalis* (colonias color azul) en 72hs de incubación a 30^oC^{27,28}.

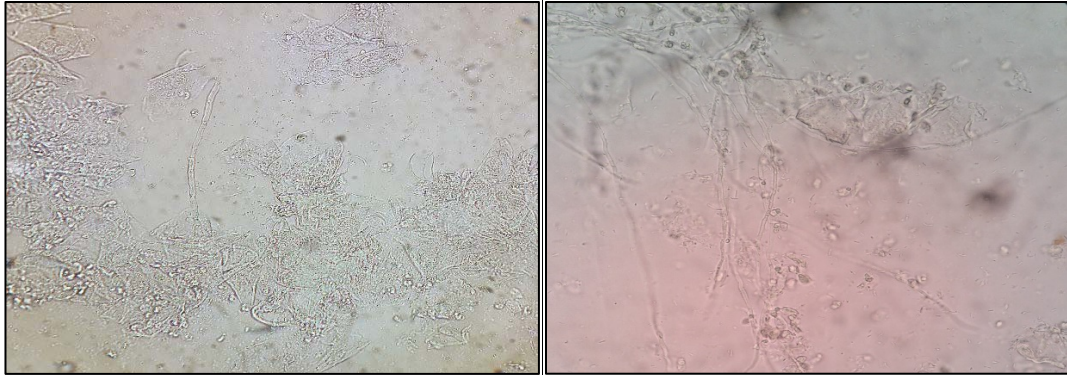


Figura 6 y 7: Levaduras brotadas y pseudomicelios. Observación en fresco. Microscopio óptico a 400x.

Fuente: Propia.

1.3.6. Tratamiento

Existen diferentes esquemas de tratamiento aprobados para su uso en el embarazo, siendo de preferencia los derivados azólicos locales como los de primera línea por siete días.

1.4. *Trichomonas vaginalis*

1.4.1. Definición y clasificación taxonómica

Es un protozoo flagelado, unicelular, anaerobio. La infección por este microorganismo es la infección de transmisión sexual curable más frecuente del mundo. Los seres humanos son el único huésped natural. Infecta principalmente el epitelio escamoso del tracto urogenital, la vagina, la uretra y las glándulas parauretrales²⁹.



Figura 8: *Trichomonas vaginalis*.

Fuente: (<https://www.cdc.gov/std/trichomonas/images/trich-228.jpg>)

1.4.2. Epidemiología

Trichomonas vaginalis es el patógeno de transmisión sexual no viral más frecuente en el mundo, con alrededor de 180 millones de casos nuevos por año según la OMS¹⁰. Lo que representa de un 10 a un 25% de todas las infecciones vaginales²⁶. Sin embargo, esto puede no corresponder con los datos reales, porque la enfermedad no es de reporte obligatorio. Además, puede presentar un curso silente en muchos hospedadores^{10,29,30}.

Predomina en mujeres en edad fértil, con un pico entre los 16 y 35 años, grupo etario en el que se estima que entre el 10% y el 30% están infectadas²⁹.

1.4.3. Mecanismos de patogenia

El pH alcalino es ideal para que *T. vaginalis* produzca infección. Durante la excitación y el acto sexual, la mujer secreta fluidos que aumentan el pH vaginal normalmente ácido; además el semen, que es alcalino, favorece la transmisión del parásito²⁹.

T. vaginalis presenta dos mecanismos de patogenicidad:

- Mecanismos dependientes del contacto: unión entre el parásito a la célula epitelial, la adherencia está mediada por proteínas de unión presentes en *T. vaginalis*.
- Mecanismos independientes del contacto: intervienen el *factor de desprendimiento celular* (CDF), los desechos del parásito y la merma de la concentración de estradiol en la vagina²⁹.

1.4.4. Aspectos clínicos

Su presentación clínica puede ir desde un cuadro asintomático (25 a 50%) hasta producir una vaginitis muy severa¹⁰. Las mujeres con vaginitis típicamente presentan: flujo vaginal abundante de color gris a verdoso, fétido, acompañado de prurito, eritema y edema de vulva y vagina.

La tricomoniasis está asociada a adenitis inguinal, piosalpingitis, endometritis, uretritis, vaginitis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) e infertilidad tubárica. En las embarazadas, predispone a la rotura prematura de membranas, lo que lleva a entrar en trabajo de parto pretérmino y bajo peso al nacer²⁹.

Durante el parto, el parásito se puede transmitir verticalmente al recién nacido, produciéndole infección genitourinaria o neumonía neonatal²⁹.

1.4.5. Diagnóstico

Para el diagnóstico, en la mujer, la muestra de elección es el flujo vaginal. El método más apropiado, por su sensibilidad (98%) y especificidad (100%), es el cultivo en los caldos de Roiron y de Diamond. Por otro lado, el examen microscópico directo es la técnica más económica, rápida y fácil de llevar a cabo. El rendimiento depende del operador, y debe realizarse en las primeras dos horas de obtenida la muestra, debido a que *T. vaginalis* pierde movilidad conforme pasa el tiempo, lo que dificulta su reconocimiento^{29,31}. Además, se debe tener en cuenta que el pH vaginal es mayor de 4,5 y la prueba de aminas es positiva. También es útil la tinción de Papanicolau, pero tiene baja sensibilidad²⁹.

La reacción en cadena de polimerasa (PCR) ha dado resultados satisfactorios en secreción vaginal y orina, con elevada sensibilidad y especificidad. Las técnicas inmunológicas clásicas de EIA (enzimoinmunoanálisis) e IFD (inmunofluorescencia directa) tienen menor sensibilidad que el cultivo o que las técnicas moleculares como la PCR, por lo que son poco usadas. La prueba de ELISA (ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas) basada en la búsqueda de IgA, IgM e IgG específicas para tricomonas no ha sido eficaz²⁹.

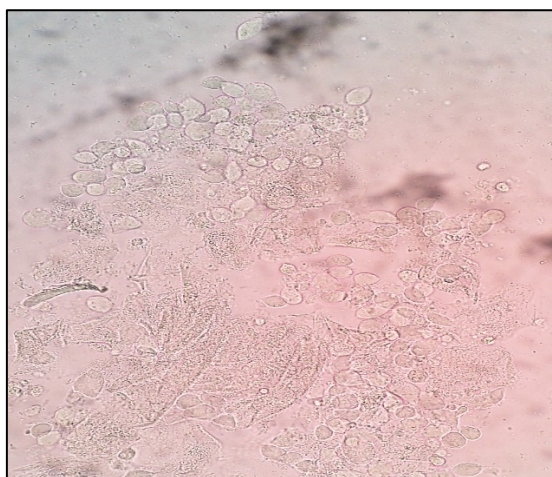


Figura 9: *Trichomonas vaginalis*. Observación en fresco. Microscopio óptico a 400x.

Fuente: Propia

1.4.6. Tratamiento

El tratamiento se basa en los fármacos de la familia de los nitroimidazoles. El metronidazol, que presenta una amplia actividad antimicrobiana, es la droga

de elección, 2 gr en dosis única por vía oral, o alternativamente 500 mg 2 veces al día durante 7 días.

2. ANTECEDENTES, JUSTIFICACIÓN y OBJETIVOS

2.1. Antecedentes

Las infecciones vaginales son una de las causas más frecuentes de consulta ginecológica en las mujeres en edad fértil. En el embarazo se asocian a un gran número de complicaciones ginecoobstétricas, como parto prematuro, rotura prematura de membranas, aborto espontáneo, corioamnionitis, endometritis postparto, enfermedad inflamatoria pélvica, retardo en el crecimiento intrauterino y bajo peso al nacer³².

Los estudios epidemiológicos sobre la etiología de estas infecciones son necesarios con el fin de orientar los programas de control y prevención, las necesidades de investigación y dar herramientas al médico en la orientación del diagnóstico y el tratamiento.

Se registran antecedentes en la provincia de Misiones de estudios epidemiológicos sobre las ITS y los agentes microbiológicos identificados con mayor frecuencia en la población bajo cobertura sanitaria del Instituto de Previsión Social (IPS).

En los años 2006 y 2007 un estudio realizado en el Hospital Dr. Ramón Madariaga de Posadas, Misiones en embarazadas reportó una prevalencia de: *C. trachomatis* 2.7%, *Candida* spp. 20.2%, *T. vaginalis* 6%, no hallándose *N. gonorrhoeae*³³.

Se registran antecedentes de estudios de casos en diferentes etnias y grupos de mujeres portadoras de HPV^{34,35,36} y un estudio de prevalencia de anticuerpos IgG anti HSV-2 en mujeres en edad fértil³⁷.

Un trabajo realizado en el Laboratorio del IPS entre los años 2010 y 2011 informó un 6.4% de supuraciones gonocócicas en muestras uretrales masculinas de 125 pacientes. No se detectó *N. gonorrhoeae* en muestras endocervicales (datos propios no publicados). En ese mismo período se encontró la presencia de *C. trachomatis* en un 5% en muestras uretrales masculinas de 81 pacientes y en un 18% en muestras endocervicales de 370 mujeres, utilizando métodos rápidos de búsqueda de antígenos (datos propios no publicados).

En un estudio realizado en el año 2012 en 389 mujeres en edad fértil sintomáticas y asintomáticas que concurren al Laboratorio del IPS, se detectó una prevalencia de levaduras del 10% y se diagnosticó tricomoniasis en 2.8% del total, en muestras de fondo de saco vaginal (datos propios no publicados).

En el año 2012 se realizó un estudio en el Laboratorio del IPS, presentado las primeras experiencias en Misiones de detección por PCR de *C. trachomatis*, se estudiaron 105 mujeres en edad fértil sintomáticas y asintomáticas, se detectaron 22 muestras positivas, lo cual implica una prevalencia de 21%³⁸.

Teniendo en cuenta lo mencionado anteriormente en el Laboratorio del IPS a partir del año 2014 se comenzó a realizar el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* por técnicas de biología molecular gracias a un convenio con la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales.

2.2. Justificación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que más de 340 millones de casos nuevos de infecciones de transmisión sexual bacterianas y por *T. vaginalis* ocurren anualmente en el mundo. Durante la gestación, las infecciones causadas por estos microorganismos han sido asociadas con aborto, parto prematuro, muerte fetal, bajo peso al nacer y pueden ser transmitidas verticalmente causando morbilidad y mortalidad neonatal².

A nivel mundial, estas infecciones representan una inmensa carga sanitaria y económica, tanto para los individuos como para las naciones, en países desarrollados y especialmente en países en vías de desarrollo, en los que alcanzan el 17% de las pérdidas económicas provocadas por la falta de salud³⁹.

La *C. trachomatis* es la bacteria de transmisión sexual de mayor prevalencia en el mundo^{40,41}. La OMS estima aproximadamente 100 millones de casos nuevos por año. Con una mayor prevalencia en adolescentes y adultos jóvenes de ambos géneros^{2,10}.

La mayoría de las infecciones causadas por este microorganismo son asintomáticas, lo que dificulta su diagnóstico precoz y por lo tanto mantiene la infección en la población. Para la mujer representa un factor de riesgo acumulativo de enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) y de secuelas reproductivas¹⁰. También es agente causal de enfermedades perinatológicas, como conjuntivitis, nasofaringitis y neumonía. El neonato adquiere la bacteria en su paso por el canal del parto de la madre infectada y tiene riesgo de desarrollar conjuntivitis en 25-50% de los expuestos⁴² y hasta 17% de ellos desarrolla una neumonía^{9,10,41,43,44}. También pueden presentarse cuadros a nivel de nasofaringe, aparato genital y tracto gastrointestinal en el recién nacido.

Por lo que el diagnóstico y tratamiento temprano de esta infección de transmisión sexual pueden evitar graves complicaciones.

N. gonorrhoeae o gonococo, bacteria Gram negativa, es el agente causal de la gonorrea, una infección de gran importancia para la salud pública. La mayoría de las infecciones gonocócicas del tracto genital inferior son no complicadas. Causa infección cervical asintomática en aproximadamente 45% de los casos. Si no es tratada oportunamente puede producir graves secuelas ginecológicas y resultados adversos en el embarazo y en el neonato. Hasta 35% de los embarazos en madres con infección gonocócica no tratada resultan en aborto, parto prematuro y hasta 10 % en muerte perinatal¹⁰.

Debido al gran porcentaje de individuos que cursa la infección de forma asintomática las organizaciones de salud pública norteamericanas y europeas recomiendan el tamizaje de *C. trachomatis* anual en todos los menores de 25 años y en personas mayores con factores de riesgo. El tamizaje de gonorrea se recomienda para la población de riesgo¹⁴.

Una de las limitaciones para el control de infecciones por *C. trachomatis* es la dificultad para su diagnóstico. Por lo que, en los últimos años, se ha recomendado el uso de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos^{9,11}, que detectan 20-30% más muestras positivas que tecnologías previas con valores de sensibilidad y especificidad de hasta 100% y 99.7% respectivamente¹⁴.

T. vaginalis es un protozoo móvil, flagelado que se transmite fundamentalmente por contacto sexual. Es responsable hasta del 30% de las infecciones de transmisión sexual no virales. La tricomoniasis puede cursar de forma asintomática, lo que facilita su transmisión²⁹. Infecta principalmente el epitelio escamoso del tracto urogenital y una vez establecido puede persistir

por largos períodos en la mujer. Durante la gestación, la infección por este protozoo es un factor de riesgo de parto prematuro y bajo peso al nacer¹⁰.

La vulvovaginitis por *Candida* es una de las afecciones vulvovaginales más frecuente, constituye un problema en el mundo que afecta a todos los estratos sociales. Su agente causal, en el 90% de los casos corresponde a *Candida albicans*. Es una de las levaduras saprofiticas que puede estar presente en el 25 al 30% de las mujeres sexualmente activas, pudiendo actuar como agente patógeno oportunista en circunstancias especiales cuando se compromete la inmunidad o los mecanismos de defensa locales, como en la diabetes mellitus, embarazo, obesidad, uso reciente de antibióticos o corticoides o cualquier tratamiento inmunosupresor⁴.

A partir del año 2012 investigadores locales que han hecho presentaciones en seminarios, jornadas, congresos nacionales, sobre prevalencia y genotipos circulantes de *C. trachomatis*, tenemos un conocimiento más amplio de la epidemiología de esta infección en mujeres de la ciudad de Posadas^{38,45,46}.

Sin embargo, *C. trachomatis* es un problema de salud pública escasamente estudiado en la provincia de Misiones y aún se cuenta con poca bibliografía referente a la investigación sobre agentes etiológicos de enfermedades genitales. Por lo que resulta conveniente realizar una investigación sobre el tema, específicamente en mujeres embarazadas, permitiendo evaluar la importancia de un diagnóstico precoz que favorezca el tratamiento oportuno, disminuya las complicaciones y corte la cadena de transmisión.

El estudio de la distribución de *C. trachomatis* y la coinfección con otros agentes causantes de infecciones genitales permitirá desarrollar estrategias de implementación del control de las infecciones del tracto genital inferior en la población de mujeres afiliadas al Instituto de Previsión Social.

El trabajo se focaliza en aquellos agentes de los que no se dispone información o la misma es muy limitada en la región: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, y *Candida spp.*

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo General

Detectar la presencia de *C. trachomatis* y su coinfección con otros agentes causantes de infecciones ginecológicas en pacientes embarazadas que concurren al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones.

2.3.2. Objetivos Específicos

1. Determinar la prevalencia de *C. trachomatis* en embarazadas que concurren al laboratorio del IPS.
2. Determinar la presencia de *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* y *Candida spp.* en las mujeres en estudio.
3. Determinar coinfección entre la presencia de *C. trachomatis* y los demás agentes investigados.
4. Monitorear la evolución del embarazo en las pacientes infectadas con *C. trachomatis*.

3. METODOLOGÍA

3.1. Propuesta metodológica

3.1.1. Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo transversal para determinar la frecuencia de infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas que acudieron al Servicio de Bacteriología del laboratorio del Instituto de Previsión Social de Misiones que brindaron consentimiento para el estudio de parámetros clínicos, bioquímicos y epidemiológicos. Las muestras se obtuvieron en un periodo de 17 meses comprendido entre Mayo de 2014 y Septiembre de 2015.

Por conveniencia se seleccionaron una serie consecutiva de mujeres embarazadas que asistieron al laboratorio en el periodo indicado.

3.1.2. Lugar de desarrollo de estudio

Laboratorio del Instituto de Previsión Social (IPS), Sector Bacteriología, Posadas, Misiones.

Laboratorio de Microbiología Clínica. Departamento Microbiología. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales. Universidad Nacional de Misiones.

3.1.3. Población de estudio

Entre el 1 de Mayo de 2014 y 30 de Septiembre de 2015, se estudiaron mujeres embarazadas que acudieron al laboratorio del Instituto de Previsión Social, con orden médica solicitando estudio de *C. trachomatis* en exudado vaginal. El rango de edad estuvo comprendido entre 18 y 48 años.

Criterios de inclusión: Mujeres embarazadas que concurrieron al sector de Bacteriología del laboratorio del IPS, con pedido médico de detección de *C. trachomatis*, que residían en la ciudad de Posadas. Y que se encontraban en condiciones para cumplir con los requisitos de toma de muestra.

Criterios de exclusión: Mujeres no embarazadas, pacientes con tratamiento antimicrobiano 5 días previos al estudio, que hayan mantenido relaciones sexuales 48 horas antes de la toma de muestra, o las que presentaban hemorragia del tracto urogenital. Se excluyeron pacientes menores de edad.

3.1.4. Definición del tamaño muestral

Según datos del último censo nacional (octubre 2010), se consideró el universo de población en 85.000 mujeres en edad fértil para la ciudad de Posadas. De éstas, aproximadamente 25.000 corresponden a afiliadas a la obra social IPS.

Se definió un intervalo de confianza del 95%, una precisión igual o inferior al 5%, una prevalencia estimada en la población para la clamidiasis, en mujeres, del 8.5%. Por conveniencia se trabajó con una serie consecutiva de mujeres que acudieron al laboratorio del IPS.

3.1.5. Aspectos éticos

El presente trabajo conto con la autorización para su ejecución de las autoridades del Laboratorio y del Instituto de Previsión Social y con el aval del Comité de Ética del Hospital Materno Neonatal.

Todas las pacientes dieron el consentimiento informado para participar del proyecto. (ANEXO I)

3.1.6. Metodología para la recolección de datos y muestras cervicales

El primer contacto con las pacientes tuvo lugar al momento que acudieron a la consulta en el sector de Bacteriología del IPS por orden médica. Se les brindo la información necesaria, de forma oral y escrita, sobre las condiciones requeridas para la toma de muestra, y se convino un turno para la realización de la misma.

En una segunda instancia, cuando las pacientes concurrieron para la extracción de la muestra, a aquellas que se encontraban dentro de los criterios de selección, se las invito a participar del estudio previa firma de un consentimiento informado. (ANEXO I)

Además, se les realizo una encuesta epidemiológica, con el fin de obtener la información necesaria para completar la ficha de toma de muestra (ANEXO II) y así poder cumplir con los objetivos propuestos.

El informe completo se entregó a las pacientes, en el mismo momento que retiró los resultados de los demás estudios solicitados en el pedido médico.

3.2. Materiales y métodos

3.2.1. Toma de muestra

Se tomaron muestras del cuello del útero y del fondo de saco vaginal, previa introducción de un espéculo descartable. Se utilizaron 4 hisopos de dacrón estériles.

Con el primer hisopo, se hizo una toma de fondo de saco posterior y se introdujo en un tubo conteniendo 0.5 ml de solución fisiológica estéril, el cual se destinó al examen en fresco, donde se evaluó la respuesta inflamatoria, la presencia de *T. vaginalis* y levaduras.

Con el segundo, se tomó muestra de fondo de saco, se sembró en agar Sabouraud y se realizó un extendido para la coloración de Gram.

Con el tercer hisopo se realizó la toma de muestra de endocérvix y se sembró en forma inmediata en Agar Chocolate y en Agar Thayer Martin para la recuperación de *N. gonorrhoeae*.

Con el cuarto hisopo se tomó una muestra de endocérvix y se colocó en un medio de transporte como 2-sacarosa fosfato (2SP) para investigación de *C.*

trachomatis. Se guardaron en heladera por no más de 48 horas. Luego se utilizó vórtex para desprender las células obtenidas en el hisopo y se centrifugó a 13.000 rpm durante 4 minutos. El pellet obtenido se guardó en freezer a -20°C hasta el momento de la extracción del ADN.

3.2.2. Examen en fresco

Se procesó la muestra destinada al estudio en fresco (hisopo en tubo con 0.5 ml de solución fisiológica), en un plazo no mayor a una hora a partir de obtenida.

Se homogenizó manualmente, tratando de transferir la mayor cantidad de material a la fase líquida. Se colocaron 2 o 3 gotas de la suspensión entre portaobjetos y cubreobjeto para la observación en fresco, con aumento de 400X.

Se investigó la presencia de levaduras, tricomonas y la respuesta inflamatoria (en este caso la línea de corte fue de 10 leucocitos por campo).

3.2.3. Examen de los extendidos teñidos con la coloración de Gram

Utilizando el hisopo sin agregado de solución fisiológica, se hicieron extendidos en portaobjetos desengrasados, limpios, generando una capa fina. Se fijaron por calor y se procedió a la coloración de Gram.

Se analizaron al menos cinco campos con aumento 1000X, no adyacentes, en las zonas donde el frotis era homogéneo para detectar bacterias compatibles morfológicamente con neisseria.

3.2.4. Detección de *Candida* spp.

La identificación se hizo por macro y micromorfología y pruebas para identificación presuntiva de levaduras.

Se procedió al examen en fresco para la observación de levaduras brotadas y pseudomicelios.

El cultivo se realizó en placas agar Sabouraud con incubación a 35-37°C por 72^ohs. A partir, de las colonias húmedas, cremosas o friables se aisló en

Chromagar Candida donde se observó el color de las colonias a las 72hs de incubación a 30°C para identificar la especie: Verde: *C. albicans*, Azul: *C. tropicalis*, Rosado: *C. krusei*.

Además, se realizó el test de Filamentación, a partir de un cultivo de 24hs. de la cepa en estudio en 0.5 ml de suero humano (inactivado a 56°C durante 30 minutos). Se incubó a 37°C y se observó microscópicamente cada media hora hasta las 3 horas. El tubo germinativo se ve como una proyección filamentososa delgada que no presenta constricción en el punto de origen.

3.2.5. Detección de *Neisseria gonorrhoeae*

Las muestras clínicas de endocervix fueron sembradas en agar chocolate y en agar Thayer-Martin e incubadas a 35-37°C en una atmósfera húmeda con 5% de CO₂ por 48hs.

La caracterización fenotípica de los aislamientos se realiza a partir de la colonia aislada conforme a técnicas convencionales de la siguiente manera:

- Coloración de Gram: para la visualización de los diplococos Gram (-).
- Prueba de la oxidasa
- Prueba de la catalasa
- Producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa, manosa y lactosa al 1% en medio agar tripticosa cistina (CTA)⁴⁷.

3.2.6. Procesamiento de las muestras para la realización de técnicas de amplificación de ADN

3.2.6.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó de forma manual por métodos comerciales. Se usó kits comerciales tipo NucleoSpin Tissue de Marchery-Nagel siguiendo las instrucciones del fabricante (ANEXO III).

3.2.6.2. Calidad de la muestra

Para evaluar la calidad de la muestra y/o la presencia de inhibidores de las técnicas de amplificación de ADN se amplificó una porción del gen de la β -actina mediante la técnica descrita por Mayta y cols.⁴⁸ (ANEXO III).

1 2 3 4 5 6 7 8 9 M

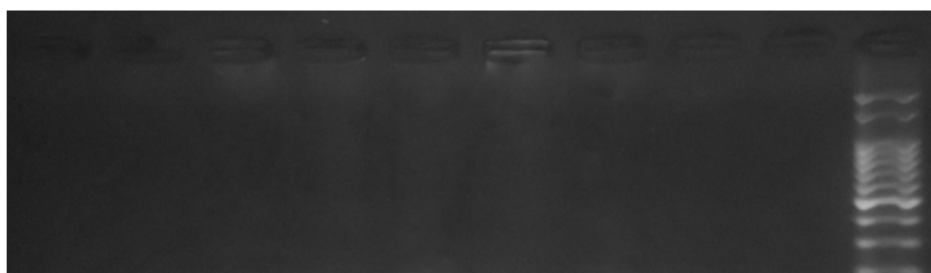


Figura 10: Fragmentos generados mediante la amplificación por PCR de una porción del exón III del gen de la β - actina (86 pb), revelada electroforéticamente en gel de agarosa al 2%. Se observa en las calles 1 a 7, amplificados con ADN provenientes de 7 muestras endocervicales; en la calle 8, control positivo; calle 9, control negativo; y en calle 10, marcador de peso molecular de 100 pb.

3.2.6.3. Detección de *Chlamydia trachomatis*

Se realizó mediante PCR utilizando el protocolo descrito por Mahony y col⁴⁹. Se amplificó un fragmento de ADN del plásmido críptico con cebadores KL1 y KL2 específicos para el plásmido críptico.

La amplificación se llevó a cabo en un volumen final de 25 μ l que contenía una mezcla de reacción con 0.05 U de Taq polimerasa, 0.4 μ M de cada uno de los oligonucleótidos, 2 Mm DE Cl_2Mg , 0.2 Mm de cada uno de los cuatro dNTPs, Buffer para la enzima Taq polimerasa y 10 μ l del templado.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGeneTM II PERSONAL ThermalCyclerl. Se obtuvo un amplicón de 241pb.

La desnaturalización del ADN ocurrió a 94°C durante 5 minutos seguida de 35 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 60°C y 30 segundos a 72°C, seguidos de una extensión final de 5 minutos a 72°C.

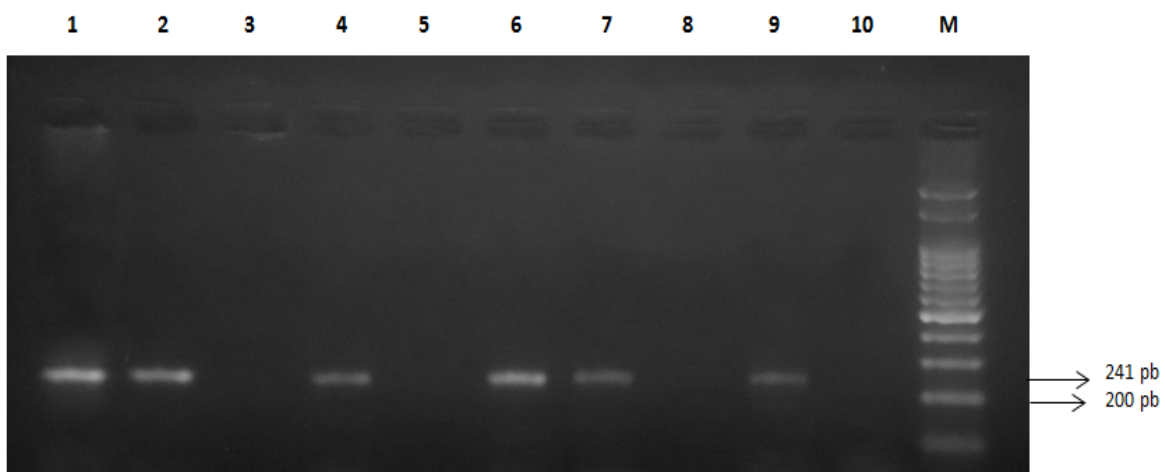


Figura 11: Fragmentos generados mediante la amplificación por PCR del plásmido críptico de *Chlamydia trachomatis* (241 pb), revelada electroforéticamente en gel de agarosa al 2%. Se observa en las calles 1 a 8, amplificados con ADN provenientes de 8 muestras endocervicales; en la calle 9, control positivo; calle 10, control negativo; y en calle 11, marcador de peso molecular de 100 pb.

Como control negativo de la PCR se utilizó la misma mezcla de reacción a la que se agregó agua ultra pura, y como control positivo ADN purificado de *C. trachomatis* ATCC L2/434/BU, cedido por el profesor Marcelo Rodríguez Fermepin, Área de Inmunología y Virología Clínica, Cátedra de Microbiología Clínica Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

Los productos de amplificación se corrieron por electroforesis en gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio, a 120 voltios durante 30 minutos y se observaron por exposición a luz ultravioleta en un transiluminador.

3.2.7. Análisis de los datos

El procesamiento de los datos se basó en el análisis de los resultados de la detección de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* y *Candida spp*. Así, como de la información obtenida de las fichas clínicas rellenas al momento de la toma de muestra. Los mismos se recogieron en una planilla de Excel. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba del Chi-cuadrado. Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 21.

4. RESULTADOS

Entre Mayo de 2014 y Septiembre de 2015 concurrieron al Laboratorio del IPS para estudios ginecológicos 1310 mujeres embarazadas con diversos motivos de consulta, principalmente controles de embarazo. Se hizo la selección de mujeres de aquellas pacientes embarazadas que concurrieron por solicitud médica al servicio de microbiología del laboratorio. Se estudiaron muestras cervicales y vaginales de 150 mujeres embarazadas.

4.1. Distribución y características de las mujeres estudiadas

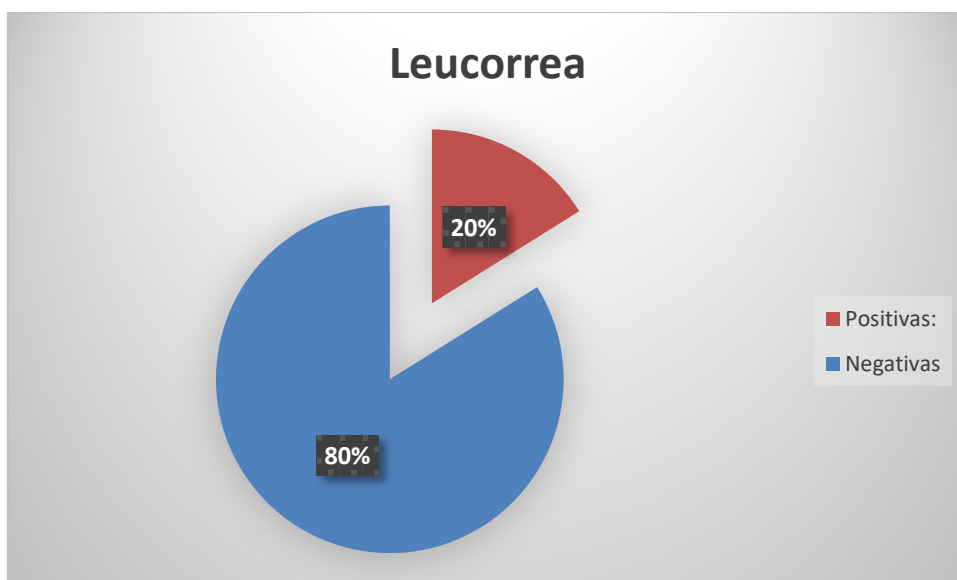
El rango de edad de las mujeres estuvo comprendido entre 18 y 48 años. La edad materna promedio en la muestra es de 29.46 ± 6.26 años.

La mayoría de las mujeres acudieron al laboratorio debido al control rutinario de embarazo, de las cuales detectamos un 8.7 % (13/150) de mujeres que refirieron sintomatología. Entre los síntomas se pueden destacar, dolor, secreción vaginal y hemorragias leves.

Entre las pacientes se encontraron cuatro con embarazo de alto riesgo, las mismas presentaban cuadros como embarazo múltiple, trombofilia, hipertensión y amenaza de aborto.

El 20% (30/150) de las pacientes presentaron respuesta inflamatoria vaginal (RIV). Gráfico 1.

Gráfico 1:



4.2. Investigación de *Chlamydia trachomatis*

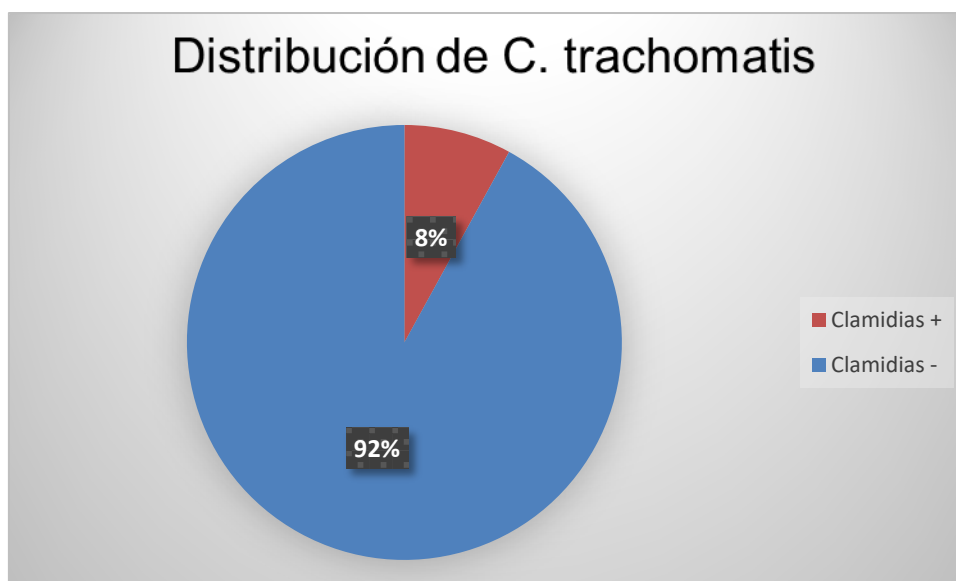
Se detectaron 12 muestras positivas a la infección por *C. trachomatis* de las 150 estudiadas, lo cual implica una prevalencia de 8 %. Grafico 2

El rango etario de las pacientes que resultaron positivas está comprendido entre 18 y 42 años, con un promedio de 27.91 años.

De las 12 pacientes con clamidiasis 3 refirieron sintomatología como, por ejemplo, secreción vaginal. Lo que representa un 25%.

En la totalidad de las muestras negativas se obtuvo la amplificación del gen β -actina.

Grafico 2:



Al analizar la asociación de *C. trachomatis* y la respuesta inflamatoria vaginal, en las mujeres embarazadas se pudo observar una razón de riesgo de exposición importante (OR: 3,23) y asociación estadística significativa ($p=0,05$), aunque al analizar estadísticamente esta asociación, el límite inferior en el intervalo de confianza establecido (IC 95%) no permite la precisión estadística esperada. El bajo número de embarazadas identificadas con clamidiasis y respuesta inflamatoria vaginal influye en este resultado. Habría una tendencia en la asociación de tener RIV en las embarazadas con clamidiasis respecto a embarazadas que no tienen clamidia.

Tabla N°1: Asociación de *Chlamydia trachomatis* y RIV

	RIV (+) Nº (%)	RIV (-) Nº (%)	Total Nº (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>C. trachomatis</i> (+)	5 (41.6%)	7 (58.4%)	12 (100%)	3.23	0.94-11.01	0.05
<i>C. trachomatis</i> (-)	25 (18.1%)	113 (81.9%)	138 (100%)			
TOTAL	30 (20%)	120 (80%)	150 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

El 58.3% de las pacientes infectadas correspondió a mujeres entre 18 y 28 años. Sin embargo, no se observó mayor riesgo de infección por clamidias en el grupo de mujeres de menor edad ($p= 0.276$) (OR= 0.58; 95% IC: 0.17-1.92).

Tabla N°2: Distribución de *Chlamydia trachomatis* según rango de edad

Rango de edad	C. trachomatis (+) N (%)	C. trachomatis (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	p-valor
18-28	7 (58.3%)	62 (44.9%)	69	0.58	0.17-1.92	0.276
29-48	5 (41.7%)	76 (55.1%)	81			
TOTAL	12 (100%)	138 (100%)	150			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

4.3. Investigación de *Neisseria gonorrhoeae*

En la población estudiada no se detectó presencia de *N. gonorrhoeae* mediante técnicas de cultivo en medio Thayer Martin y en agar chocolate.

4.4. Investigación de *Candida* spp.

El estudio detectó en 45 (30%) mujeres la presencia de *Candida* spp.

De los 45 aislamientos de *Candida* spp., en 36 muestras (80%) se identificó presuntamente *Candida albicans*, y en 9 muestras (20%) no *Candida albicans*.

Se observó RIV en el 44.4% de las pacientes en las que se identificaron levaduras. Al analizar la asociación de embarazadas con candidiasis y RIV se observó una razón de riesgo de exposición elevada (OR:7,6) y potente asociación estadísticamente significativa ($p < 0.0001$).

Tabla N°3: Asociación de *Candida* spp. y RIV

	RIV (+) Nº (%)	RIV (-) Nº (%)	Total Nº (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>Candida</i> spp. (+)	20 (44.4%)	25 (55.6%)	45 (100%)	7.6	3.16-18.28	<0.0001
<i>Candida</i> spp. (-)	10 (9.5%)	95 (90.5%)	105 (100%)			
TOTAL	30 (20%)	120 (80%)	150 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

Al comparar la portación de *Candida* según el trimestre de gestación que cursaban, no se detectó diferencias estadísticamente significativas.

Tabla N°4: Asociación de *Candida* spp. y 1º Trimestre de gestación

	1º Trimestre N° (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>Candida</i> spp. (+)	11 (23.40%)	0.62	0.28-1.36	0.234
<i>Candida</i> spp. (-)	36 (76.60%)			
TOTAL	47 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

Tabla N°5: Asociación de *Candida* spp. y 2º Trimestre de gestación

	2º Trimestre N° (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>Candida</i> spp. (+)	23 (33.33%)	1.34	0.66-2.70	0.411
<i>Candida</i> spp. (-)	46 (66.66%)			
TOTAL	69 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

Tabla N°6: Asociación de *Candida* spp. y 3º Trimestre de gestación

	3º Trimestre N° (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>Candida</i> spp. (+)	11 (32.35%)	1.15	0.50-2.62	0.832
<i>Candida</i> spp. (-)	23 (67.65%)			
TOTAL	34 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

Al comparar la presencia de *Candida* con respecto a la edad de las pacientes no se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.066$) (OR = 1.84; 95% IC: 0.89-3.79).

Tabla N°7: Distribución de *Candida* spp. según rango de edad

Rango de edad	<i>Candida</i> spp. (+) N (%)	<i>Candida</i> spp. (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	p-valor
18-28	16 (35.5%)	53 (50.5%)	69	1.84	0.89-3.79	0.066
29-48	29 (64.5%)	52 (49.5%)	81			
TOTAL	45 (100%)	105 (100%)	150			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

4.5. Investigación de *Trichomonas vaginalis*

T. vaginalis fue diagnosticada en 6 (4%) pacientes, en el examen en fresco. De estas mujeres con tricomoniasis, 3 (50%) presentaron RIV. Al analizar la asociación de la tricomoniasis y la RIV en las mujeres embarazadas se pudo observar una razón de riesgo de exposición elevada (OR: 4,33) aunque sin la valoración estadística significativa esperada ($p=0,061$), el bajo número de embarazadas identificadas con tricomoniasis y respuesta inflamatoria vaginal (tres pacientes) influye en la magnitud de la asociación. A pesar de la falta de precisión estadística definida previamente (IC 95%), se observa una tendencia en el riesgo de presentar RIV en las embarazadas con *T. vaginalis* respecto a las embarazadas sin tricomoniasis.

Tabla N°8: Asociación de *Trichomonas vaginalis* y RIV

	RIV (+) Nº (%)	RIV (-) Nº (%)	Total Nº (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>T. vaginalis</i> (+)	3 (50%)	3 (50%)	6 (100%)	4.33	0.82-22.65	0.061
<i>T. vaginalis</i> (-)	27 (18.7%)	117 (81.3%)	144 (100%)			
TOTAL	30 (20%)	120 (80%)	150 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

No se observó diferencias estadísticamente significativas entre la edad de las pacientes y la infección con *T. vaginalis* ($p=0.581$) (OR= 0.84; 95% IC 0.16-4.33).

Tabla N°9: Distribución de *Trichomonas vaginalis* según rango de edad

Rango de edad	<i>Trichomonas vaginalis</i> (+) N (%)	<i>Trichomonas vaginalis</i> (-) N (%)	Total	OR	IC 95%	p-valor
18-28	3 (50.0%)	66 (45.8%)	69	0.84	0.16-4.33	0.581
29-48	3 (50.0%)	78 (54.2%)	81			
TOTAL	6 (100%)	144 (100%)	150			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

4.6. Coinfección entre *Chlamydia trachomatis* y los diferentes agentes etiológicos

4.6.1. Coinfección entre *Chlamydia trachomatis* y *Candida spp.*

Al analizar la asociación entre la infección por *C. trachomatis* y la portación de *Candida spp.*, se encontró que el 33.3% de las pacientes presentaban coinfección. No se encontró asociación estadísticamente significativa ($p=0.79$) (OR=1.18; 95% IC 0.33-4.14).

Tabla N°10: Coinfección entre *Chlamydia trachomatis* y *Candida spp.*

	<i>Candida spp.</i> (+) Nº (%)	<i>Candida spp.</i> (-) Nº (%)	Total Nº (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>C. trachomatis</i> (+)	4 (33.3%)	8 (66.7%)	12 (100%)	1.18	0.33-4.14	0.79
<i>C. trachomatis</i> (-)	41 (29.7%)	97 (70.3%)	138 (100%)			
TOTAL	45 (30.0%)	105 (70.0%)	150 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

4.6.2. Coinfección entre *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis*

Al analizar la asociación entre la presencia de *C. trachomatis* y *T. vaginalis*, se observó que ninguna de las pacientes con infección por tricomonas presentaba clamidiasis.

Tabla N°11: Coinfección entre *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis*.

	<i>T. vaginalis</i> (+) Nº (%)	<i>T. vaginalis</i> (-) Nº (%)	Total Nº (%)	OR	IC 95%	p-valor
<i>C. trachomatis</i> (+)	0 (0.0%)	12 (100%)	12 (100%)	0.91	0.87-0.96	0.46
<i>C. trachomatis</i> (-)	6 (4.3%)	132 (95.7%)	138 (100%)			
TOTAL	6 (4.0%)	144 (96.0%)	150 (100%)			

OR: Odds ratio; CI: Intervalo de confianza

4.7. Evolución del embarazo

Las 12 pacientes con clamidiasis fueron monitoreadas desde el laboratorio hasta el tercer trimestre de gestación sin registrar en ningún caso complicaciones durante la evolución del embarazo.

Por solicitud médica se realizó control post tratamiento por la misma técnica a 4 de las 12 pacientes. Resultando negativo en todos los casos.

Todas las pacientes llegaron al tercer trimestre de gestación. Acudieron a la realización del test de búsqueda de *Streptococcus agalactiae* entre las semanas 35-37 de gestación 10 de estas pacientes.

De nuestro registro surge que 6 pacientes se internaron para el parto en sanatorios de la ciudad. Una paciente tuvo una infección de la herida quirúrgica a *Staphylococcus aureus* Meticilino sensible. De otra paciente enviaron desde el Sanatorio una muestra de membranas ovulares a nuestro laboratorio; del aislamiento surgió un *Staphylococcus aureus* Meticilino sensible.

Se realizó el seguimiento de los recién nacidos de madres con clamidiasis durante el embarazo. Según los registros del laboratorio podemos estimar que no presentaron complicaciones, ya que no ingresaron al laboratorio con pedido de análisis clínicos posteriores al nacimiento.

5. DISCUSIÓN

Los cambios hormonales que se producen durante el embarazo predisponen a una mayor incidencia de infecciones del tracto genital inferior, lo que conlleva a complicaciones maternas y perinatológicas³².

La gestación conduce a un desequilibrio del microambiente vaginal, favoreciendo la proliferación de microorganismos e incrementando la gravedad y recurrencia de infecciones³².

Algunas de estas infecciones afectan significativamente la salud sexual y reproductiva de estas mujeres, de las cuales destacan por su magnitud y trascendencia, las infecciones por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* y *Candida* spp^{10,32}.

El estudio microbiológico del flujo es fundamental para la prescripción de esquemas antimicrobianos con base en la identificación previa del agente causal, permitiendo disminuir el riesgo de resistencia a los antimicrobianos, las infecciones vaginales complicadas y recurrentes en la gestación, y con esto, impactar de forma positiva en la salud maternoinfantil.

5.1. Detección de *Chlamydia trachomatis*

La infección por *C. trachomatis* trae aparejado importantes daños a la salud sexual y reproductiva de la mujer, aumentando significativamente el gasto de la salud pública con sus complicaciones. Por lo tanto, es necesario un control epidemiológico efectivo, comenzando con un adecuado método para obtener un diagnóstico certero.

La estrategia diagnóstica utilizada reúne criterios de calidad recomendados a nivel mundial que señalan la necesidad de aplicar técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de infecciones por *C. trachomatis*.

En este trabajo se identificó una prevalencia de infección por *C. trachomatis* del 8%, valor semejante al encontrado en otros países. En un estudio realizado en Brasil³ con 3.303 mujeres embarazadas atendidas en seis ciudades, se encontró una prevalencia del 9.4%. Otro estudio que incluyó 258 mujeres embarazadas atendidas en un hospital público de Chile¹⁰ reportó un 5.9%. Cabe destacar, que todos los estudios se realizaron por métodos de biología molecular.

En un estudio realizado en Bolivia⁵⁰ en mujeres embarazadas hospitalizadas en un Hospital Materno Infantil se encontró una prevalencia del 9%, detectada por método de inmunocromatografía.

La prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* varía según el grupo etario, la población de estudio, las condiciones socio económicas y los métodos de detección, entre otros factores. No obstante, la prevalencia encontrada en nuestro estudio es similar a la informada en la literatura consultada.

Son numerosos los estudios que señalan una elevada prevalencia de *C. trachomatis* en las mujeres jóvenes, principalmente las adolescentes^{14,51,52}. Esto podría estar relacionado a que los adolescentes son un grupo vulnerable para la infección por *C. trachomatis*⁹, principalmente por presentar conductas

de riesgo como mantener relaciones sexuales sin protección y múltiples parejas sexuales.

La edad media de las pacientes infectadas en nuestra población fue de 27.91 años. Se observó mayor número de casos (58.3%) en el rango etario comprendido entre 18-28 años ($p=0.276$), lo que concuerda con otros autores^{9,11,14,53}. Sin embargo, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas.

Un estudio realizado en Chile¹⁴, cuya población estaba compuesta por adolescentes, las pacientes embarazadas tuvieron una tasa del 19%, valor significativamente mayor al encontrado en nuestra investigación.

Según la bibliografía consultada, la infección por clamidia cursa con manifestaciones clínicas inespecíficas y muchas pacientes no presentan síntomas^{10,11,50}, en nuestro estudio el 25% de las pacientes infectadas por *C. trachomatis* refirieron síntomas. En un trabajo realizado anteriormente en la misma Institución⁵⁴, y con una población de características semejantes, se informó un 14% de embarazadas sintomáticas con clamidiasis.

En un estudio realizado en el gran Buenos Aires⁵⁵ trabajaron con 198 embarazadas sintomáticas encontraron 2.5% de muestras positivas. La técnica empleada fue inmunocromatografía y los resultados confirmados por PCR.

Con respecto a la RIV encontramos 5 pacientes con RIV y presencia de *C. trachomatis*, lo que representa un 41.7%. Al analizar se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p=0.05$), y un OR (3.23) importante, pero el límite inferior (0.94) en el intervalo de confianza determinado (IC 95%) no permite la precisión estadística esperada. Esto podría deberse al tamaño insuficiente de mujeres con clamidia en este estudio.

Se recomienda la investigación de *C. trachomatis* en mujeres que presenten RIV, como una medida preventiva y sobre todo en pacientes embarazadas.

5.2. Detección de *Candida* spp.

Las infecciones vaginales constituyen una patología frecuente, la cual se presenta generalmente en la segunda mitad del embarazo, siendo las levaduras los patógenos más prevalentes responsables del proceso infeccioso³².

En el embarazo los cambios hormonales se caracterizan por un aumento de la producción de estrógenos que producen a su vez una mayor concentración de glucógeno vaginal. Si a esto le sumamos la supresión de la inmunidad celular, da lugar a altos índices de colonización, como así también de infección y recurrencia^{26,32}.

La prevalencia de *Candida albicans* en mujeres gestantes varía de 12 a 40%, en mujeres asintomáticas puede ser hasta de 12% y en sintomáticas hasta del 40%⁵⁶.

Este estudio halló una frecuencia de portación de *Candida* spp. del 30%, la cual coincide a lo reportado por un estudio realizado en Brasil (30%)⁵⁷ en mujeres con candidiasis vulvovaginal y candidiasis vulvovaginal recidivante. Sin embargo, los hallazgos obtenidos en la presente investigación resultan menores en comparación a la frecuencia del 55.2% reportada en Medellín-Colombia³², en pacientes gestantes de una clínica de alta complejidad. Por otro lado, en un estudio realizado también en Colombia⁵⁸, en un centro de salud en el municipio de Armenia sólo el 5.7% de las mujeres gestantes presentaron una infección de origen micótico.

Como informan varias publicaciones sobre candidiasis vulvovaginal 85 a 95% de las levaduras aisladas corresponden a *Candida albicans*^{25,27,57}. En nuestro estudio encontramos un 80% de aislamientos identificados presuntivamente como *Candida albicans*. En un estudio realizado en Asunción, Paraguay²⁷ en 536 pacientes embarazadas que concurren al Laboratorio Central de Salud Pública, en el año 2015, encontraron un porcentaje similar con una prevalencia de 86.4%. En otro estudio realizado en la ciudad de Posadas⁵⁹, en el Laboratorio de Alta Complejidad de Misiones (LACMI) del Hospital Madariaga, entre los años 2016 y 2017 se aislaron 749 levaduras en muestras de exudado vaginal, 95% correspondieron a *Candida albicans*.

El 44.4% de las pacientes infectadas con levaduras en este trabajo presentaba RIV, este resultado es mayor al 19.3% informado en un trabajo realizado en una Obra Social de la ciudad de Posadas⁵⁴, y al 29.9% informado por Touzon y col⁶⁰ (2014) en un estudio realizado en 1238 embarazadas que concurren al servicio de Obstetricia del Hospital de Clínicas.

En nuestra población el 64.5% de las pacientes con candidiasis se encontraba en el rango comprendido entre 29 y 48 años, mientras que Basso y col⁵⁷ encontraron 27.6% en mujeres de 21 a 30 años y de 41 a 50 años.

En un estudio realizado en la Ciudad de Posadas, Misiones³³ en mujeres embarazadas que se encontraban en el tercer trimestre de gestación y que acudieron al servicio de Consultorios Externos o que estuvieron internadas en el Servicio de Obstetricia del Hospital Dr. Ramón Madariaga se reportó una prevalencia del 20% de *Candida* spp. En nuestro estudio se encontró en el 3º trimestre una prevalencia de 32.35%, valor similar al hallado en el 2º trimestre 33.33%.

5.3. Detección de *Trichomonas vaginalis*

El diagnóstico de la infección por *T. vaginalis* en el embarazo reviste gran importancia ya que dicha infección predispone a rotura prematura de membrana, parto pre término y bajo peso al nacer.

Se debe tener en cuenta que las prevalencias de la tricomoniasis varían de acuerdo a la metodología diagnóstica empleada, se observan prevalencias más bajas por exámenes microscópicos que por cultivo³².

Este estudio encontró una frecuencia de infección por *T. vaginalis* del 4%. Valor similar al encontrado en otro estudio realizado en un hospital de la ciudad de Posadas³³, donde se encontró una prevalencia del 6%, y en un estudio en Colombia⁵⁸, donde se reportó una prevalencia del 5.7% en mujeres gestantes sintomáticas. Sin embargo, en un estudio realizado en mujeres embarazadas atendidas en el Hospital de Clínicas, Buenos Aires Argentina se encontró una prevalencia de 1.3%⁶¹, y en otro estudio también en pacientes gestantes de un Hospital Público de Chile¹⁰ la infección fue diagnosticada en un 1.17%. Valor considerablemente inferior al nuestro. En todos los casos el diagnóstico se realizó por examen en fresco.

A pesar de que el flujo vaginal anormal o leucorrea es el síntoma más frecuente en las vaginitis por tricomonas⁶², en este estudio encontramos que solamente el 50% de las infectadas cursaba con respuesta inflamatoria vaginal. Es altamente probable que estos resultados se deben al bajo número de pacientes estudiadas. Nuestros datos difieren del hallado en un estudio realizado en la misma Institución⁵⁴, quienes informaron 78.6% de pacientes infectadas con tricomonas y con respuesta inflamatoria.

De todos modos, de acuerdo a la bibliografía consultada, la tricomoniasis puede presentarse en forma asintomática en un 10 a un 50%, de los cuales un 50% podrían presentar síntomas de infección dentro de los 6 meses posteriores. La mujer suele reinfectarse por contacto sexual con el hombre, que suele actuar como portador asintomático⁶¹.

5.4. Detección de *Neisseria gonorrhoeae*

La gonorrea es una infección de gran importancia para la Salud Pública. La embarazada infectada puede transmitir la infección al recién nacido en el momento del parto, provocándole secuelas graves y crónicas por lo cual, la detección y tratamiento oportuno de esta enfermedad evitaría dichas complicaciones⁴.

La infección por *N. gonorrhoeae*, cursa a menudo en las mujeres con síntomas tan leves que pasan inadvertidos, lo que dificulta su diagnóstico precoz.

Este estudio demuestra la ausencia de *N. gonorrhoeae* en mujeres embarazadas atendidas en el laboratorio de bacteriología del IPS. Este hallazgo concuerda con lo encontrado en un estudio previo en la misma Institución⁵⁴, y a otra investigación realizada también en la Ciudad de Posadas³³, en embarazadas atendidas en un hospital público. Y en coincidencia con dos trabajos realizados en Chile, en Hospitales Públicos, uno de los cuales trabajó exclusivamente con adolescentes^{10,14}, que tampoco aislaron *N. gonorrhoeae*. Sin embargo, en un estudio multicéntrico realizado en embarazadas de seis ciudades de Brasil³, se encontró una prevalencia del 1.5%.

La inexistencia de *N. gonorrhoeae* en nuestra muestra es concordante con los datos encontrados para la región, que muestran un progresivo descenso de las tasas, para la infección primaria en mujeres, en los últimos 30 años^{14,23,51,54}.

En Estados Unidos el incremento en la tasa de gonorrea durante 2013-2014 se observó principalmente entre los hombres que tienen sexo con hombres⁶³.

A pesar de que en nuestra región se reporta una disminución de casos de gonorrea, no se debe dejar de vigilar esta enfermedad, sobre todo desde el laboratorio, el cual tiene un rol importante en el monitoreo de la incidencia de casos en la población y en el perfil de resistencia a los antibióticos de uso terapéutico.

5.5. Coinfecciones

En esta población se observaron coinfecciones entre *C. trachomatis* y *Candida* spp. Cuatro pacientes presentaron infección en forma simultánea con estos dos agentes.

En un trabajo realizado en San Lorenzo, Paraguay⁶⁴ no encontraron asociación entre *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y *Candida* spp.

En Nueva Caledonia en el año 2012 un estudio reportó el hallazgo de un 2.1% de coinfección entre *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*⁶⁵.

Un trabajo multicéntrico publicado en Estados Unidos, realizado en mujeres embarazadas con HIV⁶⁶ informó un 2.5% de coinfección con *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*.

Se realizó en el laboratorio del IPS⁵⁴ entre los años 2012 y 2013 un estudio en el cual participaron 505 mujeres embarazadas y no embarazadas, donde se detectaron las siguientes coinfecciones: 4 pacientes presentaban *C. trachomatis* y levaduras, 3 mujeres estaban infectadas con *C. trachomatis* y *T. vaginalis*.

6. CONCLUSIONES

La prevalencia de *C. trachomatis* en las mujeres de nuestra población fue 8%. Se encontró mayor porcentaje en el grupo etario comprendido entre 18-29 años.

Si bien no se obtuvo una asociación estadística entre la presencia de *C. trachomatis* y RIV, se observa claramente una tendencia, probablemente debido al bajo número de embarazadas con clamidiasis.

No se registraron complicaciones materno neonatales durante la gestación y el post parto.

La infección por levaduras (30%) se observó con más frecuencia en las pacientes de mayor edad. Se encontró una potente asociación entre candidiasis y la RIV. Al evaluar la presencia de levaduras por trimestre de gestación encontramos un mayor número de casos en el 2º y 3º trimestre.

La prevalencia de *T. vaginalis* fue de 4%. No se halló diferencias significativas con respecto a la respuesta inflamatoria, sin embargo, se observa una tendencia a dicha asociación. Como ya se ha mencionado anteriormente esto se debería al bajo número de pacientes con tricomoniasis.

En este estudio se detectó coinfección de *C. trachomatis* y *Candida* spp. en cuatro casos.

Es recomendable estudiar microbiológicamente el contenido vaginal durante el embarazo independientemente de la presencia de síntomas clínicos y contar con técnicas de diagnóstico sensibles que favorezcan el incremento en la detección y así reducir el riesgo de diseminación. De esta manera se logrará un diagnóstico precoz de las infecciones del tracto genital inferior pudiéndose instaurar un adecuado tratamiento y evitar las posibles complicaciones maternas y perinatológicas.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez Fermepín M. Enterocassi A. Chlamydiales. En Basualdo J, Coto C, de Torres R, Microbiología biomédica. 2º ed. Buenos Aires: Atlante; 2006. 509-527
2. OMS 2012 (Organización Mundial de la Salud). http://www.who.int/mediacentre/news/notes/2012/gonorrhoea_20120606/es/ Consultado 25/06/2015.
3. Moreira Jalil E, Montero Pinto V, Schwartz Benzaken A, Ribeiro D, Campos de Oliveira E, Galban Garcia E, Moherdau F, Barbosa M. Prevalência da infecção por clamídia e gonococo em gestantes de seis cidades brasileiras. Rev Bras Ginecol Obstet. 2008; 30(12):614-9.
4. Pradenas M. Infecciones cérvico vaginales y embarazo. Rev Med Clin. Condes. 2014; 25 (6) 925-935. Documento descargado de <http://www.elsevier.es> el 11/10/2015.
5. López-Castro T, Rojas-Díaz E, Rojas-Rojas F, Díaz-Yamal I, Muñoz-Cerón J. Mecanismos de modulación de la respuesta inmune por *Chlamydia trachomatis* asociados a infertilidad. Rev Colomb Obstet Ginecol.2012; 63: 346-355.
6. Cervantes E. infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis*. Rev Fac Med UNAM. 2009. 52 (1): 18-22.
7. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. Chlamydiaceae; Microbiología Médica; 5º ed. Madrid: Elsevier; 2007. 463-472.
8. Monetti M, Molina R, Estofan P, Frutos MC, Kiguen AX, Venezuela RF, Paglini G, Cuffini C. Distribution of *Chlamydia trachomatis* Genotypes in Infertile Patients of Córdoba, Argentina. Int J Virol Mol Biol. 2013, 2 (1): 1-6
9. Santos C, Teixeira F, Vicente A, Astolfi-Filho S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. Braz J Infect Dis. 2003; 7(2): 91-95.
10. Ovalle A, Martínez M, De la Fuente F, Falcon N, Feliú F, Fuentealba F, Gianini R. Prevalencia de infecciones de transmisión sexual en mujeres embarazadas atendidas en un hospital público de Chile. Rev Chilena Infectol. 2012; 29(5): 517-520.

11. Arraiz N, Marucci R, Colina S, Reyes F, Rondón N, Bermudez V, Reyna N. Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres consultantes en Maracaibo, Venezuela. Rev Salud pública. 2008; 10 (4): 615-624.
12. Sánchez Monroy V, Torres Mata AE, D'Artagnan Villalba Magdaleno J. Diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* mediante PCR en pacientes que acuden a la Clínica de Especialidades de la Mujer de la Secretaría de la Defensa Nacional. Ginecol Obstet Mex. 2009. 77 (1): 13-18.
13. Canto-de Cetina T, Polanco-Reyes L, Fernández-González V, Ruiz-García S. Infección por *Chlamydia trachomatis* en usuarias de dos clínicas de planificación familiar. Salud Pública Méx. 2003; 45 (sup 5): 657-661.
14. Huneus A, Pumarino MG, Schilling A, Robledo P, Bofil M. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en adolescentes chilenas. Re. Med Chile [Internet]. 2009 [citado 2017 Mayo 27] ; 137(12): 1569-1574. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872009001200004&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872009001200004>
15. Joklik W, Willet H, Amos E, Wilfert C. Chlamydiae. En Zinzer Microbiología. 20º ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 1998. 973-986.
16. Black C. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. Clin Microbiol Rev. 1997; 160-184.
17. Jerse A, diRita V. Neisserias: gonococo y meningococo. En Engleberg NC, DiRita V, Dermody T. Schaechter Mecanismos de las enfermedades microbianas. 5º ed. Barcelona: Wolters kluver Health España. Lippincott Williams & Wilkins; 2013. 178-187.
18. Handsfield H, Sparling F. Neisseria gonorrhoeae. En Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades Infecciosas. Principios y Práctica. Vol 2. 6º ed. Madrid: Elsevier; 2006. 2514-2529.
19. OMS 2016 (Organización Mundial de la Salud) ESTRATEGIA MUNDIAL DEL SECTOR DE LA SALUD CONTRA LAS INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL 2016–2021. <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250253/WHO-RHR-16.09>

Consultado 06/09/16.

20. Boletín Integrado de Vigilancia N° 243. SE 3/2015. Ministerio de Salud de Argentina. 2015; 91-92.
21. Castillo MC. Neisseria, Acinetobacter, Moraxella y Kingella. En Basualdo J, Coto C, de Torres R. Microbiología Biomédica. 2° Edición. Buenos Aires. Atlante. 2006. 309-323.
22. Martínez A. Diagnóstico Microbiológico de las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS). Parte 1. ITS no virales. Rev Chil Infect. 2009; 26 (6): 529-539.
23. Zotta CM, Lavayén S, Galeano G, Gianecini R, Oviedo C, Galarza P. Infección por *Neisseria gonorrhoeae* y fenotipos de resistencia antimicrobiana, Mar del Plata, 2005-2010. Acta Bioquím Clín Latinoam [Internet]. 2014 [citado 2017 Mayo 27]; 48(4): 475-483. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572014000400010&lng=es
24. Pineda- Murillo J, Cortés-Figueroa A, Uribarren-Berrueta T, Castañón-Olivares L. Candidosis vaginal. Primera parte: revisión de la clínica, epidemiología y situación de México. Rev Méd Risaralda. 2015; 21 (1): 58-63.
25. Sobel J. Vulvovaginal Candidosis. Lancet 2007; 369: 1961-71.
26. Fernández Limia O, Betancourt A, Lesteiro M, Faure R. Prevalencia por diagnóstico inmunológico de *Candida* spp, *Trichomonas vaginalis* y *Gardnerella vaginalis* en mujeres embarazadas a nivel primario de la salud. Rev Cub Obst Ginecol. 2010: 36(1)65-72.
27. Aguilar G, Araujo P, Godoy E, Falcón M, Centurión M, Ortiz R, Britez M, Martínez M. Identificación y características de *Candida* spp. en secreción vaginal de pacientes embarazadas y no embarazadas. Mem Inst Investig Cienc Salud [Internet]. 2017; 15(3): 6-12. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py>
28. Medvededeff MG, Mereles BE, Vedoya MC, Chade ME. Guía de trabajos prácticos: Cátedra de Micología. 1º Ed. Posadas EdUNaM- 2005. 55-69.
29. Santos Diéguez I. Tricomoniasis: Una visión amplia. IATREIA. 2014; 27(2): 198-205.

30. Hernández Álvarez H, Sariego Ramos I, Sarracent Pérez J. Infección humana por *Trichomonas vaginalis* y su relación con otros agentes patógenos. Rev Cuba Obs Ginecol. 2009; 35 (4): 108-17.
31. Aznar J, Blanco M, Lepe J. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. En Cercenado E, Cantón R. Procedimientos en Microbiología Clínica. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología clínica. 2007.
32. Rojas Jiménez S, Lopera Valle JS, Rodríguez Padilla LM, Martínez Sánchez LM. Infecciones vaginales en pacientes gestantes de una clínica de alta complejidad de Medellín-Colombia. Archivos de Medicina (Col) [Internet]. 2016;16(1):32-42. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=273846452004>
33. Leguizamón LB. Perfil Microbiológico en Secreciones Genitales de Embarazadas, en Posadas, Misiones: Enfoque preventivo del Parto Pretérmino y la Infección Perinatal. Buenos Aires; Ministerio de Salud de la Nación; 2007. (120299)
34. Tonón S, Picconi M, Zinovich J, Bos P, Liotta D, Galuppo J, Antonio L, Ferreras J, Teyssié A. Infección por Virus Papiloma Humano en mujeres con cito-colposcopia normal residentes en una región de alta incidencia de carcinoma de cérvix: la Provincia de Misiones y áreas de influencia. Colposcopia. 1999. 2: 60-68.
35. Tonón S, Picconi M, Zinovich J, Liotta D, Bos P, Galuppo J, Antonio L, Ferreras J, Teyssié A. Human papillomavirus cervical infection and associated risk factors in a region of Argentina with high incidence of cervical Carcinoma. Inf Dis Obstet Gynecol. 1999; 7(5): 237-243.
36. Tonón S, Picconi M, Zinovich J, Nardari W, Mampaey M, Galuppo J, Bos P, Badano I, Di Lello F, Basiletti J, Gonzalez J, Alonio L, Teyssie A. Prevalencia de la infección cervical por virus papiloma humano (HPV) en población caucásica y guaraní, residente en la provincia de Misiones, Argentina. Rev Argent Microbiol. 2003; 35(4):205-213.
37. Jordá G, Guida A, Amer L, Ceballos B. (2007). Estudio epidemiológico del virus *Herpes simplex* tipo 2 en mujeres en edad fértil. VI Jornadas Científico Tecnológicas de la Facultad de Ciencias Exactas, Químicas Naturales de la Universidad Nacional de Misiones. 158-161.
38. Jordá G. López L. Quintana N. Entrocassi C. Rodriguez Fermepin M. Detección de *Clamidia trachomatis* en muestras de endocervix por PCR.

Primeras experiencias en Misiones. VI Taller internacional de infecciones por Clamidas en Humanos y Animales. Fac. de Fcia y Bioqca. Universidad de Buenos Aires. 16 y 17 de Noviembre de 2012.

39. Organización Mundial de la Salud, Estrategia mundial de prevención y control de las infecciones de transmisión sexual: 2006-2015 Romper la cadena de transmisión. <http://www.who.int/reproductivehealth/publications>

Consultado 06/09/16.

40. Silva R, León D, Viscarra T, Ili C, Roa JC, Sánchez R, Guzmán P, Brebi P. Frecuencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la Región de la Araucanía, Chile. Rev Chilena Infectol. 2013; 30 (6): 611-615.
41. Entrocassi A, Gallo Vaulet M, Cuffini M, Castro E, Martinez Tagle M, Occhionero M, Rodriguez Fermepin M. Instantáneas de Epidemiología Molecular de las Infecciones por *Chlamydia trachomatis* en Sudamérica. CLAMIRE: Red Sudamericana para la Colaboración en la Investigación de infecciones por Clamidas. VI Taller Internacional de Infecciones por clamidas en Humanos y Animales. Buenos Aires, Argentina. 2012.
42. Valencia C, Prado V, Ríos M, Cruz MA, Jacques Pilorget J. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en conjuntivitis neonatal determinada mediante las técnicas de inmuno- fluorescencia y amplificación génica. Rev Med Chile. 2000; 128(7): 758-765.
43. Di Bartolomeo S, Higa M, Janer M, Pennisi A, Balbin G, Priore G. Conjuntivitis neonatal en un hospital del Gran Buenos Aires. Situación de los últimos 5 años. Rev Argent Microbiol. 2005; 37:139-142.
44. Salas N, Pinto C. Chlamydia trachomatis en recién nacidos de un servicio de neonatología: Cuatro casos. Rev Chilena Pediatría. 2000; 71(5): 423-426.
45. Jordá G; Quintana N.; López M L; Entrocassi C., Almada L.; Guida A. Marucci, R. Rodriguez Fermepín M. Analisis del Balance del contenido vaginal y su posible asociación con la infección por *Chlamydia trachomatis*. XIII Congreso Argentino de Microbiología 2013. los días 23 al 26 de Septiembre de 2013. Buenos Aires.

46. Jordá G.; Quintana, N.; López ML; Almada L.; Guida A. Relación entre presencia de *Chlamydia trachomatis* y sintomatología. 70º Congreso Argentino de Bioquímica. CUBRA- ABA 2013 los días 11, 12 y 13 de Octubre de 2013. Buenos Aires.
47. Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G, Schreckenberger P, Woods G. En Koneman Diagnóstico Microbiológico. 6º ed Buenos Aires: Médica Panamericana; 2008. 289-371.
48. Mayta, H; Gilman, RH; Calderon, MM, Gottlieb, A, Soto G, Tuero I, Vivar A. 18S ribosomal DNA-based PCR for diagnosis of *Trichomonas vaginalis*. J Clin Microbiol. 2000; 38: 2683-2687.
49. Mahony JB, Luinstra KE, Sellors JW, Jang D, Chernesky MA. Confirmatory polymerase chain reaction testing for *Chlamydia trachomatis* in first-void urine from asymptomatic and symptomatic men. J Clin Microbiol. 1992; 30: 2241-2245.
50. Uriona Arce R, Méndez Delgadillo LM, Escobar García Y. Diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* por frotis endocervical y sus características epidemiológicas y clínicas en embarazadas hospitalizadas en el H.M.I.G.U. gestión 2007-2008. Gaceta médica Boliviana 2010; 33 (1).
51. Tamayo Rodríguez AB, González Lorenzo A, Rodríguez Hernández C, Restoy Chántez GA, Alfonso Hidalgo Gato D, Toledo Domínguez Y. Factores asociados a la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres atendidas en dos hospitales provinciales. Matanzas 2010-2012. Rev Méd Electrón [Internet]. 2014 Oct [citado: 2016 Ago 21];36 Supl 1. Disponible en: <http://www.revmatanzas.sld.cu/revista%20medica/ano%202014/supl1%202014/tema03.htm>
52. Iglesias Benavides JL, Saldívar Rodríguez D, Tijerina Menchaca R, González González G, Garza González E, Rosales Tristán E. *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*: prevalencia y relación con los datos clínicos de vaginitis. Rev Med Univ. 2007;9(35):53-57.
53. Deluca GD, Marín HM, Schelover E, Chamorro EM, Vicente L, Albhom M, Alonso JM. Infección por *Chlamydia trachomatis* y Papilomavirus en mujeres con alteraciones citohistológicas de cuello uterino. Medicina (Buenos Aires) 2006; 66:303-306.

54. Jordá, GB (2016-10-14). *Análisis de la utilidad del balance del contenido vaginal, BACOVA, asociado a la infección por agentes bacterianos y virales prevalentes del tracto genital inferior en mujeres de edad fértil* (tesis doctoral). Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. [consultado: 24/10/2018] Disponible en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad de Buenos Aires: http://repositorioubasib.uba.ar/gsd/cgi-bin/library.cgi?a=d&c=posgrauba&cl=CL1&d=HWA_1623
55. Di Bartolomeo S, Rodríguez Fermepín M, Sauka D, de Torres R. Perfil microbiológico en secreciones genitales de embarazadas sintomáticas, en el Gran Buenos Aires, Argentina. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2001; 19: 99-102.
56. Akinbiyi A, Watson R, Feyi-Waboso P. Prevalence of *Candida albicans* and bacterial vaginosis in asymptomatic pregnant women in South Yorkshire, United Kingdom. Outcome of a prospective study. *Arch gynecol Obstet*. 2008; 278: 463-6.
57. Basso R, Lopes da Silva N, Braccini Pereira K, Mezzari A, Meneghello Fuentefria A. Etiología de la candidiasis vulvovaginal recidivante en la Atención Primaria de Salud en Santa Catarina, Brasil. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2012; 46 (3): 399-404.
58. Salas N, Ramírez JF, Ruiz B, Torres E, Jaramillo L, Gómez-Marín JE. Prevalencia de microorganismos asociados a infecciones vaginales en 230 mujeres gestantes y no gestantes sintomáticas del centro de salud La Milagrosa en el municipio de Armenia (Colombia). *Rev Colomb Obstet y Ginecol*. 2009; 60 (2): 135-142.
59. Sosa V, Almada A, Acosta K, Villalba V, De Lima J. Especies fúngicas involucradas en micosis vaginales. XI Jornadas Internacionales de Enfermedades Transmisibles, VII Jornadas Internacionales de la Salud y la Educación. Facultad de Ciencias Exactas, Químicas y Naturales – Universidad Nacional de Misiones. 2017 Posadas, Misiones, Argentina.
60. Touzón M, Losada M, Eliseth M, Menghi C, Gatta C, Santa Cruz G, Malamud de Ruda Vega H, Vay C, Tatti S, Famiglietti A, Perazzi B. Evaluación de la disfunción vaginal en mujeres embarazadas sintomáticas y asintomáticas mediante la utilización de los estados vaginales básicos (EVB) y su comparación con el estudio microbiológico convencional. *Rev Argent Microbiol*. 2014; 46 (3): 182-187.

61. Perazzi B, Menghi C, Coppolillo C, Gatta C, Cora Eliseht M, Vay C, Méndez O, Malamud de Rudavega H, De Torres R, Famiglietti A. Investigación de *Trichomonas vaginalis* durante el embarazo mediante diferentes metodologías. *Rev Argent Microbiol.* 2007; 39: 99-104.
62. Anderson MR, Klink K, Cohrsen A. Evaluation of vaginal complaints. *JAMA.* 2004; 291: 1368-1379.
63. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease treatment guidelines, 2015. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2015;64 (No. RR-3): 1-137.
64. Duarte C, Soilán AM. Detección de *Chlamydia trachomatis*, esporos micóticos y *Trichomonas vaginalis* en mujeres en edad fértil que acuden a los Hospitales San Pablo y Regional de San Lorenzo. *Rev Nac (Itauguá) [Internet].* 2011 Dec [citado 2018 Oct 30] ; 3(2): 36-42. Disponible en: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-81742011000200006&lng=en.
65. Corsenac P, Noël M, Rouchon B, Damian Hoy, Adam Roth. Prevalence and sociodemographic risk factors of chlamydia, gonorrhoea and syphilis: a national multicenter STI survey in New Caledonia, 2012. *BMJ Open* 2015; 5: e007691. doi: 10.1136/bmjopen-2015-007691.
66. Adachi K, Klausner JD, Xu J, Ank B, Bristow C C, Morgado MG, Watts DH, Weir F, Persing D, Mofenson LM, Veloso VG, Pilotto JH, Joao E, Gray G, Theron G, Santos B, Fonseca R, Kreitchmann R, Pinto J, Mussi-Pinhata MM, Ceriotto M, Machado DM, Bryson YJ, Grinsztejn B, Bastos FI, Siberry G, Nielsen-Saines K, NICHD HPTN 040 Study Team. Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in HIV-infected Pregnant Women and Adverse Infant Outcomes. *Pediatr Infect Dis J.* 2016; 35(8), 894-900.

8. ANEXOS

8.1. ANEXO I:

CONSENTIMIENTO INFORMADO

“Distribución de *Chlamydia trachomatis* en embarazadas y coinfección con otros agentes de infecciones del tracto genital inferior”.

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por la Bioquímica María Lorena López de la Universidad Nacional de Misiones y del Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones, Servicio de Bacteriología.

La meta de este estudio es detectar la presencia de *C. trachomatis* y su coinfección con otros agentes causantes de infecciones ginecológicas en pacientes embarazadas que concurren al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones.

Si usted accede a participar de este estudio se le realizará un breve cuestionario y se le tomarán muestras biológicas de endo y exocérvix. Esta intervención no conlleva riesgos para usted.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.

Usted no recibirá pago alguno por su participación, ni tampoco tendrá que hacer gasto alguno durante el estudio.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma.

El Comité de Ética del Hospital Materno Neonatal, revisó y avaló la realización de este estudio. El Comité es un grupo de personas independientes del estudio, que evalúa el cumplimiento de la normativa ética nacional e internacional y asegurar la protección de los derechos, la seguridad y bienestar de los seres humanos involucrados en una investigación.

Si Usted tiene dudas o consultas sobre sus derechos como participante de la investigación debe comunicarse con el Comité de Ética del Hospital Materno Neonatal a la siguiente dirección de correo electrónico: comite.bioetica.investigacion@gmail.com

Desde ya le agradecemos su participación.

ACUERDO VOLUNTARIO CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio del presente documento y teniendo plena capacidad de mis facultades mentales, *doy mi consentimiento y me ofrezco voluntariamente* para participar de la investigación “Distribución de *Chlamydia trachomatis* en embarazadas y coinfección con otros agentes de infecciones del tracto genital inferior”.

El objetivo de este estudio es detectar la presencia de *C. trachomatis* y su asociación con otros agentes causantes de infecciones ginecológicas en pacientes embarazadas que concurren al Laboratorio del Instituto de Previsión Social de la Provincia de Misiones.

Entiendo que en este estudio me tomarán muestras biológicas de endo y exocérvix. Las cuáles serán utilizadas para la detección de Clamidias, Gonococos, Tricomonas y Levaduras.

Sé que la información sobre mí que se obtenga, como producto de la participación de este estudio podrá ser empleada en ámbitos científicos para favorecer el adelanto de las Ciencias Biomédicas. Bajo la condición de que se preservará el carácter de confidencialidad de mi persona y de cualquier dato vinculante a la identidad de la misma.

Tengo conocimiento que los investigadores responsables de este proyecto están en un todo de acuerdo y adoptan los principios éticos, legales y jurídicos para las investigaciones médicas en seres humanos descriptas en las normas bioéticas nacionales (*Disp. ANMAT 5330/97*) e internacionales (*Código de Núremberg, Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial y sus modificaciones Humanos de la UNESCO 11/11/97*). El Comité de Ética del Hospital Materno Neonatal, revisó y avaló la realización de este estudio.

Dejo explícito que se me ha puesto en conocimiento y comprendo el significado de mi participación voluntaria, la duración y finalidad del estudio, los métodos diagnósticos a ser empleados y el alcance de los resultados a ser obtenidos. Se me ha dejado claro que no recibiré pago alguno por mi participación, ni tampoco tendré gasto alguno durante el estudio. Así mismo he tenido la oportunidad de realizar preguntas referidas a este estudio y las respuestas recibidas han sido todas satisfactorias.

He sido informada de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando así lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona. De tener preguntas sobre mi participación en este estudio puedo contactar a la Bioquímica María Lorena López al teléfono 3764685030.

Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada, y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando éste haya concluido. Para esto puedo contactar a la Bioquímica María Lorena López al teléfono anteriormente mencionado.

Apellido y Nombre del Participante:	
Firma:	Lugar y Fecha
Dirección	Nº de Documento:

Apellido y Nombre del Testigo:	
Firma:	Lugar y Fecha
Dirección	Nº de Documento:

Apellido y Nombre del Investigador o su Representante:	
Firma:	Lugar y Fecha
Dirección	Nº de Documento:

8.2. ANEXO II:

Planilla de Encuesta

Apellido y Nombre			
Dirección			
Edad		DNI	
Teléfono			
Semanas de gestación			
Síntomas	Si	No	

8.3. ANEXO III

PROCEDIMIENTOS DE DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Extracción de ADN:

La extracción de ADN se realizó de forma manual por métodos comerciales. Se usó kits comerciales tipo NucleoSpin Tissue de Marchery-Nagel.

A partir del pellet se procedió de la siguiente manera:

1. *Pre-lisis de la muestra:*

Se resuspendió el pellet celular en un volumen final de 180 µl de Buffer T1 (buffer de lisis) y 25 µl de solución de proteinasa K, y se utilizó vórtex para mezclar. Y se incubó a 56°C hasta que se obtuvo una lisis completa (entre 1-3 h). Además, se homogenizó ocasionalmente con vórtex durante la incubación.

2. *Lisis de la muestra:*

Se añadió 200 µl de Buffer B3 (hidrocloruro de guanidina 36-50%) y luego se homogenizó vigorosamente con vórtex e incubó a 70 ° C durante 10 min. Al finalizar se mezcló vórtex brevemente.

3. *Ajuste de las condiciones de unión de ADN:*

Se adicionó 210 µl de etanol (96-100%) a la muestra y se mezcló con vórtex vigorosamente.

4. *Unión del ADN:*

Para cada muestra, se colocó una columna de “NucleoSpin ® Tissue” en un tubo colector. Se colocó la muestra en la columna y luego se centrifugó durante 1 min a 11.000 x g. Se descartó el filtrado y se colocó la columna en otro tubo colector.

5. Lavado de la membrana de sílice:

Primer lavado:

Se añadió 500 µl de Buffer BW (hidrocloruro de guanidina 36-50 % + isopropanol 20-50 %) y a continuación se centrifugó durante 1 min a 11.000 x g. Se descartó el filtrado y se colocó la columna de nuevo en un tubo colector.

Segundo lavado:

Se adicionó 600 µl de Buffer B5 (5mM Tris/HCl, pH 8,5) a la columna y centrifugó durante 1 min a 11.000 x g. Luego se descartó el filtrado y se colocó la columna en el tubo colector.

6. Secado de la membrana de sílice:

Se centrifugó la columna durante 1 min a 11.000 x g. (Para remover el etanol residual).

7. Elución del ADN altamente puro:

Se colocó la columna de "NucleoSpin ® Tissue" en un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml y añadió 100 µl de Buffer BE precalentado (70° C). Se incubó durante 1 min y centrifugó durante el mismo tiempo a 11.000 x g.

El ADN extraído se almacenó en freezer a -20°C hasta proceder a su amplificación.

✓ Amplificación del gen de la β-actina

Para evaluar la calidad de la muestra y/o la presencia de inhibidores de las técnicas de amplificación de ADN, se amplificó una porción del exón III del gen de la β-actina mediante la técnica descrita por Mayta y col⁴⁸, y se obtuvo un amplicón de 86 pares de bases (pb).

- β - actina Forward: 5'GAG ACC TTC AAC ACC CCAG 3'
- β - actina Reverse: 5'ATC ACG ATG CCA GTG GTAC 3'

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler, en un volumen final de 25 μ l, y el ciclado consistió en una desnaturalización previa a 94°C por 5 min, seguidos de un total de 35 ciclos de amplificación con desnaturalización a 94°C por 30 seg., hibridación a 53° C por 30 seg., y extensión a 72°C por 30 seg. La extensión final se realizó a 72°C durante 3 min.

La mezcla madre para la realización de la PCR estuvo compuesta de 2,5 μ l de buffer 10X (Fermentas) con una concentración final de 1X; 0,4 mM de la mezcla de dNTPs (desoxirribonucleótidos trifosfato); 2,5 mM de MgCl₂ 0,64 mM de cada *primer* y 0,06 unidades por μ l de Taq polimerasa (Fermentas). A esta mezcla madre se le adicionó 5 μ l de ADN, obteniéndose un volumen final de 25 μ l.

El análisis de los productos de PCR se realizó por electroforesis en gel de agarosa al 2% en buffer TBE 0,5X. Se aplicó una corriente eléctrica de 120 voltios durante 30 minutos. Se observó la aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado al exponerlo a luz ultravioleta en el transiluminador. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb.

Detección de *Chlamydia trachomatis* por PCR para plásmido críptico

Se realizó mediante PCR utilizando el protocolo descrito por Mahony y col⁴⁹. Se amplificó un fragmento de ADN del plásmido críptico con los cebadores KL1 y KL2. Se obtuvo un amplicón de 240 pb.

- KL1: 5'TCCGGAGCGAGTTACGAAGA 3'.
- KL2: 5'AATCAATGCCCGGGATTGGT 3'.

La mezcla madre para la realización de la PCR consistió en 2,5 µl de buffer 10X con una concentración final 1X; 2 mM de Cl_2Mg ; 0,2 mM de la mezcla de dNTPs; 0,8 mM de cada *primer* y 0,02 unidades por µl de Taq polimerasa (Fermentas). A esta mezcla madre se le adicionó 10 µl de ADN, obteniéndose un volumen final de 25 µl.

La PCR se llevó a cabo utilizando un Termociclador Compacto Labnet, modelo MultiGene™II Personal ThermalCycler, en un volumen final de 25 µl. El ciclo consistió en una desnaturalización previa a 94°C por 5 min, seguidos un total de 35 ciclos de amplificación con desnaturalización a 94°C por 60 seg., hibridación a 60° C por 60 seg., y extensión a 72°C por 30 seg. La extensión final fue a 72°C por 5 min.

Los productos amplificados se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2% en Buffer TBE 0, 5X. Se aplicó una corriente eléctrica de 120 voltios durante 30 minutos. Se observó la aparición de bandas del tamaño del fragmento amplificado al exponerlo a luz ultravioleta en el transiluminador. Para determinar el tamaño del producto de amplificación, se utilizó un marcador de peso molecular de 100 pb. Se fotografiaron con cámara digital.