



**HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES  
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE AGUASCALIENTES**

**CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE GINECOLOGÍA-OBSTETRICIA Y PEDIATRÍA**

**TESIS**

**“PERFIL DE LA MICROBIOTA VAGINAL EN GESTANTES DEL TERCER TRIMESTRE  
DEL HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES E IMPACTO EN EL  
RESULTADO OBSTETRICO Y NEONATAL ADVERSO”**

**PRESENTA:**

**ANABEL RIVERA AYALA**

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**

**TUTOR:**

**DRA. MARÍA DEL CONSUELO ROBLES MARTÍNEZ**

**COMITÉ TUTORIAL:**

**DR. DANIEL ELY BRAVO AGUIRRE**

**ASESOR METODOLÓGICO**

**DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA**

**Aguascalientes, Ags. Enero 29 del 2016**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

**ANABEL RIVERA AYALA**  
**ESPECIALIDAD EN GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA**  
**PRESENTE**

Por medio de la presente se le informa que en cumplimiento de lo establecido en el Reglamento General de Docencia en el Capítulo XVI y una vez que su trabajo de tesis titulado:

**“PERFIL DE LA MICROBIOTA VAGINAL EN GESTANTES DEL TERCER TRIMESTRE, DEL HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES E IMPACTO EN EL RESULTADO OBSTÉTRICO Y NEONATAL ADVERSO”**

Ha sido revisado y aprobado por su tutor y consejo académico, se autoriza continuar con los trámites de titulación para obtener el grado de:  
**Especialista en Ginecología y Obstetricia**

Sin otro particular por el momento me despido enviando a usted un cordial saludo.

**ATENTAMENTE**  
**“SE LUMEN PROFERRE”**  
Aguascalientes, Ags., 29 de Enero de 2016.

**DR. RAÚL FRANCO DÍAZ DE LEÓN**  
**DECANO DEL CENTRO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

c.c.p. C. P. Ma. Esther Rangel Jiménez / Jefe de Departamento de Control Escolar  
c.c.p. Archivo



Instituto de  
SALUD DEL ESTADO  
DE AGUASCALIENTES



HOSPITAL DE LA MUJER

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE AGUASCALIENTES

---

DR. JOSE ARMANDO ROBLES AVILA  
DIRECTOR DEL HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES

---

DRA. MARIA DEL CONSUELO ROBLES MARTÍNEZ  
JEFE DE ENSEÑANZA Y TUTOR DE TESIS

---

DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA  
ASESOR METODOLÓGICO



DEPENDENCIA:	INSTITUTO DE SERVICIOS DE SALUD DEL ESTADO DE AGUASCALIENTES.
SECCIÓN:	SUBDIRECCIÓN DE ENSEÑANZA, CAPACITACIÓN E INVESTIGACIÓN.
Nº DE OFICIO:	5000-
EXPEDIENTE:	5000/

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN

AGUASCALIENTES, AGS. 27 DE ENERO DEL 2016

A QUIEN CORRESPONDA:

EL COMITÉ ESTATAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD, BASADO EN LOS ESTATUTOS CONTENIDOS EN EL MANUAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD, HA TENIDO A BIEN REVISAR EL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN INTITULADO

"PERFIL DE LA MICROBIOTA VAGINAL EN GESTANTES DEL TERCER TRIMESTRE, DEL HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES E IMPACTO EN EL RESULTADO OBSTETRICO Y NEONATAL ADVERSO"

OTORGANDO EL DICTAMEN DE "ACEPTADO" NÚMERO DE REGISTRO: 2ISSEA-16/16

INVESTIGADOR (S) DE PROYECTO:  
DRA. ANABEL RIVERA AYALA

LUGAR DE DESARROLLO DE LA INVESTIGACIÓN:  
HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES

TIPO DE INVESTIGACIÓN: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

ASESOR (S) DE INVESTIGACIÓN:  
DR. FRANCISCO JAVIER SERNA VELA  
DRA. MARÍA DEL CONSUELO ROBLES MARTÍNEZ

ESPERANDO QUE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN REDUNDE EN BENEFICIO A NUESTRA POBLACIÓN, NOS PONEMOS A SUS ÓRDENES.

ATENTAMENTE  
  
DR. JAVIER CONGORA ORTEGA, MCM  
SECRETARIO TÉCNICO

C.C.P.- ARCHIVO



www.aguascalientes.gob.mx  
Margil de Jesús No. 1501 Fracc. Las Arboledas.  
Aguascalientes, Ags.C.P. 20020 | Tel: 910 79 00 |



**AGRADECIMIENTOS**

Al personal del Departamento de Enseñanza del Hospital de la Mujer por el apoyo brindado para llevar a conclusión este protocolo de investigación. Así como al personal de Departamento de Microbiología del Hospital por prestarse a formar parte de este proyecto.

¡Gracias!

**DEDICATORIA**

¡Actúa en vez de suplicar. Sacrifícate sin esperanza de gloria ni recompensa! Si quieres conocer los milagros, hazlos tú antes. Sólo así podrá cumplirse tu peculiar destino.

Haz lo necesario para lograr tu más ardiente deseo, y acabaras lográndolo.

Ludwig van Beethoven

## ÍNDICE GENERAL

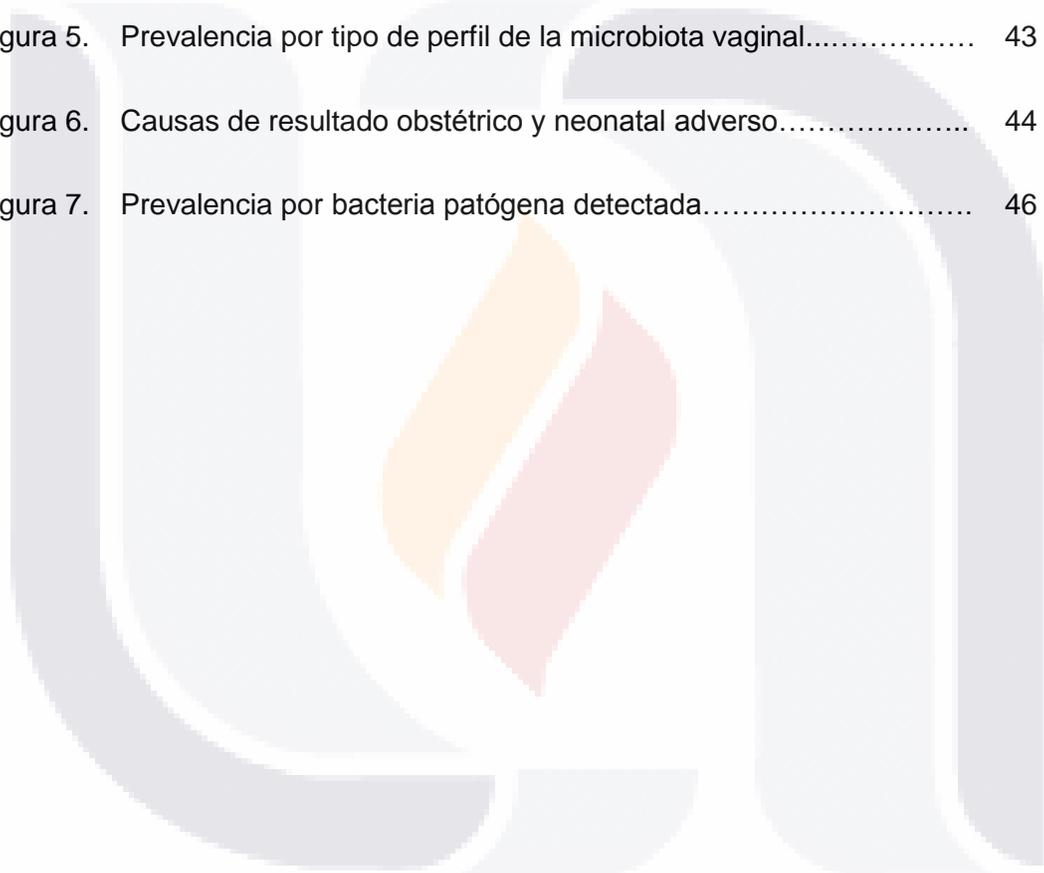
ÍNDICE DE TABLAS .....	2
ÍNDICE DE FIGURAS.....	3
ACRÓNIMOS.....	4
RESUMEN.....	5
ABSTRACT.....	6
1. MARCO TEÓRICO.....	7
1.1 HISTÓRICO.....	8
1.2 CIENTIFICO.....	12
1.3 NORMATIVO.....	22
1.4 CONCEPTUAL.....	23
2. METODOLOGÍA.....	29
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	29
2.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	30
2.3 OBJETIVOS.....	30
2.4 HIPÓTESIS.....	31
2.5 MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS.....	31
2.6 OPERALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	32
2.7. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.....	34
2.8. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y LOGÍSTICA.....	35
3. RESULTADOS.....	39
4. DISCUSION.....	49
CONCLUSIONES.....	54
GLOSARIO.....	56
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.	Grado Lactobacilar .....	24
Tabla 2.	Criterios de Donders.....	25
Tabla 3.	Puntuación para diagnóstico de Vaginitis aeróbica.....	26
Tabla 4.	Puntuación Nugent.....	27
Tabla 5.	Operalización de las variables.....	32
Tabla 6	Propuesta de tipificación de microbiota vaginal.....	37
Tabla 7.	Microbiota Vaginal Aerobia.....	39
Tabla 8.	Microbiota Vaginal Anaerobia.....	40
Tabla 9.	Microbiota Vaginal Lactobacilar.....	41
Tabla 10.	Perfil de Microbiota Vaginal.....	42
Tabla 11.	Resultado Obstétrico y Neonatal Adverso.....	44
Tabla 12.	Resultado adverso en gestantes con factor de riesgo.....	45
Tabla 13.	Resultado del Estudio Bacteriológico de Exudado Vaginal.....	45
Tabla 14.	Bacteria patógena positiva obtenida en el exudado vaginal.....	46
Tabla 15.	Correlación estadística entre el tipo de microbiota vaginal y el resultado obstétrico y neonatal adverso.....	47
Tabla 16.	Correlación estadística entre el tipo de microbiota vaginal y el resultado positivo a bacterias patógenas del exudado.....	48
Tabla 17.	Correlación estadística entre la presencia de resultado obstétrico adverso y factor de riesgo materno.....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Microbiota vaginal normal.....	24
Figura 2. Prevalencia de Vaginitis Aeróbia.....	40
Figura 3. Prevalencia de Vaginosis Bacteriana.....	41
Figura 4. Prevalencia de la microbiota vaginal normal.....	42
Figura 5. Prevalencia por tipo de perfil de la microbiota vaginal.....	43
Figura 6. Causas de resultado obstétrico y neonatal adverso.....	44
Figura 7. Prevalencia por bacteria patógena detectada.....	46



## ACRONIMOS

ADN: Acido Desoxirribonucleico

APP: Amenaza de Parto Pretérmino

ARN: Ácido Ribonucleico

ARNr16S: Ácido Ribonucleico ribosómico que forma parte de la subunidad menor de los ribosomas procariontes.

CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono

FUM: Fecha de ultima menstruación

GLB: Grado Lactobacilar

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de Hidrogeno

IC: Intervalo de confianza

NOM: Norma Oficial Mexicana

OH-: Radical hidroxilo

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Reacción en Cadena Polimerasa

PMAM: Patrones Moleculares Asociados a los Microorganismos

RPM: Ruptura Prematura de Membranas

UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

VA: Vaginitis Aeróbica

VB: Vaginosis Bacteriana

VIH: Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VPH: Virus del Papiloma Humano

## RESUMEN

*Título:* Perfil de la microbiota vaginal en gestantes del tercer trimestre, del Hospital de la Mujer de Aguascalientes e impacto en el resultado obstétrico y neonatal adverso.

*Introducción:* Actualmente varios estudios sugieren que la presencia de una flora microbiana vaginal anormal durante el embarazo aumenta el riesgo de parto prematuro, ruptura prematura de membranas y corioamnionitis, como lo ocasiona la presencia de un sobrecrecimiento de microflora anaerobia, por ejemplo en la vaginosis bacteriana (VB), y el crecimiento excesivo de la microflora aerobia, por ejemplo, la vaginitis aeróbica (VA). Aunque la prevalencia de la VB durante el embarazo oscila entre un 14 - 21% y la de vaginitis aeróbica entre un 8 - 10%, los métodos de diagnóstico para la detección de estas alteraciones no se utilizan de forma rutinaria durante el embarazo. Así que conocer la influencia de la flora microbiana vaginal anormal sobre el resultado adverso del embarazo, ofrecerá la posibilidad de acciones para un diagnóstico precoz.

*Materiales y métodos:* Esta investigación es de tipo observacional, descriptivo y transversal; se llevó a cabo durante el 1 de mayo 2015 hasta el 25 de enero de 2016, en una población de embarazadas que cursan el tercer trimestre. Con un tamaño de la muestra de 35 gestantes. Con valores para  $\alpha = 0,05$  y un 90% IC. Variables: microbiota anaerobia, microbiota aerobia, para evaluar el resultado obstétrico y neonatales adverso; amenaza de parto prematuro, ruptura prematura de las membranas, sepsis neonatal y corioamnionitis.

*Resultados:* Se obtuvo un valor estadísticamente significativa en la asociación de una microbiota vaginal anormal y resultado obstétrico y neonatal adverso [ $p$  ( $\chi^2$ ) = 0.03].

*Conclusión:* Se determinó que un perfil anormal de la microbiota vaginal durante el tercer trimestre del embarazo se asocia con el resultado adverso obstétrico y neonatal.

## ABSTRACT

*Title:* Profile of the vaginal microbiota in women pregnant during the third trimester of the “Hospital de la Mujer de Aguascalientes” and impact in the obstetric and neonatal adverse outcome

*Background:* Actually many studies suggest that the presence of abnormal vaginal microbial flora in pregnancy increases the risk of preterm birth, premature rupture of the membranes and chorioamnionitis, as does the presence of anaerobic overgrowth, for example in bacterial vaginosis (BV), and aerobic overgrowth, for example in aerobic vaginitis (AV). Although the prevalence for BV during pregnancy is the 14 – 21% and of 8 - 10% for AV, the diagnostic methods for your detection are not used routinely during pregnancy. So knowing the influence of abnormal vaginal microbial flora on pregnancy outcome, will offer the possibility of early diagnosis actions.

*Materials and methods:* This investigation is observational, descriptive, transversal; and took place from May 1° 2015 until January 25° 2016, among a population in women pregnant during the third trimester. Sample size is of 35 cases. Values for  $\alpha = 0.05$  and IC 90%. Variables: anaerobic microbiota, aerobic microbiota. For obstetric and neonatal adverse outcome: preterm labor, premature rupture of the membranes, neonatal sepsis and chorioamnionitis.

*Results:* A statistically significant value was obtained from the association of abnormal vaginal microbiota and adverse obstetric outcome [ $p$  ( $\chi^2$ ) =0.03].

*Conclusion:* It was determined that an abnormal profile of the vaginal microbiota during the third trimester of pregnancy is associated with the obstetric and neonatal adverse outcome.

## 1. MARCO TEÓRICO

Definiendo como resultado adverso a todo aquel suceso o evento que llegue a ser desfavorable para una condición, en obstetricia corresponde a mencionar al parto pretérmino. La OMS calcula que ocurren 14 000 000 de partos pretérminos anuales, constituyendo un gran reto en la atención prenatal. Éste resultado obstétrico adverso representa un 70% en muerte neonatal, condicionando igualmente resultado adverso neonatal (16).

A pesar del carácter multifactorial del parto pretérmino, la infección es una de sus causas principales, motivo que ha llevado a múltiples investigaciones, las cuales asocian la infección intrauterina con parto pretérmino. Esta adquirida de manera ascendente del tracto genital inferior, por lo que resulta ideal dirigir la investigación en relación a la microbiota vaginal, ya que ésta, representa el primer mecanismo de defensa contra la infección vaginal. Donde la deficiencia de lactobacilos vaginales condiciona la instauración de flora patógena, lo que representa el primer paso en la infección intrauterina (24).

Por tanto, una microflora vaginal alterada será de importancia en la génesis de resultado obstétrico y neonatal adverso, lo cual se evidencia en las investigaciones recientes con respecto a la vaginosis bacteriana (VB) y la vaginitis aeróbica (VA) y su relación con trabajo de parto pretérmino, rotura prematura de membranas, corioamnioitis, aborto tardío, síndrome de respuesta inflamatoria fetal, sepsis neonatal y endometritis postparto. Las consecuencias de la infección intrauterina para el feto no solo se limitan a la prematuridad, sino que también están en relación con la lesión inducida por la respuesta inflamatoria fetal que resulta en encefalopatía neonatal, hemorragia intraventricular, leucomalasia, displasia broncopulmonar y parálisis cerebral (45).

Para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana como para la vaginitis aeróbica, determinar la deficiencia de los lactobacilos es indispensable, de modo que se ambas pueden coexistir. Conocer su prevalencia en la población gestante es necesario en vista de su asociación con complicaciones obstetricas, reportándose para vaginosis bacteriana entre un 14% y el 21% en países occidentales (57) y para la vaginitis aeróbica durante el embarazo una prevalencia de entre 8.3% y 10% basado en las escasas publicaciones con

las que se cuenta (24). De modo que determinar la presencia de una microflora vaginal anormal durante el embarazo es vital para tomar decisiones obstétricas apropiadas.

### 1.1 HISTÓRICO.

#### *Rumbo al descubrimiento de los microorganismos.*

La existencia de los microorganismos fue desconocido hasta el descubrimiento del microscopio. Éste instrumento óptico pudo magnificar pequeños objetos no observables a simple vista; se inventa al comienzo del siglo XVII. La primera referencia sobre el microscopio fue en 1621 por Constantijn Huygens, quien relata que el inglés Cornelis Drebbel tenía en su taller un instrumento magnificador elaborado con lentes convexas, recibiendo el nombre de *Microscopium* en 1625, por la Academia Linceana, en Roma. El descubrimiento de los microorganismos se debe al holandés Antonie van Leeuwenhoek conocido como el padre de la Microbiología, quien fabricó microscopios simples, con los que llegó a obtener aumentos de casi 300 veces los objetos. Él en 1675 descubrió que en una gota de agua de estanque abundaba una asombrosa variedad de pequeñas criaturas a las que denominó "animáculos" y comunica sus descubrimientos a la Real Sociedad de Londres, donde describe protozoos (como la *Giardia*, observada en sus propias heces), los espermatozoides y los glóbulos rojos (por lo que es considerado también fundador de la Histología animal), así como detalla los microorganismos observados de la placa dental, siendo pionero en describir la flora microbiana habitante en la boca humana (28).

Pero el estudio de los "animáculos" decayó durante casi 200 años, debido a las imperfecciones ópticas de los microscopios, hasta que hacia 1830 se desarrollaron las lentes acromáticas. El francés Louis Pasteur en un informe a la Academia de Ciencias de París, en 1860 ("*Expériences relatives aux générations dites spontanées*"), comprobó que existían microorganismos en el aire. En 1861 publica otro informe en el que explica cómo se pueden capturar del aire para su observación microscópica e inicia estudios sobre la fermentación, percatándose de que las distintas poblaciones de microorganismos en un cultivo, condicionaban un ambiente favorable para la misma comunidad microbiana, indicios de lo que hoy se conoce como simbiosis (51, 17).

Para 1875, Koch conjeturaba sobre la posibilidad de las bacterias como patógenas, favoreciendo sus investigaciones el perfeccionamiento del microscopio compuesto, fabricado por la industria óptica Abbé y Zeiss y por otro lado, la industria química BASF, suministró al laboratorio de Koch una serie de derivados de anilina que teñía las bacterias, permitiendo su fácil visualización al microscopio en frotis de tejidos infectados. En 1884 el patólogo danés Christian Gram establece una tinción de contraste que permite distinguir dos tipos bacterianos en función de sus reacción diferencial en la tinción, como se vería más tarde, reflejaba la existencia de dos grupos de bacterias con rasgos estructurales distintivos. Estas innovaciones técnicas (métodos de cultivo, microscopía y tinciones) fueron fundamentales para el estudio de los microorganismos (4).

#### *Los microorganismos en las enfermedades infecciosas*

Durante el siglo XIX la atención se había dirigido hacia el papel de los microbios en las enfermedades infecciosas, destacando precedentes como en 1839 cuando J.L. Schönlein descubrió la asociación de un hongo con una enfermedad humana de la piel. En 1840 Henle, planteó la teoría de que las enfermedades infecciosas están causadas por seres vivos invisibles. En 1846 F. Semmelweis, ordenó el lavado de manos con solución de hipoclorito cálcico, previo contacto con las parturientas, convencido de que la fiebre puerperal dependía de sustancias diminutas procedentes del exterior. En 1860 el cirujano J. Lister ante la sospecha de intervención de microorganismos en la infección de las heridas, aplicó un spray desinfectante durante sus cirugías, logrando prevenir las infecciones provenientes del aire (52). Pero la confirmación de estas ideas tuvo que esperar a la intervención de Pasteur; quien demuestra la existencia de microorganismos específicos responsables de enfermedades. En 1869 identifica al protozoo *Nosema bombycis* como el responsable de la pebrina en los gusanos de seda. Pero la intervención de bacterias como agentes específicos en la producción de enfermedades fue descubierta a raíz de la investigación sobre el ántrax, enfermedad que afectaba el ganado y se transmitía al hombre, donde colaboró C. Davaine, encontrando grandes cantidades de microorganismos en la sangre de las vacas afectadas. Pero fue Robert Koch, quien con su técnica de cultivo puro logró, en 1876, el primer aislamiento y propagación *in vitro* del bacilo del ántrax, consiguiendo las primeras microfotografías sobre preparaciones fijadas y teñidas con azul de metileno (56). Este tipo de estrategias para demostrar el origen

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

bacteriano de una enfermedad fue llevado a una ulterior perfección en 1882, con la publicación de "*Die Äthiologie der Tuberkulose*", donde se comunica por primera vez la aplicación de los criterios que Henle postuló en 1840, criterios perfeccionados y hoy llevan el nombre de Koch, y son: 1. El microorganismo debe estar presente en todos los casos de la enfermedad, 2. El microorganismo debe ser aislado del huésped enfermo y hacerlo crecer en medio de cultivo puro, 3. La enfermedad específica debe reproducirse cuando se inyecta un cultivo puro del microorganismo en un huésped susceptible saludable y 4. El microorganismo debe recuperarse una vez más del huésped experimental inoculado. En los siguientes años, se innovó en métodos para detección de las principales bacterias causantes de enfermedades humanas (4).

*Preámbulo de la participación microbiana en la etiología de la enfermedad vaginal.*

Con el progreso de la microbiología, se inicia la búsqueda de microbios involucrados en la etiología de la enfermedad vaginal, siendo posible visualizar tricomonas y levaduras en el fluido vaginal. El reconocimiento de la flora bacteriana y enfermedad infecciosa vaginal, comenzó hace más de un siglo atrás, en 1892, cuando Krönig, un investigador alemán, publicó dibujos de secreción vaginal con tinción de Gram en mujeres con problemas de flujo desagradable, sugiriendo a los estreptococos anaerobios como agentes etiológicos. En el mismo año el médico alemán Albert Döderlein describió en su tesis titulada '*Das Scheidensekret*' ("Secreción vaginal"), al bacilo de Döderlein: una bacteria que había descubierto en una muestra vaginal de una mujer embarazada (9), bacteria que más tarde es llamada Lactobacilo, transfiriendo así un concepto que se convirtió en fundamental en microbiología vaginal: bacilos de Döderlein y acidez vaginal como esenciales para mantener a las bacterias dañinas lejos de la vagina. Con la sola adición de solución salina, sin adicionar colorante, fue capaz de mostrar los lactobacilos en la secreción vaginal de mujeres sanas, así como la deficiencia de estos lactobacilos en mujeres con endometritis postparto (41). Para 1914, Hugo Schottmueller observó que eran anaerobios y no *Streptococcus* del grupo A, los agentes patógenos predominantes en la sepsis puerperal. Postula que la misma infección era adquirida de forma endógena a partir de la flora de los genitales normales, siendo poco considerada su propuesta en tiempos en que casi todas las enfermedades infecciosas se pensaba que eran exógenos y contagiosas (5). Schröder en 1920 comenzó a utilizar esta información en un contexto

clínico más amplio, y crea así los primeros juicios para determinar la cantidad de lactobacilos: el grado lactobacilar (21). Determina un grado I a una microflora “sana”, donde predominaban los morfotipos variables de lactobacilos y grado III como una condición en la que los morfotipos lactobacilares están completamente reemplazados por otros morfotipos bacterianos y el grado II a un grado intermedio, con lactobacilos coexistiendo con otras bacterias (22). Hasta la década de 1950, las mujeres sintomáticas, con un grado III lactobacilar fueron diagnosticadas como “vaginitis no específica”, dado que la etiología microbiana causante de la deficiencia en lactobacilos era aún incierta. Este misterio fue resuelto por Gardner y Dukes, ginecólogo y un microbiólogo respectivamente, quienes juntos descubrieron un nuevo género de bacterias, responsables de la condición que hoy conocemos como la vaginosis bacteriana (31). Al principio, Gardner y Dukes pensaron que su bacteria recién descubierta pertenecía al grupo *Haemophilus* (*Haemophilus vaginalis*), pero poco después las propiedades únicas de la bacteria aislada hicieron necesario la creación de un nuevo género: *Gardnerella*. Comprueban que la bacteria *Gardnerella vaginalis* fue la causa de la descarga vaginal acuosa mal oliente en mujeres sintomáticas que sufrían de vaginosis bacteriana. Aunque la inoculación a mujeres sanas con fluido vaginal de mujeres con VB provocó síntomas de VB en 13 de 15 voluntarias, la inoculación sólo con *G. vaginalis* purificada, ocasionó solo 1 caso de VB. Por tanto, reconocieron que la *G. vaginalis* no es exclusivamente la causante de los síntomas. Posteriormente, otros organismos fueron descubiertos en el fluido vaginal; como las especies anaeróbicas: *Bacteroides*, *peptoestreptococos*, *micoplasmas* (especialmente *Mycoplasma hominis*) y también especies *Mobiluncus*, encontradas con frecuencia en la flora característica de la VB (53).

Ante el hecho de que la mayoría de las bacterias involucradas en la VB no pueden ser visualizadas bajo microscopía con montaje en fresco, se hicieron muchos intentos para determinar el medio microbiológico ideal para el diagnóstico; incluso utilizando las propiedades químicas de las bacterias implicadas como la relación succinato/ lactato (42). Pero no fue hasta que el diagnóstico de la vaginosis bacteriana se basó en la determinación de criterios en relación a la muestra teñida con Gram, implementado por Carol Spiegel y colaboradores; mismos que posteriormente refinó Nugent. De ese modo evoluciona progresivamente el diagnóstico de una condición clínica común (48).

A inicios del siglo XXI surge el problema en la clasificación de una flora intermedia, microflora alterada que no se considera normal pero tampoco vaginosis bacteriana. Este tipo de flora indefinida fue de vital importancia en las mujeres embarazadas, tras su análisis, se le asocia a complicaciones graves, tales como corioamnionitis y aborto. La presencia de *E. coli* y *Streptococcus del grupo B* como patógenos importantes junto a los microorganismos de la vaginosis bacteriana, se asocian con parto prematuro (27). Por tanto Donders sugiere en fechas recientes (2007) una segunda anormalidad de la flora vaginal y la denomina vaginitis aerobia, dominada por bacterias aerobias facultativas (21).

*Tiempo actual: ecosistemas microbianos residentes en el ser humano*

En los últimos años el creciente conocimiento de que el humano es hospedero de cientos de miles de millones (1 trillón =  $10^{18}$ ) de bacterias y hongos comensales (cifra 10 veces superior al número de células humanas), colonización que comienza poco después del nacimiento, ante la exposición con los microorganismos comensales normales de la microbiota vaginal materna (1). Se han enfocado las investigaciones al intento de comprender el papel que desempeñan los ecosistemas microbianos residentes en el ser humano. En 2007, se puso en marcha el Proyecto Microbioma Humano. Uno de los principales objetivos de este proyecto es identificar la gama en diversidad genética y entender la fisiología de ésta, en la humana, siendo conscientes de que la microbiota humana es una comunidad metabólicamente y antigénicamente diversa que puede funcionar como mutualistas (simbióticamente beneficioso), comensal (sin causar daño ni beneficio), o patógena en el organismo humano. El proyecto es llevado a cabo mediante el análisis de secuencias de genes del ARN ribosomal por la subunidad pequeña 16s de la mayoría de las bacterias (57).

## 1.2 CIENTIFICO.

*Canal vaginal: primera línea de defensa*

El tracto reproductivo femenino presenta un entorno libre de bacterias, que asegura la producción y transporte de los gametos, su fertilización, implantación y el posterior

desarrollo embrionario como fetal. Su conducto exterior, cérvix y vagina, sirven como la primera línea de defensa para proteger contra la entrada de agentes patógenos a estos sitios (9). La vagina cumplirá funciones como: albergar al pene durante el coito; servir de canal por el que desciende el feto durante el parto y actuar como medio de defensa a través de su comunidad microbiana y pH ácido, regulando el sobrecrecimiento microbiano que puede propagarse a la cavidad uterina (6).

Anatómicamente la vagina es un conducto de estructura tubular, colapsada que se extiende desde el vestíbulo vulvar hasta el cuello uterino. Histológicamente la pared vaginal está constituida por tres capas: la mucosa, la muscular y la adventicia. La mucosa está tapizada por un epitelio plano estratificado no queratinizado, carente de glándulas y con contenido de glucógeno. Este epitelio estratificado está dividido en las capas: basal (una hilera de células), parabasal (dos a cinco hileras de células); intermedia y superficial, ambas con grosor variable. Responde al estímulo hormonal ya que contiene receptores intranucleares para esteroides sexuales. El estímulo estrogénico aumenta el grosor del epitelio y el progestacional lo hace madurar cargándolo de glucógeno. Así durante el embarazo el epitelio vaginal va a presentar mucho glucógeno intracitoplasmático (32).

A pesar de no poseer glándulas, la mucosa vaginal está recubierta por una secreción que es producto de la exudación de su epitelio y del precedente producto de las glándulas del cuello uterino, dándole la consistencia mucosa. Este líquido es rico en glucosa y diversos aminoácidos que facilitan la colonización de la cavidad vaginal por las bacterias que constituyen su microbiota autóctona. También para evitar el establecimiento de microorganismos indeseables, presenta fagocitos, linfocitos y factores solubles como defensinas, lactoferrina, proteínas del sistema complemento e inmunoglobulinas de tipo A. La abundancia del exudado también depende de la regulación hormonal (64). Por lo que, tanto la vagina y el cérvix actúan como barrera física a la entrada de patógenos al útero o durante el embarazo al amnios e inclusive al feto, por tanto la infección se presenta cuando las comunidades microbianas de la vagina se alteran y permiten el sobrecrecimiento de microorganismos dañinos (9).

### *Microbiota vaginal normal*

El ecosistema vaginal es dinámico y alberga un gran número de microorganismo; de éstos los lactobacilos se reconocen como uno de los principales agentes protectores, encontrándose en concentraciones que van de  $10^7$  a  $10^8$  unidades formadoras de colonia por ml de fluido vaginal. La microbiota vaginal está constituida por distintos géneros bacterianos, cuya prevalencia depende de la edad y situación hormonal como reproductiva. La microflora vaginal se establece en esta cavidad desde el nacimiento. Cuando el producto pasa a través del canal de parto, la biota de la madre es transferida al hijo. Otra vía de colonización es la cercanía entre el ano y la vagina, que permite el paso de la biota del aparato gastrointestinal a la cavidad vaginal. Los cambios en la microbiota están estrechamente relacionados con la influencia de las hormonas sexuales, principalmente los estrógenos (44).

En general, el porcentaje de muestras de exudado vaginal que presentan predominancia de los lactobacilos es superior al 70%, ya sean analizadas mediante cultivo o por métodos genotípicos. También bacterias grampositivas o gramnegativas anaerobias estrictas de los grupos *Clostridium-Eubacterium* y *Bacteroides-Prevotella*, respectivamente, que dominan el hábitat intestinal, aparecen esporádicamente en la vagina, lo que sugiere que son transeúntes más que colonizadoras de esta mucosa (43).

También se ha identificado en mujeres carentes de lactobacilos la colonización por bacterias alternativas como *Atopobium*, *Megasphaera* y *Leptotrichia* realizando la misma función protectora (66).

La composición del ecosistema vaginal no es estática, sino que cambia con el tiempo y en respuesta a las influencias endógenas y exógenas. Las variables incluyen la etapa del ciclo menstrual, embarazo, uso de anticonceptivos, la frecuencia de las relaciones sexuales, las parejas sexuales, uso de duchas vaginales, uso de protectores diarios o desodorantes vaginales, así como la utilización de antibióticos u otros medicamentos con actividades inmunológicas o endocrina (49).

## *Los Lactobacilos*

Los lactobacilos se encuentran clasificados como bacilos Gram positivos pleomórficos no esporulados, variando sus formas desde muy alargadas a bastante cortas, incluso rectas, curvadas y espiriladas; pertenecen al Orden II “*Lactobacillales*”, Familia I “*Lactobacillaceae*”, Género I “*Lactobacillus*”, que actualmente por lo publicado por Ljungh y Wadström en el 2009, se incluye un total de 113 especies recopilados por métodos tanto fenotípicos como genotípicos. Por sus características fisiológicas y bioquímicas se diferencian de otros géneros porque son: no móviles, catalasa y oxidasa negativos, anaerobios facultativos y microaerofílicos (aerotolerantes); creciendo mejor en anaerobiosis o en atmosferas con 10% de CO<sub>2</sub>. Pertenecen al grupo de las bacterias ácido-lácticas, un grupo heterogéneo, que tiene como característica la producción de ácido láctico como catabólico único en la fermentación de los azúcares. Son catalasa negativos y también llegar a producir a acetato, etanol y CO<sub>2</sub>. Presentan genomas pequeños, siendo muy exigentes nutricionalmente. Su inocuidad como agentes infecciosos se debe en parte a ésta escasez de información genética; hasta el momento sin descubrirse genes codificantes de factores de virulencia (43).

La nomenclatura precisa de los lactobacilos aislados de vagina a especies concretas depende de los métodos de identificación empleados, existiendo gran disparidad cuando se usan técnicas que ponen de manifiesto cualidades fenotípicas, de aquellas que determinan propiedades genotípicas. Los métodos de identificación por cultivo y pruebas bioquímicas dan como resultado la colonización de la vagina por *L. acidophilus* y/o *L. fermentum*. Sin embargo, cuando se aplican métodos genotípicos de identificación las predominantes son *L. crispatus*, *L. gasseri* y *L. jensenii*, *L. iners* y *L. vaginalis* tanto si se analiza el grado de homología del ADN cromosómicos o si se determina la secuencia de ARNr 16S (39).

La morfología por microscópica (morfotipo) característica del género se observa mediante un frote teñido por la tinción de Gram, siendo posible identificar los diferentes morfotipos bacterianos compatibles con lactobacilos, bacilos Gram positivos desde largos, curvos y cortos. El morfotipo colonial es diverso, se han descrito colonias que van de los 2 a 5 mm

de diámetro, algunas con bordes enteros, otras con bordes irregulares; convexas, lisas brillantes u opacas, rugosas, translúcidas y no pigmentadas (44).

#### *Protección lactobacilar vaginal*

Las propiedades de la microbiota vaginal que le permiten colonizar la mucosa e impedir el establecimiento o la proliferación excesiva de microorganismos potencialmente patógenos son de dos tipos: *a)* la adherencia específica tanto a las células epiteliales como a los microorganismos patógenos, y *b)* la producción de compuestos antimicrobianos (66).

Los lactobacilos interfieren en la implantación de los patógenos ya sea por adherencia a las células epiteliales o mediante una serie de estrategias como: por exclusión competitiva de patógenos por los receptores de superficie presentes en las células epiteliales, por la coagregación de éstos con algunas bacterias patógenas o por la producción de compuestos antimicrobianos (ácido láctico, peróxido de hidrogeno, bacteriocinas y biosurfactantes). El reconocimiento específico entre las estructuras superficiales de los lactobacilos y el epitelio (receptores) está dado por las adhesinas que forman parte del glucocaliz o de la pared celular lactobacilar. El resultado de la asociación entre los lactobacilos y el epitelio vaginal es la formación de una biopelícula que lo protege frente a la colonización por microorganismos indeseados, efecto potenciado por la capacidad de los lactobacilos vaginales para coagregar con patógenos potenciales, lo cual induce un efecto antimicrobiano notable, probablemente como consecuencia del contacto estrecho que se establece y aumenta la efectividad del ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y otros productos microbicidas generados por los lactobacilos (60).

La producción de compuestos antimicrobianos, como son los ácidos orgánicos permite establecer un pH vaginal de entre 3.8 - 4.2. Este ambiente ácido inhibe parcial o totalmente el desarrollo de la mayor parte de las bacterias procedentes del tracto digestivo así como las de origen ambiental. La acidez vaginal resulta del ácido láctico que se genera como producto final del metabolismo fermentativo de los glúcidos, debido principalmente a la acción de la peroxidasa de hidrógeno, enzima acidificante. Las células epiteliales acumulan glucógeno, así pues, el glucógeno vaginal es degradado hasta

glucosa por las propias células del epitelio, de modo que el papel de los lactobacilos sería la fermentación de dicho azúcar para generar el ácido láctico (44).

La producción de peróxido de hidrógeno parece ser común entre ciertas especies de lactobacilos como *L. crispatus* y *L. jensenii*, mientras que es excepcional en otras como *L. fermentum* y lactobacilos que habitan en el intestino, como *L. plantarum* y *L. casei*. Las cepas productoras de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> son estables en el ambiente vaginal y protegen la mucosa frente a las alteraciones causadas por microorganismos indeseados. El efecto bactericida del agua oxigenada viene determinado por su capacidad oxidante y por la generación, de metabolitos como el radical OH<sup>-</sup>, que dañan la integridad del ADN celular. Dicho efecto se potencia por la mieloperoxidasa y los radicales haluro, que son abundantes en el mucus uterino (60).

Las bacteriocinas son polipéptidos con actividad antimicrobiana que se sintetizan en los ribosomas, alguna de ellas como la nisina. Suelen ser moléculas anfipáticas que originan la apertura de poros en las membranas e incluso la lisis celular; son activas sobre cepas de *G. vaginalis* y cepas de *Enterococcus*. Ahora bien, el papel real de las bacteriocinas sólo se ha comprobado *in vitro*. Los agentes tensoactivos son compuestos anfifílicos que originan una disminución de la tensión superficial, favoreciendo la solubilización de sustancias hidrofóbicas. Se han descrito dos agentes tensoactivos, que inhiben la adhesión de *E. faecalis* y de *E. coli*, pero no la de *C. albicans*. Por otra parte, los agentes tensoactivos solubilizan lípidos, de manera que podrían ser letales para virus envueltos y para *micoplasmas*, los cuales serían especialmente susceptibles al carecer de pared celular (7). Los lactobacilos también participan en la modulación del sistema inmunológico, ya que es capaz de inducir la producción de citocinas, moléculas pro-inflamatorias; regulando las vías de señalización desencadenadas por la unión a los PMAM (patrones moleculares asociados a los microorganismos) a los receptores tipo Toll (44).

#### *Flora vaginal en el embarazo*

Durante el embarazo fisiológico, los niveles más altos de estrógenos inducen no sólo un mejor tropismo epitelial sino también un efecto positivo sobre la actividad lactobacilar y su

proliferación, debido a un aumento de la disponibilidad de glucógeno. Conforme el embarazo avanza, la flora del tracto genital se vuelve progresivamente más benigna, hasta el término. Algunos estudios indican que el elemento que expone el riesgo de parto prematuro parece ser la ausencia de lactobacilos, en lugar de la presencia de otros microorganismos. El equilibrio en la microbiota vaginal es especialmente importante durante el embarazo, pues la infección vaginal se ha asociado en el mecanismo responsable del parto prematuro y complicaciones perinatales (20).

#### *Alteración de la microflora vaginal*

La alteración en la flora vaginal o flora vaginal anormal puede ocurrir debido a la colonización por un organismo que no es parte de la microbiota vaginal normal (por ejemplo, *Streptococcus pneumoniae* o *Listeria monocytogenes*), por el crecimiento excesivo o aumento de la virulencia de un organismo que es parte constitutiva de la flora vaginal normal (por ejemplo *Escherichia coli*) o secundario a una infección de transmisión sexual (por ejemplo tricomoniasis). Por tanto las alteraciones en la flora vaginal no implican necesariamente enfermedad o sintomatología. La enfermedad vaginal será resultado de la interacción entre la virulencia de la flora microbiana, su dominio numérico, y la respuesta inmune innata y adaptativa desencadenada por el hospedero (39).

La flora bacteriana vaginal es predominantemente de tipo lactobacilar (normal); si es anormal, la flora puede ser perturbada por el crecimiento excesivo anaeróbico (vaginosis bacteriana), o por microorganismos aeróbicos tales como *E. coli*, *estreptococos* del grupo B, *enterococos*, etc (vaginitis aeróbica), o pueden ser una mezcla de ambos (flora anormal mixta). Estas condiciones hacen afín la invasión por candidiasis, tricomoniasis pues logran coexistir (8).

Por tanto, las condiciones deficientes en lactobacilos están asociadas con el desarrollo de enfermedades infecciosas o facilitan el contagio de enfermedades de transmisión sexual como la gonorrea, clamidia, sífilis, tricomoniasis, VIH y el VPH (21). Por otro lado, la descarga menstrual o el semen tienen un pH próximo a la neutralidad, circunstancia que dificulta el crecimiento de los lactobacilos, tardando varias horas en recuperar su acidez. Ahora bien, la alcalinización del ambiente vaginal puede no ser la causa, sino la

consecuencia del desarrollo excesivo de algunos patógenos. Por ejemplo, *G. vaginalis* y *T. vaginalis* presentan una potente actividad aminoácido descarboxilasa, por lo que generan aminas biógenas, las cuales originan la elevación del pH, favoreciendo la expansión de dichos organismos y la inhibición de los lactobacilos. La descarboxilación de los aminoácidos genera, además, CO<sub>2</sub>, lo que podría favorecer la sobreinfección por bacterias anaerobias como *Prevotella* y *Peptostreptococcus* (7).

#### *Flora vaginal microbiana alterada y su resultado en el embarazo*

La infección vaginal representa uno de los factores de riesgo más importantes para las complicaciones del embarazo, tales como ruptura prematura de membranas, amenaza de parto prematuro y parto prematuro así como infección perinatal. En cuanto a parto prematuro, la vaginosis bacteriana ocurre hasta en el 20% de las mujeres embarazadas y se ha asociado con el nacimiento pretérmino. Cerca de la mitad de las mujeres con esta infección puede cursar con síntomas leves o asintomática (27). El mecanismo por el cual la VB puede provocar parto prematuro es mediante infección ascendente intrauterina. Por otra parte, VB se diagnostica principalmente en el primer trimestre y la prevalencia disminuye en el segundo y tercer trimestre. Curiosamente, sólo 9,4% de las pacientes embarazadas tiene un diagnóstico positivo para VB, de acuerdo con los criterios de Nugent, en los tres trimestres. Lo que sugiere que algunas VB son autolimitadas sin complicación. Sin embargo, también se sabe que el 20% no progresan a una puntuación de Nugent normal en el tercer trimestre y aproximadamente el 15% permanecieron persistentemente en VB intermedia (20).

El mecanismo por el que la infección intrauterina conduce a trabajo de parto prematuro está relacionado con la activación del sistema inmune innato. Los microorganismos son reconocidos por los receptores de reconocimiento (Toll-like), que a su vez provocan la liberación de quimiocinas inflamatorias y citoquinas. Estas citoquinas, elaboradas en la interface materno-fetal, desencadenan la producción de prostaglandinas en el amnios, corion, decidua y miometrio, lo que lleva a las contracciones uterinas, dilatación cervical, rotura de membranas, contracciones uterinas que facilitan aún más la entrada de bacterias en la cavidad uterina. La infección intraamniótica contribuye al menos a un tercio de la sepsis neonatal de aparición temprana. Incidencia que aumenta con la disminución

de la edad gestacional al momento del parto. Los microorganismos ascienden desde la vagina a través del espacio corioamniótico para tener acceso a la cavidad amniótica y, posteriormente, al feto (11).

#### *Flora vaginal intermedia en el embarazo*

Lo ideal sería que la " flora intermedia " representara un punto de inflexión de un estado normal a la VB, o de VB a la normalidad. En realidad, sin embargo, la mayoría de las mujeres con VB intermedia, así llamada según Nungent no tienen VB ni una flora normal. Está cada vez más claro que este grupo intermedio está vinculado a un rango diferente y por lo general relacionado a complicaciones, incluyendo aborto del segundo trimestre, que la misma VB. El diagnóstico de la flora vaginal intermedia es a base de tinción de Gram; la categoría intermedia se define como la presencia de la reducción de lactobacilos mezclado con otros morfotipos (21).

#### *La vaginosis bacteriana en el embarazo*

Es una enfermedad polimicrobiana cada vez más asociada con secuelas perinatales adversas. Se caracteriza por un cambio en la microflora vaginal en el que los lactobacilos se ven alterados por un crecimiento excesivo de una flora bacteriana anaeróbica. El síntoma más común entre las mujeres con VB es una secreción delgada, gris, no pruriginosa, con un olor a pescado, mientras que a la inspección en la vagina hay ausencia de eritema e inflamación, sin síntomas de ardor, dolor o dispareunia. Los organismos responsables de la infección incluyen: *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, *Bacteroides spp*, *Peptostreptococcus spp*, *Fusobacterium spp*, *Prevotella* (18). La prevalencia de la VB es más alta que la de otras enfermedades infecciosas durante el embarazo (como la bacteriuria asintomática, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis*) y se cuenta con evidencia de un aumento en el riesgo de parto prematuro y rotura prematura de las membranas antes del inicio del trabajo de parto entre mujeres portadoras (58). En la VB hay un ligero aumento de la interleucina 1 y una esperada baja producción de interleucina 8, con poca atracción de células inflamatorias tales como macrófagos y neutrófilos. Los microorganismos implicados en la patogénesis de la VB más comunes e importantes en la infección son *G.*

*vaginalis* y *Mycoplasma*, los cuales poseen la característica única de desarrollar una biopelícula adherente, que persiste después del tratamiento con metronidazol. Los micoplasmas y ureaplasmas son eubacterias; poseen una adhesina de pequeño tamaño que es altamente inmunogénica, implicada en la estimulación de la respuesta inflamatoria (55).

#### *Vaginitis aeróbica en el embarazo*

Donders concentró su atención en las mujeres con flora vaginal anormal con o sin VB concomitante y describe un patrón clínico y microscópico que se ajusta a una nueva condición definida como " vaginitis aeróbica" (VA), mencionando la posibilidad de superposición entre estas dos entidades. En la VA los leucocitos vaginales son generalmente abundantes, y se asocia con una descarga amarilla y dispareunia vaginal. Los hallazgos a la microscopía son disminución de lactobacilos, aumento de leucocitos vaginales con apariencia tóxica, células epiteliales de tipo parabasal y el aumento de pH. La patogénesis de la VA y su producción de inmensas cantidades de citoquinas pro-inflamatorias vaginales, la convierten en un factor para provocar parto prematuro, corioamnionitis y rotura prematura de las membranas. La interleucina-1b aumenta significativamente más en VA (hasta 8 veces superior). En las mujeres con VA, por otra parte, la IL-6 se quintuplicó. La IL-6 es un marcador muy conocido para amnionitis bacteriana y marcador inminente para parto prematuro. La IL-6 e IL-8 se conocen como quimio-atrayentes y están directamente relacionadas con el aumento de la producción de prostaglandinas. Existe una correlación evidente entre VA y *estreptococos* del grupo B, *S. aureus* y *E. coli*. Los estudios han destacado recientemente la posibilidad de vaginitis debido a *estreptococos* del grupo B (24). Dentro de las opciones terapéuticas, un meta-análisis de ensayos clínicos aleatorios mostró que los macrólidos y la clindamicina administrada durante el segundo trimestre se asociaron con una menor tasa de parto prematuro, mientras que el metronidazol solo estaba vinculada a un mayor riesgo de parto prematuro en una población de alto riesgo (45). Otro meta-análisis confirmó que los programas de detección y tratamiento de infecciones en mujeres embarazadas pueden reducir el parto prematuro y prematuros de bajo peso al nacer (54).

### 1.3 *NORMATIVO.*

El modelo de atención obstétrica en México se ha sustentado tanto en manuales de atención, lineamientos, en la NOM-007-SSA2-1993 (que actualmente se encuentra en proceso de revisión y actualización), así como guías clínicas nacionales e internacionales donde se describen acciones y procedimientos para la adecuada atención obstétrica, para obtener un embarazo y un parto saludable y seguro, así como la atención complicaciones y emergencias obstétrica, todo basado en evidencia científica (30).

Con lo anterior y ante lo estipulado en la Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-1993 sobre la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio y del recién nacido y que contiene los criterios y procedimientos para la prestación del servicio, en la sección 5.2. sobre la “Atención del Embarazo”, fracción 5.2.2, menciona: el control prenatal debe estar dirigido a la detección y control de factores de riesgo obstétrico, a la prevención, detección y tratamiento de la anemia, preeclampsia, infecciones cérvicovaginales e infecciones urinarias, complicaciones hemorrágicas del embarazo, retraso del crecimiento intrauterino y otras patologías intercurrentes con el embarazo. La citada Norma hace mención a la detección de las infecciones cervicovaginales; mas sin embargo en su apartado: 5.1.6 “Actividades que se deben realizar durante el control prenatal”, no propone el solicitar cultivo de exudado vaginal, a pesar de la relación de infección vaginal con riesgo obstétrico.

Se cuenta con la Guía de Práctica Clínica para el Control Prenatal con Enfoque de Riesgo, en el cual determina no realizar detección de vaginosis bacteriana asintomática. Recomienda en caso de presentar síntomas de vaginosis bacteriana, corroborar el diagnóstico con exudado y cultivo vaginal y proporcionar tratamiento (34).

La Guía de Práctica Clínica para el Diagnóstico y Tratamiento de Vaginitis Infecciosa en Mujeres en Edad Reproductiva en el Primer Nivel de Atención, no concreta medidas diagnosticas específicas durante la gestación, solo hace referencia al tratamiento durante en el embarazo (33).

Cabe mencionar que dentro del Hospital de la Mujer de Aguascalientes no se cuenta con un lineamiento específico o flujograma sobre el abordaje de la infección vaginal en la gestante.

Por lo que, la Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012 establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos, y nos habla sobre la investigación científica, clínica, biomédica, tecnológica y biopsicosocial en el ámbito de la salud, lo que nos da la libertad de realizar protocolos de investigación en nuestras propias Instituciones de Salud.

#### *1.4 CONCEPTUAL.*

##### *Perfil*

El término perfil generalmente se utiliza y aplica para nombrar al grupo de atributos particulares de alguien o algo. Por lo tanto designa aquel conjunto de rasgos particulares que caracterizan a alguien o algo (50).

##### *Microbiota*

Término que hace alusión a la "flora microbiana normal"; denotando a la población de microorganismos que habitan en la piel y mucosas de los seres humanos (también conocida como microbiota normal). El papel de la "microbiota normal" (figura 1), es proporcionar la primera línea de defensa contra los patógenos microbianos y contribuir en la maduración del sistema inmune (12).

##### *Perfil de la microbiota vaginal*

Destinamos este término, con la finalidad de representar la variación en cuanto a la presencia de microorganismos aerobios como anaerobios, así como de los lactobacilos, encontrados al examen microscópico de una muestra de exudado vaginal, en un frotis en montaje húmedo así como bajo tinción Gram.

Microbiota vaginal que se encuentran en mujeres sanas	
Cocos y bacilos grampositivos anaerobios aerotolerantes	<i>Lactobacillus</i> <i>Streptococcus</i>
Cocos y bacilos grampositivos anaerobios facultativos	<i>Corynebacterium</i> <i>Gardnerella</i> <i>Staphylococcus</i> (fundamentalmente <i>S. epidermidis</i> )
Bacilos gramnegativos anaerobios facultativos	<i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> <i>Proteus</i>
Micoplasmas	<i>Mycoplasma</i> (sobre todo <i>M. hominis</i> ) <i>Ureaplasma</i>
Bacilos y cocos grampositivos anaerobios estrictos	<i>Atopobium</i> <i>Peptococcus</i> <i>Peptostreptococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Bifidobacterium</i> <i>Propionibacterium</i> <i>Eubacterium</i>
Bacilos gramnegativos anaerobios estrictos	<i>Bacteroides</i> <i>Prevotella</i>

Figura 1. Microbiota vaginal normal (Microbiol Clin. 2008)

*Flora lactobacilar*

Se refiere a los morfotipos predominantemente lactobacilos en la microbiota. Se evalúa preferentemente en montaje con tinción de Gram debido a mayor precisión y se clasifica como se aprecia en la Tabla 1. La flora normal o grado I, corresponde al predominio de lactobacilos, con escasas bacterias cocoides presentes. La flora intermedia o grado II, corresponde a una disminución de la flora de lactobacilos, mezclada con otras bacterias. Este grupo se subdivide en poco alterada; donde predomina la flora lactobacilar normal (IIa) y moderadamente alterada, encontrando flora lactobacilar deficiente (IIb). Por último, la severamente anormal o grado III, la flora se compone de otras bacterias, sin lactobacilos presentes (27).

Tabla 1.

Grado lactobacilar (GLB)	
<b>GLB I:</b>	Numerosos lactobacilos pleomórficos, sin otras bacterias
<b>GLB IIa:</b>	Flora mixta pero predominantemente lactobacilos
<b>GLB IIb:</b>	Flora mixta pero con disminución de lactobacilos con aumento en la cantidad de otras bacterias
<b>GLB III:</b>	Lactobacilos severamente disminuidos o ausentes, debido al sobrecrecimiento de otras bacterias

Fuente: Donders et al. 2011. BJOG

*Vaginitis aerobia*

Se define como una alteración de la flora lactobacilar, acompañado por signos de inflamación y la presencia de una microflora predominantemente aeróbica, compuesta de comensales o patógenos entéricos. Se caracteriza por una microflora vaginal anormal acompañado de una reacción inflamatoria localizada y a un aumento de la respuesta inmune (24). El diagnóstico de vaginitis aeróbica mediante los criterios de Donders (Tabla 2) y se basa en cinco criterios microscópicos, con una puntuación máxima de 10, el resultado de la puntuación puede ser: flora normal, VA leve, moderada o grave.

<b>Tabla 2.</b>					
<b>Criterios de Donders</b>					
<b>Puntuación microscópica para diagnóstico de Vaginitis Aeróbica (microscopio de contraste, con campo de aumento 400 x)</b>					
<b>Puntuación</b>	<b>GLB</b>	<b>No.de Leucocitos</b>	<b>Proporción de leucocitos tóxicos</b>	<b>Flora vaginal habitual</b>	<b>Proporción de células parabasales</b>
<b>0</b>	I II a	< o igual 10	Ninguno o esporádicos	Sin hallazgo de flora o hay datos de citólisis	Ninguna ó < 1%
<b>1</b>	II b	> 10 y < 10 leucocitos por célula epitelial	< o igual al 50% de leucocitos totales	Pequeños bacilos coliformes	< o igual a 10%
<b>2</b>	III	> 10 leucocitos por célula epitelial	> al 50% de leucocitos totales	Cocos aislados o en cadena	> 10 %

**Fuente: Donders et al. 2011. BJOG**

El primer criterio para la clasificación de la vaginitis aerobia es determinar el grado lactobacilar (GLB). El segundo criterio es determinar la proporción de leucocitos. El número de leucocitos se evalúa con el campo de aumento 400x. Si hay más de diez leucocitos presentes por campo, o si el número medio de leucocitos que rodea a cada célula epitelial es menor de 10, se dará 1 punto. Si hay una media de más de diez leucocitos por célula epitelial se puntuara con 2. El tercer criterio es la evaluación de la actividad lisosomal de los leucocitos. El término de leucocitos tóxicos describe a los

leucocitos redondos que contienen los lisosomas conglomerados. Si la proporción de leucocitos tóxicos en comparación con el número total de leucocitos es <50%, se da 1 punto; si hay más de 50%, se dan 2 puntos. El cuarto criterio es determinar la flora habitual, se le asigna una puntuación de 0; si la flora de fondo es la habitual o solo muestra escombros de células epiteliales o muestra núcleos desnudos de las células lisadas (citólisis), se dará una puntuación de 1, si los morfotipos lactobacilares son muy gruesos o se asemejan a pequeños bacilos (como coliformes o especies de *Klebsiella*); y una puntuación de 2 si predominan cocos aislados o encadenados. Finalmente, las la proporción de células epiteliales son examinadas. Si se visualizan epitelocitos superficiales e intermedias normales se de una puntuación de 0, pero la presencia de células epiteliales parabasales son anormales. Si entre el 1 y el 10% de los epitelocitos son células parabasales (células pequeñas, redondeadas, con un gran núcleo celular y el citoplasma oscuro) se da 1 punto. Pero si más del 10% son células parabasales, se asignan 2 puntos. Observar células parabasales indica la presencia de las formas moderadas o graves de la VA o vaginitis inflamatoria descamativa (24). Se clasificando la Vaginitis aeróbica como se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3.**

<b>Puntuación para diagnóstico de Vaginitis aeróbica (VA)</b>	
<b>&lt; 3</b>	Sin signos de VA
<b>3 a 4</b>	VA leve
<b>5 a 6</b>	VA moderada
<b>&gt; 6</b>	VA severa (este último grupo se asemeja a la “Vaginitis Inflamatoria Descamativa”)

**Fuente: Donders et al. 2011. BJOG**

*Vaginosis bacteriana*

Se define como un trastorno de la flora vaginal, polimicrobiana, caracterizada por una disminución en la cantidad de lactobacilos y un aumento del número de otros organismos en particular anaerobios como *Mycoplasma hominis*, *Gardnerella vaginalis* y *Mobiluncus especies*. El sistema de Nugent clasifica la microbiota vaginal en normal, intermedia y VB, para lo cual considera y cuantifica los lactobacilos y otros dos morfotipos: como se muestra en la tabla 4. (18).

**Tabla 4.**

Puntuación Nugent	Numero de morfotipos bacterianos por campo de inmersión		
	<i>Lactobacillus</i>	<i>Gardnerella –Prevotella</i>	<i>Mobiluncus</i>
0	>30	0	0
1	5-30	<1	1-4
2	1-4	1-4	>5
3	<1	5-30	
4	0	>30	
<b>Puntaje 0-3</b>	Flora Normal		
<b>Puntaje 4-6</b>	Flora Intermedia		
<b>Puntaje 7-10</b>	Vaginosis Bacteriana (VB)		
<b>Fuente: Martínez et al. 2011. Rev Med Chile</b>			

*Amenaza de parto pretérmino*

La amenaza de parto pretérmino se define clásicamente como la presencia de dinámica uterina regular asociada a modificaciones cervicales progresivas desde las 22,0 hasta las 36,6 semanas de gestación. No obstante, estos parámetros presentan una baja sensibilidad y especificidad para predecir el parto pretérmino. En la mayoría de casos en los que la paciente ingresa con el diagnóstico clásico de amenaza de parto pretérmino, el riesgo real de desencadenarse el parto es muy bajo (20- 30%) (13).

*Rotura prematura de membranas*

Se entiende por rotura prematura de membranas (RPM) la rotura de las membranas ovulares antes del inicio del parto, con la consiguiente salida de líquido amniótico y comunicación de la cavidad amniótica con el endocérvix y la vagina. La mayoría de las RPM son a término y el parto se desencadenará, incluso en condiciones cervicales desfavorables, de forma espontánea en las siguientes 24 horas (60%-95%). Más infrecuente es la RPM pretérmino (3-4% de las gestaciones únicas). En estos casos, la infección intraamniótica subclínica aparece en un 45% de las mujeres, por lo que la identificación de la infección intraamniótica mediante una amniocentesis es de importancia, a pesar de que aún no se ha demostrado el beneficio de esta estrategia, la amniocentesis podría predecir las roturas prematura de membranas que debutan antes de las 32.0 semanas. La ruptura prematura de membranas es la principal causa

identificable de prematuridad, responsable de alrededor del 20% de las muertes perinatales en Estados Unidos (14).

#### *Corioamnionitis*

Se define como corioamnionitis clínica a la inflamación aguda de las membranas placentarias (amnios y corion), de origen infeccioso que se acompaña de la infección del contenido amniótico, esto es, feto, cordón y líquido amniótico. Es causa importante de morbilidad materna y fetal, incluyendo parto prematuro y la sepsis neonatal. Clásicamente el diagnóstico de corioamnionitis es clínico, existe una repercusión materna y se basa, según los criterios expuestos por Gibbs en 1982, en la asociación de: fiebre materna > 37.8° C, dos o más de los siguientes criterios clínicos menores: taquicardia materna (>100 latidos/minuto), taquicardia fetal (>160 latidos/minuto), leucocitosis materna (>15000 leucocitos/mm<sup>3</sup>), irritabilidad uterina (definida como dolor a la palpación abdominal y/o a la dinámica uterina y leucorrea vaginal maloliente (15). La corioamnionitis clínica complica entre el 2 y el 11 % de todos los embarazos y en aproximadamente el 5 % de los casos el feto está infectado; es mucho más común en los partos prematuros. La incidencia de corioamnionitis histológica subclínica es mucho más común en embarazos pretérmino: 40 % entre las 24 y 28 semanas, 30 % entre las 28 y 32 semanas, 20 % entre las 30 y 36 semanas y 10 % en embarazos mayores de 37 semanas; la corioamnionitis, aparece aproximadamente en 1% de todas las gestaciones; se presenta de un 5 al 10 % en pacientes con rotura prematura de membranas de término, y en un 44% de los casos precede a la rotura de membranas (29).

#### *Sepsis neonatal*

Síndrome clínico caracterizado por signos y síntomas de infección sistémica, que se confirma al aislarse en hemocultivos o cultivo de líquido cefalorraquídeo, bacterias, hongos o virus y que se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida (10). Se reporta una frecuencia que varía entre 3.3 y 15.7% de los niños nacidos a término, en los que RPM ha sido el único factor de riesgo que se ha encontrado asociado a la infección. Si bien el empleo profiláctico de antimicrobianos cuando ocurre la RPM disminuye la frecuencia de sepsis en las etapas pre y transparto, aún persiste el riesgo de sepsis en 5 a 8% de los casos (47).

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Durante décadas, el objetivo de reducir la tasa del parto prematuro ha presentado un desafío. Su prevención sigue siendo un reto importante en obstetricia. En los últimos años la infección ascendente es considerada como una posible causa de parto prematuro, rotura prematura de membranas y de infección intrauterina. Actualmente los estudios sugieren que la presencia de flora vaginal anormal en el embarazo temprano aumenta el riesgo de desenlace adverso del embarazo, como lo hace la presencia del sobrecrecimiento de bacterias anaerobias, como en la vaginosis bacteriana (VB), o como el crecimiento excesivo aeróbico, por ejemplo en vaginitis aerobia (VA). No obstante son pocas las intervenciones realizadas para determinar este factor de riesgo en la población gestante que acude al Hospital de la Mujer de Aguascalientes; a pesar de que durante el año 2014 se atendieron un total de 10299 nacimientos y del total de estos, 980 fueron pretérmino, con una prevalencia de 9.5%. El reporte en el 2012, a través del protocolo de estudio realizado por la Dra. Robles, presentó una prevalencia de 28% para la cervicovaginitis como factor causal desencadenante del parto pretérmino.

Conocer el perfil de la microbiota vaginal de la población gestante afluente al Hospital de la Mujer, permitirá en primera instancia identificar si un perfil alterado determina riesgo durante el embarazo, y en un segundo momento la identificación de un perfil patológico en la microbiota vaginal ofrecerá la posibilidad de establecer acciones para un diagnóstico oportuno de la infección vaginal.

Palabras clave:

Microbiota vaginal, puntuación de Nugent, criterios de Donders, vaginosis bacteriana, vaginitis aerobica, resultado obstétrico adverso.

## 2.2 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la prevalencia de la microbiota vaginal anormal en gestantes del tercer trimestre del Hospital de Mujer de Aguascalientes e impacto en el resultado obstétrico y neonatal adverso?

## 2.3 OBJETIVOS.

### OBJETIVO GENERAL.

- ❖ Determinar la prevalencia de la microbiota vaginal anormal en gestantes del tercer trimestre del Hospital de Mujer de Aguascalientes de quienes se solicitó estudio bacteriológico de exudado vaginal por el departamento de Microbiología.

### OBJETIVO ESPECÍFICO.

- ❖ Determinar la prevalencia de Vaginitis Aeróbica en las gestantes del tercer trimestre participantes.
- ❖ Determinar la prevalencia de Vaginosis Bacteriana en las gestantes del tercer trimestre participantes.
- ❖ Determinar la prevalencia de grado lactobacilar normal en las gestantes del tercer trimestre participantes.
- ❖ Identificar perfil de la microflora mixta (aerobia como anaerobia) en las gestantes del tercer trimestre participantes.
- ❖ Evaluar el impacto de la presencia de una microflora aerobia tanto en el resultado obstétrico y neonatal adverso así como en el resultado positivo a patógenos oportunistas en el estudio bacteriológico del exudado vaginal.
- ❖ Evaluar el impacto de la presencia de una microflora anaerobia tanto en el resultado obstétrico y neonatal adverso así como en el resultado positivo a patógenos oportunistas en el estudio bacteriológico del exudado vaginal.

- ❖ Evaluar el impacto de un perfil mixto (microflora aerobia y anaerobia) tanto en el resultado obstétrico y neonatal adverso así como en el resultado positivo a patógenos oportunistas en el estudio bacteriológico del exudado vaginal.
- ❖ Evaluar el impacto de un resultado bacteriológico positivo en el exudado vaginal en el resultado obstétrico y neonatal adverso.

#### *2.4 HIPÓTESIS.*

##### *HIPÓTESIS ALTERNA (HA)*

Existe una prevalencia de microbiota anormal mayor a la reportada en la literatura científica mundial en gestantes del tercer trimestre del Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

##### *HIPÓTESIS NULA. (HO)*

No existe una prevalencia de microbiota anormal mayor a la reportada en la literatura científica mundial en gestantes del tercer trimestre del Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

#### *2.5 MATERIAL, PACIENTES Y MÉTODOS.*

##### *TIPO, DISEÑO Y CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.*

Estudio observacional, descriptivo y transversal.

##### *POBLACIÓN EN ESTUDIO.*

Gestantes cursando el tercer trimestre de embarazo a quienes se haya solicitado estudio bacteriológico de exudado vaginal en el Departamento de Microbiología del Hospital de la Mujer de Aguascalientes, durante los meses de Julio y Agosto del 2015.

2.6 OPERALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.

**Tabla 5.**

Variable	Definición Operacional	Tipo y característica
<b>Características generales de la población estudiada</b>		
<b>EDAD</b> Cuantitativa Discreta	Tiempo que ha vivido una persona desde que nació en años.	Número
<b>ESTADO CIVIL</b> Cualitativa Nominal	Situación civil de la paciente.	Soltera Casada Unión libre Divorciada Viuda
<b>ESCOLARIDAD</b> Cualitativa Nominal	Periodo de tiempo durante el cual se asiste a la escuela.	Analfabeta Primaria Secundaria Preparatoria Licenciatura
<b>GESTA</b> Cualitativa Nominal	Número de embarazos presentados durante la etapa reproductiva	Primigesta Multigesta
<b>Evaluación del resultado obstétrico y neonatal adverso</b>		
<b>RESULTADO OBSTETRICO Y NEONATAL ADVERSO</b> Cualitativa Nominal	Todo aquel suceso o evento que llegue a ser desfavorable para en el embarazo y para el recién nacido dentro de sus primeros 28 días de vida. La presencia de: Amenaza de parto pretérmino Rotura prematura de membranas Corioamnionitis Sepsis neonatal	Presente Ausente
<b>AMENAZA DE PARTO PRETERMINO</b> Cualitativa Nominal	Presencia de dinámica uterina regular asociada a modificaciones cervicales progresivas desde las 22,0 hasta las 36,6 semanas de gestación	Presente Ausente
<b>ROTURA PREMATURA DE MEMBRANAS</b> Cualitativa Nominal	Perdida de la solución de continuidad de las membranas ovulares antes del inicio del parto, con la consiguiente salida de líquido amniótico y comunicación de la cavidad amniótica con el endocérvix y la vagina	Presente Ausente

CORIOAMNIOITIS Cualitativa Nominal	Invasión inespecífica microbiana del líquido amniótico, cavidad amniótica o membranas amnióticas por organismos que colonizan el tracto genital inferior.	Presente Ausente
SEPSIS NEONATAL Cualitativa Nominal	Síndrome clínico caracterizado por signos y síntomas de infección sistémica, que se confirma al aislarse en hemocultivos o cultivo de líquido cefalorraquídeo (LCR), bacterias, hongos o virus y que se manifiesta dentro de los primeros 28 días de vida	Presente Ausente
ESTUDIO BACTERIOLOGICO DE EXUDADO VAGINAL Cualitativa Nominal	Análisis microbiológico de una muestra de secreción tomada de la mucosa vaginal. Se evaluó mediante:  -Frotis de exudado en montaje húmedo (aplicación de los criterios de Donders) y detección de tricomonas. -Frotis de exudado bajo tinción Gram (aplicación de los criterios de Nugent). -Policultivos para <i>G. vaginalis</i> , especies de <i>candida</i> , <i>S. agalacteeae</i> , <i>N. gonorrhoeae</i> . -PCR para detección de <i>C. trachomatis</i> .	Positivo Negativo
MICROBIOTA VAGINAL AEROBIA Cualitativa Ordinal	Flora microbiológica presente en la mucosa vaginal, cuyo desarrollo se ve favorecido en un ambiente con presencia de oxígeno. Se calificó empleando los criterios de Donders	Sin VA o Normal VA Leve VA Moderada VA Severa
MICROBIOTA VAGINAL ANAEROBIA Cualitativa Ordinal	Flora microbiológica presente en la mucosa vaginal, cuyo desarrollo se ve favorecida en un ambiente en ausencia o presencia parcial de oxígeno. Se calificó aplicando los criterios de Nugent	Normal Intermedia VB
MICROBIOTA VAGINAL LACTOBACILAR Cualitativa Ordinal	Flora caracterizada por la presencia del género lactobacilos, colonizando normalmente la mucosa vaginal. Se calificó aplicando los criterios para determinar el grado lactobacilar	GLB I GLB IIa GLB IIb GLB III
MICROBIOTA VAGINAL AEROBIA/ANAEROBIA Cualitativa Ordinal	Flora en la mucosa vaginal donde coexisten tanto microorganismos aerobios como anaerobios. Se calificó aplicando tanto los criterios de Nugent y Donders, Se tipifico según	Normal Transitoria o Intermedia Mixta VB

	nuestro criterio.	VA
RIESGO MATERNO PARA RESULTADO ADVERSO OBSTETRICO  Cualitativa Nominal	Rasgo o característica de la gestante que aumente la probabilidad de suceso desfavorable para el embarazo.	Presente Ausente
Fuente: Hoja de captura de resultados		

**2.7. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.**

**TAMAÑO DE LA MUESTRA**

Se realizará muestreo por conveniencia, en donde se toma a cuenta un tamaño poblacional de 700 pacientes a las que se solicita estudio bacteriológico de exudado vaginal en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes, y teniendo una prevalencia reportada en la literatura de microbiota alterada, diagnostica para vaginitis aeróbica del 8% detectada evaluación por frotis de exudado vaginal, con un nivel de confianza del 90% y un grado de error de 0.05 ( $\alpha = 0.05$  y IC 90%), se determinó una tamaño de la muestra de 35 pacientes. Se utilizó la fórmula modificada para prevalencia de poblaciones finitas en el programa estadístico EpiInfo versión 6.

**CRITERIOS DE SELECCIÓN**

Criterios de inclusión:

- Pacientes cursando con embarazo del tercer trimestre por amenorrea a quienes se solicitó realizar estudio bacteriológico de exudado vaginal por el Departamento de Microbiología del Hospital de la Mujer de Aguascalientes. Tomando en cuenta solo aquellas gestantes en las que su FUM este comprendida entre el 25-09-2015 y el 15-12-2015.

Criterios de exclusión.

- Gestante que refiera diagnóstico de placenta previa total.
- Paciente que no acepte participar en el estudio previa lectura del consentimiento informado.

- TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS
- Gestante en la que se evidenció sangrado transvaginal durante la toma del exudado vaginal.
  - Gestante en tratamiento antibiótico vía oral reciente; antes de 7 días a la toma de la muestra.
  - Gestante que este bajo manejo terapéutico vía vaginal (antimicótico, antibiótico o lubricante) con ultima aplicación antes de 7 días a la toma de la muestra.
  - Gestantes sin abstinencia sexual, 3 días previos a la toma de la muestra.

#### Criterios de eliminación.

- Paciente que no llevó a cabo la resolución del embarazo en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes.
- Pacientes con diagnóstico de óbito durante el transcurso del embarazo.
- Gestantes que en el estudio del frotis del exudado vaginal tenga una puntuación incompleta a la evaluación de los criterios de Donders o de Nugent.

## 2.8. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y LOGÍSTICA.

### *INSTRUMENTO*

#### “Hoja de captura de resultados”

Instrumento que consta de 6 apartados, el primero destinado a la identificación de la muestra del exudado vaginal, la cual cuenta con los ítems: número de muestra, folio y fecha en la que se toma. El segundo apartado designado a la identificación de la gestante participante, donde se distribuyen los ítems: nombre, edad, escolaridad, estado civil y número de expediente. El tercer apartado destinado a los datos ginecoobstetricos, con los ítems: fecha de última menstruación (FUM) y gestas. El cuarto apartado corresponde al destinado al estudio del frotis del exudado vaginal de la participante, desglosado de tal manera que facilite la captura de los criterios de Donders y Nugent observados; destinando una sección para la puntuación de Donders, el cual consta de 5 ítems: grado lactobacilar, número de leucocitos, proporción de leucocitos tóxicos, proporción de células parabasales y tipo de microorganismos en la flora vaginal, cada ítem con su correspondiente puntuación según a lo estipulado por los criterios de Donders. La sección para la puntuación Nugent consta de 3 ítems: número de bacilos largos Gram positivos,

numero de bacilos pequeños Gram negativos y bacilos Gram variables y número de bacilos curvos Gram variables, cada ítem con su correspondiente puntuación según a lo estipulado por los criterios de Nugent. El quinto apartado designado a la identificación de alguna especie bacteria, el cual consta de 3 secciones según el medio de detección que se utilizó para el estudio bacteriológico (cultivo, observación bajo microscopía y PCR) la cual valora 7 ítems: *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Candida krusey*, *Trichomonas vaginalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Candida albicans* y *Neisseria gonorrhoeae*.

#### LOGÍSTICA

Se documentó a través de base de datos médicas electrónicas, se sustenta el planteamiento del problema y se presenta a Comité de Investigación del Hospital de la Mujer de Aguascalientes. Una vez aprobado, se capacitó al personal del departamento de Microbiología con bibliografía reciente en relación a la evaluación del frotis de exudado vaginal y la aplicación de los criterios de Nugent y Donders. Una vez concluido el adiestramiento, durante julio y agosto del 2015 se captaron aquellas gestantes que cumplieron con los criterios de inclusión; se les invita a participar en el estudio, de aceptar, se recaba su firma de conformidad en la “Carta de Consentimiento Informado” y se da inició al llenado de la “Hoja de captura de resultados” y a la toma de la muestra de exudado vaginal. En la toma del exudado vaginal se utilizó un espéculo vaginal bivalvo esterilizado, el cual se introduce en canal vaginal sin lubricante, se toman 4 muestras de exudado vaginal del fondo de saco posterior mediante la introducción continua de 4 hisopos. El primer hisopo se coloca en medio de transporte Stuart para posterior cultivo en agar sangre, agar chocolate, agar Thayer Martín, agar Casman y CHROMagar candida. El segundo hisopo se coloca en el kit PCR BD ProbeTEc. El tercer hisopo se utiliza para el exámen en fresco y para el examen bajo tinción Gram, extendiendo la muestra en dos portaobjetos los cuales se identifican. El cuarto hisopo se utiliza para realizar la prueba con KOH. Con las técnicas protocolizadas del Departamento de Microbiología del Hospital de la Mujer, el examen en fresco del exudado vaginal se llevó a cabo después de la obtención de la muestra, la cual se extendió en un portaobjetos y posteriormente se depositó una gota de solución salina estéril sobre un portaobjetos (a 37°C o temperatura ambiente), mezclándolo con solución salina. Se coloca sobre la preparación un cubreobjetos. Para visualizarlo al microscopio con los objetivos 10x y 40x.

Para el exámen del exudado vaginal bajo tinción Gram, una vez que se tomó la muestra, se extendió sobre un portaobjetos, y se dejó secar a temperatura ambiente, para posterior fijación de la muestra con calor pasando el portaobjetos por encima de la llama del mechero durante unos segundos. Después se cubre completamente la preparación con el reactivo llamado cristal violeta y se deja actuar durante un minuto; se lava con agua, se continúa por colocar en la preparación el reactivo lugol y se deja actuar durante 1 minuto, y se lava con agua. Posteriormente se decolora la preparación con alcohol-acetona durante unos segundos 15-20 sg (las bacterias Gram positivas quedan teñidas de azul, las Gram negativas se decoloran). Se lava con agua; se cubre la preparación con safranina o fucsina diluida durante 1 minuto, se lava con agua (las bacteria Gram negativas quedan teñidas de rojo y las Gram positivas permanecen azules). Se deja secar la preparación en posición vertical. Posteriormente se visualizó al microscopio con objetivo 100x y aceite de inmersión. Los hallazgos que se observan a la microscopia de ambos frotis del exudado se identifican en el correspondiente ítem de la hoja de captura de resultados. Posterior a 72 hrs de incubación de los cultivos en los distintos agares, se reporta el crecimiento positivo de las especies bacterianas en el correspondiente apartado de la hoja de captura de resultados. En una segunda etapa, una vez concluida la toma de muestras, el 5 de Octubre del 2015 se recaban las hojas de captura de resultados, para su análisis y realizar la correspondiente tipificación del tipo de microflora vaginal detectada en cada paciente aplicando los criterios de Donders, Nugent y el propuesto para determinar el perfil aerobio/anaerobio, ésto; mediante la asociación de los criterios Donders-Nugent como lo muestra la tabla 6.

**Tabla 6.**

Propuesta de tipificación utilizando criterios Donders/Nugent

Criterios de Donders		Criterios de Nugent		Perfil de Microbiota vaginal	
Sin VA	+	Normal	=	Normal	Microbiota Normal
Sin VA		Intermedio		Transitorio o Intermedio	Microbiota Alterada
VA Leve		Normal		Mixto o Aerobio/Anaerobio	
VA Moderada		Intermedio		VB	
Sin VA		VB			
VA Leve		VB			
VA Moderada		VB		VA	
VA severa		Normal			
VA severa		Intermedio			

Fuente: Hoja de captura de resultados

Se determinan así 5 tipos de perfiles: normal, transitorio, mixto, VB y VA. Posterior a realizar la tipificación de la flora de cada participante, se hace el vaciamiento de la información una hoja de cálculo en Excel. En una tercera etapa, el 5 de diciembre del 2015 se acude al Departamento de Archivo del Hospital de la Mujer y se solicitó los expedientes de las pacientes participantes, de donde se buscó en las notas medicas los diagnósticos de APP, RPM, corioamnionitis y sepsis neonatal; recolectando los datos en una hoja de cálculo en Excel. Se crea una cédula de recolección de datos para su posterior análisis estadístico, una vez contando con ello se obtuvo los resultados, discusiones y conclusiones para su difusión mediante la tesis para la obtención del grado de Especialidad en Ginecología y Obstetricia.

#### *PROCESO DE INFORMACIÓN Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.*

Una vez recolectada la información de las hojas de captura de resultados se procede a vaciar en una hoja de cálculo de Excel para su posterior análisis en programa SPSS Versión 20.0

#### *CONSIDERACIONES ÉTICAS*

En congruencia con la declaración de la 18° Asociación Médica Mundial realizada en Helsinki, Finlandia, en 1964, mejor conocida como Declaración de Helsinki, en la cual se establecen los principios éticos para la investigación médica en humanos, incluida la investigación en material humano y de información, se solicita el consentimiento informado de los participantes en el proyecto de investigación. Se presenta y se autoriza llevar a cabo el estudio por el Comité de Ética del Hospital de la Mujer, el cual verifica que la información recabada de todas las pacientes será confidencial.

En caso de que la participante sea menor de edad, se contará con la firma de alguno de los padres o tutor responsable, conforme a lo establecido al artículo 43 de la Ley General de Salud, en su reglamento en materia de Investigación para la Salud, en su última actualización en el 2015. El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud considera mejorar las acciones encaminadas a proteger, promover y restaurar la salud del individuo.

*RECURSOS PARA EL ESTUDIO*

Recursos Humanos

El personal del Departamento de Microbiología, personal del Departamento de Archivo Clínico y del Departamento de Estadística del Hospital de la Mujer de Aguascalientes.

Recursos Materiales

Para la toma de las muestras se contó con las instalaciones y del insumo disponible del Departamento de Microbiología del Hospital de la Mujer. Para la captura de resultados y la recolección de la información: Lap top, hojas blancas, copias de la hoja de captura de resultados y consentimiento informado, impresora, grapadora, lápiz y marcatextos.

Recursos Financieros

No se requirió financiamiento externo.

**3. RESULTADOS**

Características de la población: de las 35 gestantes que fueron incluidas al estudio, ninguna de ellas cumplió con algún criterio de eliminación. La mediana de edad que se presentó fue de 22 años con rango entre los 15 y 40 años. Un 48.6% manifestó mantener como estado civil la unión libre. El nivel educativo en el 54.3% de la población estudiada es de secundaria. Se observó una distribución homogénea entre primigesta y multigesta, del 48.6 % y 51.4% respectivamente.

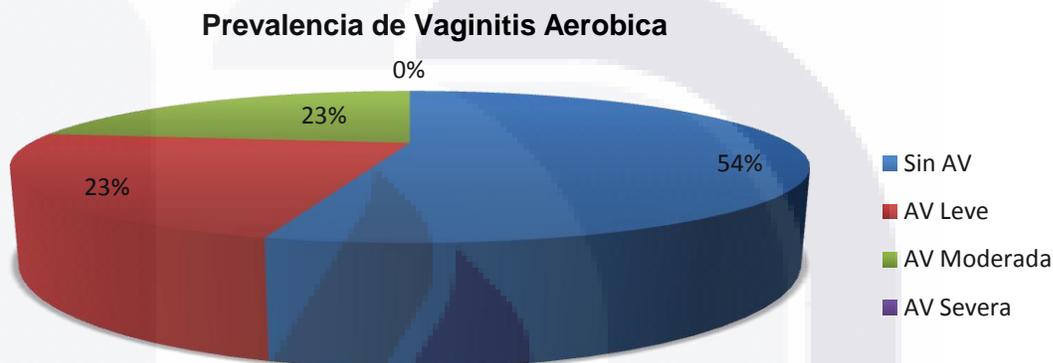
**Tabla 7.**

Microbiota Vaginal Aerobia		
Tipo	Frecuencia	Porcentaje
Sin VA	19	54.3
VA leve	8	22.9
VA moderada	8	22.9
VA severa	0	0
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

Mediante la aplicación de los criterios de Donders se estableció la microbiota aeróbica vaginal de las 35 gestantes. En la tabla 7 se observa que 19 gestantes clasificaron como microbiota normal o sin vaginitis aeróbica (puntuación Donders menor a 3), 8 casos de vaginitis aeróbica leve con una puntuación de 3 a 4 y 8 gestantes cumpliendo criterio para vaginitis aeróbica moderada con una puntuación de 5 a 6. No se reportaron casos de vaginitis aeróbica severa.

**Figura 2.**



Fuente: Hoja de captura de resultados

Se estimó una prevalencia para vaginitis aeróbica de 45.8%. La vaginitis aerobia leve y moderada se presentaron en igual magnitud (22.9 %).La prevalencia de microbiota normal fue de 54.3%.

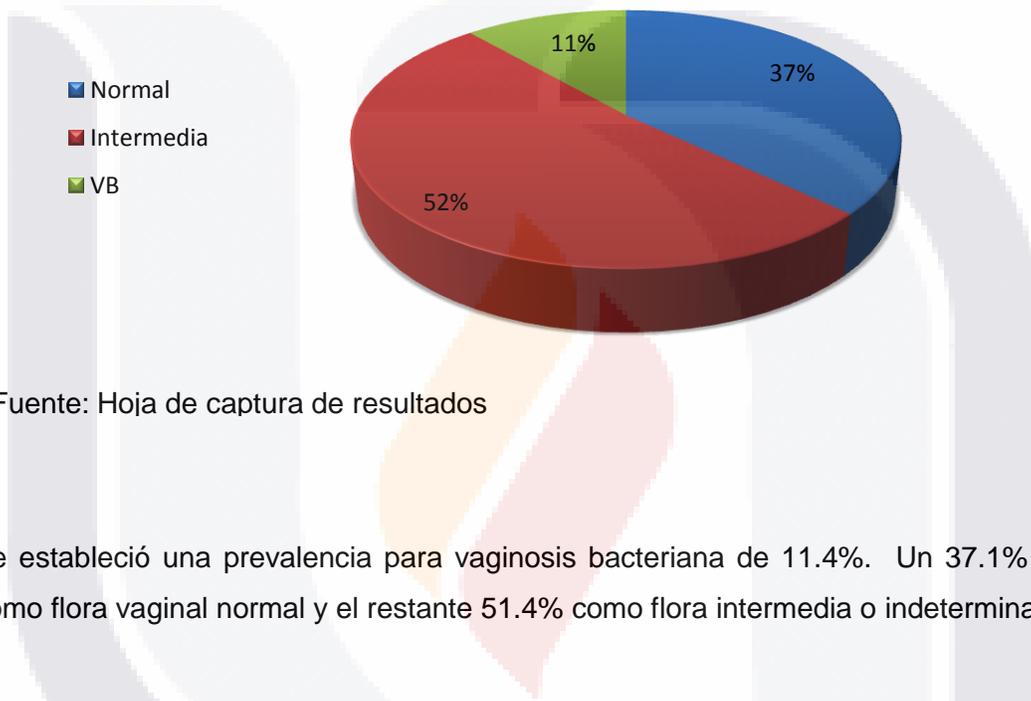
**Tabla 8.**

Microbiota Vaginal Anaerobia		
Tipo	Frecuencia	Porcentaje
Normal	13	37.1
Intermedia	18	51.4
VB	4	11.4
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

En cambio al determinar el tipo de microbiota anaeróbica mediante la puntuación de Nugent y como se muestra en la tabla 8; se tuvieron 13 pacientes con puntuación para una flora normal de 0 a 3 puntos, 18 clasificó como flora intermedia con una puntuación Nugent de 4 a 6 puntos. Cuatro gestantes con una puntuación Nugent de 7 a 10 puntos concluyente a vaginosis bacteriana.

**Figura 3. Prevalencia de Vaginosis Bacteriana**



Fuente: Hoja de captura de resultados

Se estableció una prevalencia para vaginosis bacteriana de 11.4%. Un 37.1% clasificó como flora vaginal normal y el restante 51.4% como flora intermedia o indeterminada.

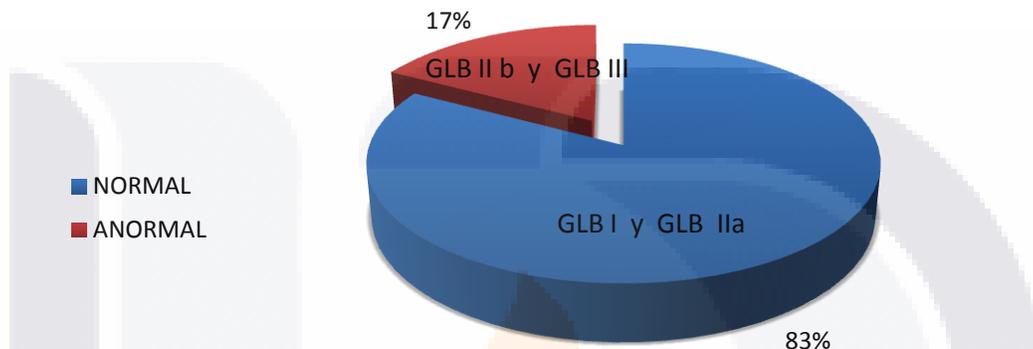
**Tabla 9.**

Microbiota Vaginal Lactobacilar		
Grado Lactobacilar	Frecuencia	Porcentaje
GLB I	9	25.7
GLB IIa	20	57.1
GLB IIb	6	17.1
GLB III	0	0
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

La tabla 9, muestra que de las 35 gestantes: 9 se clasificaron como grado lactobacilar tipo I, se catalogó a 20 gestantes como grado lactobacilar IIa y 6 gestantes con un grado lactobacilar IIb. Sin presentarse casos con un grado lactobacilar ausente o III.

**Figura 4. Prevalencia de la microbiota vaginal normal**



Fuente: Hoja de captura de resultados

La microbiota vaginal normal estimada con los grados lactobacilar I y IIa, tuvo una prevalencia del 82.8% en las gestantes estudiadas. Un 17.1% de las pacientes mostró una flora vaginal anormal, al presentar el grado lactobacilar IIb.

Se determinó el perfil de la microbiota vaginal aplicando ambos criterios: Donders y Nugent y se valoró la presencia de microflora aerobia/anaerobia de las gestantes.

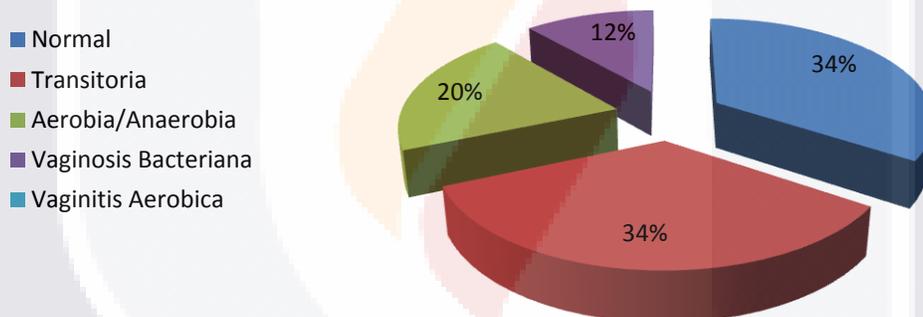
**Tabla 10.**

Perfil de Microbiota Vaginal		
Tipo	Frecuencia	Porcentaje
Normal	12	34.2
Transitoria	12	34.2
Aerobia/Anaerobia	7	20.0
VB	4	11.4
VA	0	0
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

Se observó cómo lo representa la tabla 10 que 12 de las 35 gestantes clasificaron con un perfil normal al mostrar una asociación en los criterios Donders-Nugent : sin VA – normal. Se presentaron 12 gestantes con un perfil considerado transitorio o intermedio al mostrar una asociación sin VA- intermedia o VA leve – normal. Se encontraron 7 gestantes con un perfil mixto o aerobio/anaerobio al presentar una asociación VA moderada – Intermedia a la aplicación de los criterios Donders-Nugent. Cuatro pacientes presentaron un perfil propio a vaginosis bacteriana catalogadas al presentar ya sea ausencia de VA, VA leve o VA moderada con vaginosis bacteriana con puntuación Nugent. No se presentó algún perfil de vaginitis aeróbica el cual se tipificara ante la presencia de VA severa con cualquier tipo Nugent.

**Figura 5. Prevalencia por tipo de perfil de la Microbiota Vaginal**



Fuente: Hoja de captura de resultados

Se presentó una prevalencia de 34.2% para un perfil normal de la microbiota vaginal y un 65.8% con un perfil anormal, incluyendo en este el perfil transitorio, el perfil mixto, el perfil VB y el perfil VA, observando una prevalencia de 34.2 % para la flora transitoria, un 20% para la flora aerobia/anaerobia y una prevalencia de 11.4% para vaginosis bacteriana. Ningún caso discutible de vaginitis aerobia.

**Tabla 11.**

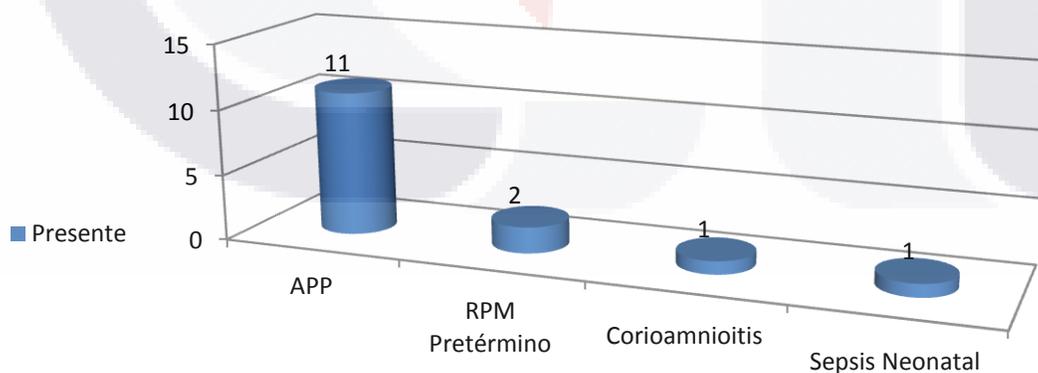
Resultado Obstétrico y Neonatal Adverso		
	Frecuencia	Porcentaje
Ausente	20	57.1
Presente	15	42.9
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

En cuanto a resultado obstétrico y neonatal adverso en las pacientes estudiadas, como se representa en la tabla 11; se tuvo una prevalencia de 42.9%, de la cual 11 casos presentaron amenaza de parto pretérmino, 2 casos de rotura prematura de membranas pretérmino, 1 caso por sospecha clínica de corioamnionitis y 1 caso de sepsis neonatal temprana.

En el caso registrado como corioamnionitis, la paciente ingresó como APP al hospital, integrándose diagnóstico de corioamnionitis en el servicio de tococirugía, posteriormente presenta RPM, naciendo producto prematuro, el cual ingresa a UCIN.

**Figura 6. Causas del Resultado Obstetrico y Neonatal Adverso**



Fuente: Hoja de captura de resultados

Es importante mencionar que 8 de las 35 gestantes estudiadas (22.9%) presentaron algún factor de riesgo para resultado obstétrico adverso: 1 caso con diagnóstico de incompetencia ístmica cervical, 3 casos con diabetes gestacional, 2 gestantes con antecedente de parto pretérmino (1 de ellas con hipotiroidismo), 1 caso con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico y 1 embarazo gemelar. De los 15 casos registrados con resultado adverso tanto obstétrico como neonatal, en 4 coexistió algún factor de riesgo para lo muestra la tabla 12.

**Tabla 12.** Resultado adverso en gestantes con factor de riesgo

Gestante con factor de riesgo para resultado adverso obstétrico	Resultado Obstétrico Adverso	
	RPM	APP
No. 1 Antecedente de Parto Pretérmino		X
No. 2 Antecedente de Parto Pretérmino/Hipotiroidismo	X	
No. 3 Diabetes Gestacional		X
No. 4 Embarazo Gemelar	X	

Fuente: Hoja de captura de resultados

Del análisis de los 35 estudios bacteriológicos del exudado vaginal, se obtuvo 18 resultados positivos (51.4%) a por lo menos a alguno de los patógenos buscados (tabla 13 y tabla 14).

Resultado	Frecuencia	Porcentaje
Negativo	17	48.6
Positivo	18	51.4
Total	35	100.0

Fuente: Hoja de captura de resultados

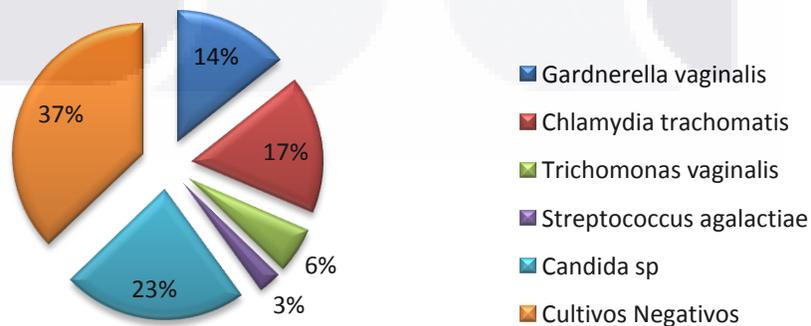
**Tabla 14.** Bacteria patógena positiva obtenida en el exudado vaginal

Exudado positivo	Gestante																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	Total
Gardnerella vaginalis	X								X	X			X				X		5
Chlamydia trachomatis		X	X		X							X					X	X	6
Candida krusey				X		X	X								X	X			5
Trichomonas vaginalis					X									X					3
Strep. agalactiae								X											1
Candida albicans											X			X	X			X	4
Neisseria gonorrhoeae																			0

Fuente: Hoja de captura de resultados

Se observó que de los 18 exudados vaginales positivos, 8 colonizados por alguna especie de *Candida* (44%), 6 por *Chlamydia* (33%), 5 por *Gardnerella* (27%), 2 positivos a *Trichomonas* (10%) y 1 reveló *Streptococcus agalactiae* (5%). La prevalencia de cada una de estas en la población estudiada fue como lo muestra en la siguiente gráfica.

**Figura 7. Prevalencia por bacteria patógena**



Fuente: Hoja de captura de resultados

Con la finalidad de determinar el impacto de la microbiota alterada con el resultado obstétrico y neonatal se utilizó la prueba estadística inferencial de comparación; chi cuadrada.

**Tabla 15.** Correlación estadística entre el tipo de microbiota vaginal y el resultado obstétrico y neonatal adverso

Variable	Tipificación	RESULTADO OBSTETRICO Y NEONATAL ADVERSO		Valor p (chi <sup>2</sup> )
		Presente n=15	Ausente n=20	
<b>Microbiota vaginal aerobia</b>	Sin VA	5	14	0.05
	VA Leve	6	2	
	VA Moderada	4	4	
	VA Severa	0	0	
<b>Microbiota vaginal anaerobia</b>	Normal	3	10	0.02
	Intermedia	8	10	
	VB	4	0	
<b>Microbiota vaginal aerobia/anaerobia</b>	Normal	2	10	0.03
	Transitoria	6	6	
	Aeróbica/Anaeróbica	3	4	
	VB	4	0	
	VA	0	0	
<b>Grado lactobacilar vaginal</b>	I	2	7	0.05
	Ila	8	12	
	Ilb	5	1	
	III	0	0	
<b>Resultado de exudado positivo</b>	Negativo	8	12	0.01
	Positivo	10	5	

Fuente: Hoja de captura de resultados

La tabla 15 demuestra que la flora vaginal anormal impacta en el resultado obstétrico y neonatal adverso, mostrando datos estadísticamente significativos al realizar la comparación con cada perfil de la microflora vaginal alterada.

Para determinar el impacto de la microbiota alterada con un resultado bacteriológico patógeno positivo en el exudado vaginal, se utilizó la prueba estadística inferencial de comparación (chi cuadrada).

**Tabla 16.** Correlación estadística entre el tipo de microbiota vaginal y el resultado positivo a bacterias patógenas del exudado

Variable	Tipificación	RESULTADO BACTERIOLOGICO PATOGENO EN ESTUDIO DE EXUDADO VAGINAL		Valor p (chi <sup>2</sup> )
		Negativo n=17	Positivo n=18	
<b>Microbiota vaginal aerobia</b>	Sin VA	14	5	0.002
	VA Leve	3	5	
	VA Moderada	2	8	
	VA Severa	0	0	
<b>Microbiota vaginal anaerobia</b>	Normal	10	3	0.013
	Intermedia	7	11	
	VB	0	4	
<b>Microbiota vaginal aerobia/anaerobia</b>	Normal	9	3	0.002
	Transitoria	8	4	
	Aeróbica/Anaeróbica	0	7	
	VB	0	4	
	VA	0	0	
<b>Grado lactobacilar vaginal</b>	I	6	3	0.162
	IIa	10	10	
	IIb	1	5	
	III	0	0	

Fuente: Hoja de captura de resultados

Como se aprecia en la tabla 16, se obtuvo una relación estadísticamente significativa al comparar la presencia de una microflora vaginal aerobia alterada y el resultado bacteriológico patógeno positivo, con un valor de 0.002 para chi<sup>2</sup>. Significancia estadística obtenida también al realizar la correlación con la presencia de una microbiota anaerobia, con un resultado para chi<sup>2</sup> menor de 0.05. Así también se encuentra una concordancia estadísticamente significativa al comparar el perfil aerobio/anaerobio de la microflora vaginal, con un valor de chi<sup>2</sup> inferior a 0.05. Contrariamente se encuentra discordancia estadística al relacionar el grado lactobacilar de la microbiota vaginal, arrojando un resultado para chi<sup>2</sup> no significativo de 0.162.

La significancia en cuanto al resultado obstétrico y neonatal adverso ante presencia materna de algún factor de riesgo para APP o RPM, se emitió a manera de tomarlo a cuenta como sesgo en el resultado adverso obtenido, donde el resultado de ésta

comparativa fue un valor sin significancia con una  $\chi^2$  de 0.981, como se muestra en la tabla 17.

**Tabla 17.** Correlación estadística entre la presencia de resultado obstétrico adverso y factor de riesgo materno

Resultado Obstétrico y Neonatal Adverso	Factor de Riesgo Materno para Resultado Obstétrico Adverso		Total
	Ausente	Presente	
Ausente	16	4	20
Presente	11	4	15
Total	27	8	35

Fuente: Hoja de captura de resultados

$p(\chi^2) = 0.981$

#### 4. DISCUSION

El presente estudio permitió identificar en la población de estudio qué tipo de perfil de microbiota vaginal presentan las gestantes del tercer trimestre, que culminaron su control prenatal y llevaron a cabo la resolución del embarazo en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes y qué impacto tuvo el perfil evaluado con algún resultado adverso obstétrico o neonatal, ya sea la presencia de amenaza de parto pretérmino, rotura prematura de membranas pretérmino, corioamnionitis o sepsis neonatal temprana. También, permitió correlacionar el impacto del perfil identificado con la aparición de patógenos oportunistas en el estudio bacteriológico del exudado vaginal de las pacientes participantes.

Se determina la prevalencia de una patología vaginal poco estudiada y asociada a riesgo adverso durante el embarazo: la vaginitis aeróbica (24), mostrando una prevalencia de 45.8%, representando un 22.9% tanto la VA leve como la VA moderada; difiriendo con lo reportado en otros estudios realizados donde se determinó una prevalencia de entre 8 y 10% durante el embarazo (23, 65). Coincide el hecho de que no registramos ningún caso de VA severa, similar a otros artículos donde tampoco reportan casos (38). Probablemente la notoria diferencia en nuestra prevalencia con la reportada en otras investigaciones se deba a que iniciamos experiencia en determinar la microflora vaginal mediante la aplicación de los criterios de Donders.

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

En cuanto a la prevalencia que obtuvimos para vaginosis bacteriana (VB) fué de un 11.4%, encontrándose dentro de lo reportado por la literatura, la cual refiere una prevalencia que oscila desde un mínimo de 9% a un 48%, con una disminución de esta conforme progresan las semanas de gestación (38, 25).

En la clasificación de la microbiota vaginal como normal o anormal en las gestantes estudiadas por medio de la determinación del grado lactobacilar, predominaron los grados lactobacilar I y IIa, en los cuales existe un predominio de lactobacilos, como se hace mención en un estudio reciente realizado por Aagaard y colaboradores, el cual encontró un notable enriquecimiento de la microbiota vaginal por los lactobacilos en mujeres embarazadas, identificando dos especies en mayor proporción *L. Crispatus* y *L. Iners*, comprendiendo tan solo el 0,1% de la comunidad microbiana vaginal, con gran estabilidad durante el curso del embarazo (1).

En consideración al tipo de perfil aerobio/anaerobio de la microbiota vaginal de la población de estudio, se propuso determinarla mediante la aplicación tanto de los criterios de Donders como de Nugent. Como se ha notificado en diversos estudios, en donde la flora vaginal anormal, la cual incluye la denominada flora intermedia por los criterios de Nugent, mantuvo asociada con un riesgo 10 veces mayor de parto pretérmino (26). Otros estudios muestran que la microflora que se aprecia en la VB parcial o intermedia es una combinación de placas granulares anaeróbicos con cocos y placas de cocos típicos de un componente aerobio, manifestando que la VA y VB puede coexistir como una flora mixta, especulando que el componente aeróbico de la microflora puede ser el factor principal de riesgo durante el embarazo (24). Ya que en esta flora mixta los componentes aerobios, están representados por las bacterias aerobias principalmente *E. faecalis*, *S. viridans*, *E. coli* y *S. epidermidis* (3).

En el embarazo, la flora microbiana vaginal residente proporciona protección contra la infección vaginal por diferentes mecanismos. Como resultado, la flora vaginal anormal puede predisponer a la colonización ascendente del tracto genital, la infiltración de las membranas fetales, invasión microbiana de la cavidad amniótica, daño fetal secundario a la infección y parto prematuro (39).

Con la intención de evaluar el impacto de cursar con una microbiota anormal diagnosticada durante el tercer trimestre y su correlación con repercusión obstétrica y neonatal, en el presente estudio se evidencia que al determinar la microflora vaginal alterada mediante la aplicación de los criterios de Donders y asociarla con el resultado adverso que presentó la población estudiada, hubo significancia estadística, sugestiva a lo que manifestó Donders y colaboradores, el cual opina que la vaginitis aerobia (VA), con o sin presencia de vaginosis bacteriana puede, teóricamente, ser mejor candidato que la VB para causar complicaciones en el embarazo, como parto prematuro; también afirma que la VA leve en realidad está mal diagnosticada, al estar clasificada en el grupo de flora "intermedia" para VB (27). Sin embargo se han reportado también acontecimientos adversos sin asociación con la vaginitis aeróbica, sino solo exclusivamente con la VB (38). Sin embargo, se necesitan más estudios para diferenciar los efectos de la VA en el resultado adverso del embarazo (20).

Al determinar la microbiota vaginal alterada mediante la aplicación de los criterios de Nugent y asociarla con el resultado adverso que presentó la población estudiada, tuvo significancia estadística. Semejante al metaanálisis con la participación de más de 17 mil mujeres asintomáticas en el segundo trimestre, se determina con precisión, los criterios de Nugent para vaginosis bacteriana y predicen el parto prematuro espontáneo (36). Por lo que se hace dispensable la búsqueda intencionada de esta condición, en vista de que la presencia de VB también aumenta el riesgo de infecciones del tracto urinario en mujeres embarazadas (35). Destaca la importancia de la búsqueda de esta condición, ya que las embarazadas que cursan con VB asintomática, son aproximadamente la mitad de las mujeres infectadas, dando lugar a complicaciones graves (36).

En relación al perfil de la microbiota vaginal del tipo transitoria (intermedia) y el tipo aerobia/anaerobia (mixta), ambas catalogadas como anormales, tuvieron significancia estadística en relación al resultado obstétrico y neonatal adverso. Ésto se reporta en otros estudios donde se observó que en mujeres diagnosticadas durante el embarazo con flora intermedia, según los criterios de Nugent, o con la presencia de una flora normal con presencia de polimorfonucleares, lo que se asemeja a la vaginitis aerobia, en primero o segundo trimestre, parecen ser más propensas a resultados adversos en el embarazo,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

como parto prematuro, con una odds-ratio menor asociada a la VB (61). Como también lo encontró Leitch al referir a la flora vaginal intermedia como factor adverso para el embarazo (40).

La asociación entre el grado lactobacilar y el resultado adverso mostró significancia estadística. Ésto puede sustentarse en vista de que si el número de lactobacilos cae, el aumento del pH resultante favorece un crecimiento excesivo de bacterias anaerobias y facultativas que pueden convertirse en vaginitis o vaginosis, por lo que en la evaluación del grado lactobacilar influencia de manera indirecta a sospechar en invasión por bacterias oportunistas (51). Semejante a lo concluido por Usui y colaboradores, en donde la disminución en la flora lactobacilar fue significativa para parto pretermino (59).

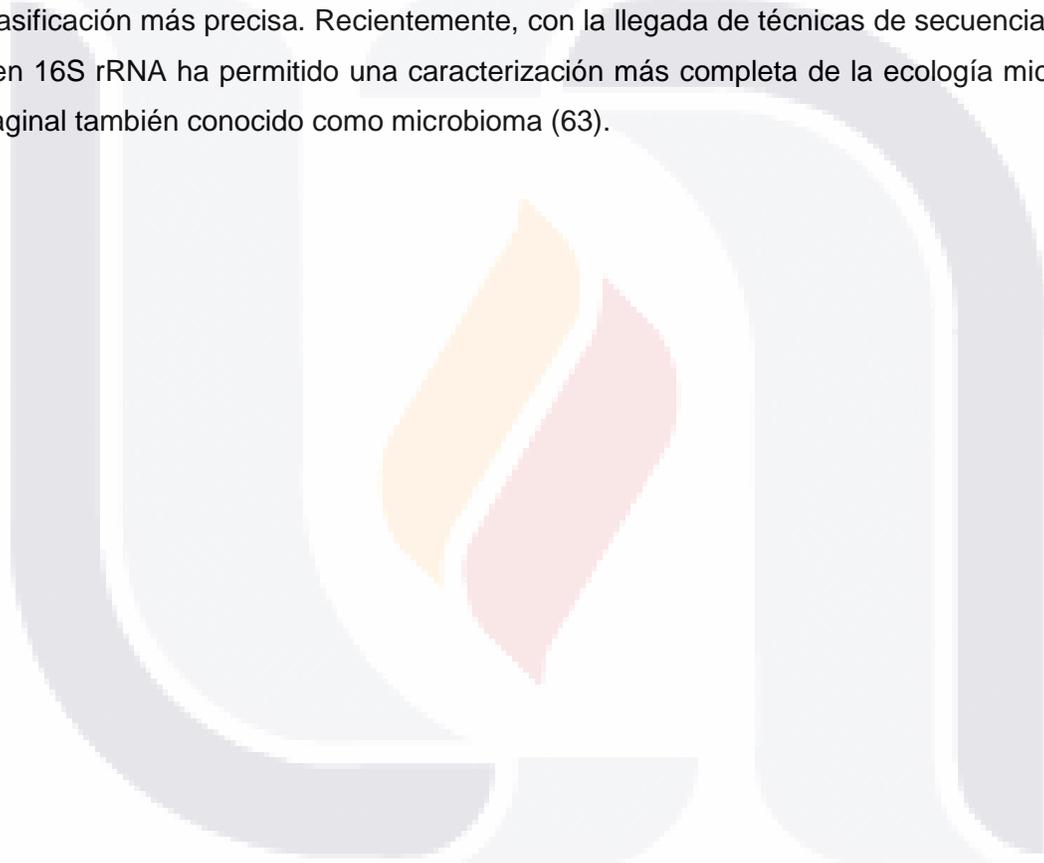
Actualmente se informa que el uso de probióticos en las mujeres embarazadas, resulta en reducción de la incidencia de ruptura prematura de membranas y el consecuencia el parto pretérmino, así como en la relación inversa entre lactobacilos y estreptococos del grupo B, por tanto, hay un creciente interés en el uso de lactobacilos de origen humano como probióticos contra la infección genital (37).

Al hacer la correlación estadística entre la positividad a bacterias patógenas en el exudado vaginal y la presencia de resultado obstétrico y neonatal adverso, se obtuvo un resultado significativo. Llama la atención que de los casos positivos, *candida* y *chlamydia* fueron los que dieron mayor reporte de positividad. Por lo que el resultado adverso probablemente este condicionado por la patogenia de estos microorganismos, como es el caso de *chlamydia* (54). Así que una deficiencia de lactobacilos y el predominio de otra microflora, no proporciona la defensa adecuada con respecto al bloqueo de la unión de patógenos al epitelio vaginal ni producción de sustancias que inhiban su multiplicación. (2).

Determinar la presencia de una microbiota vaginal alterada ya sea mediante la aplicación de los criterios de Nugent, Donders o mediante la asociación de ambos, y su correlación con la positividad en el estudio bacteriológico del exudado vaginal, mostró significancia estadística en su asociación con cada uno de ellos. Contrario a lo observado al comparar el grado lactobacilar con un resultado positivo a bacterias patógenas del exudado vaginal,

arrojó un resultado sin significancia estadística. Cualquier perturbación en los lactobacilos es correlacionado con la presencia de microorganismos oportunistas. Ahora bien, no todas las cepas de Lactobacilos expresan estas propiedades con la misma intensidad, por lo que es sustancial distinguir las diferencias entre las especies (62).

Las investigaciones recientes de los microorganismos vaginales asociados con resultados adversos del embarazo, se basan principalmente en técnicas de cultivo y diagnóstico clínico tradicional, pero sigue siendo incompleto. El diagnóstico molecular permitirá una clasificación más precisa. Recientemente, con la llegada de técnicas de secuenciación del gen 16S rRNA ha permitido una caracterización más completa de la ecología microbiana vaginal también conocido como microbioma (63).



## CONCLUSIONES

- ❖ Se determinó que un perfil alterado en la microbiota vaginal en gestantes del tercer trimestre, impactó de manera adversa en el resultado obstétrico y neonatal. Se aumenta el riesgo a desencadenar amenaza de parto pretérmino. El perfil alterado también resultó ser determinante en la colonización vaginal por bacterias oportunistas, evidenciándose con un resultado positivo en el estudio bacteriológico del exudado vaginal.
- ❖ Se determinó una elevada prevalencia de Vaginitis Aeróbica en las gestantes, poniendo en evidencia a la existencia también de microflora aerobia en la infección vaginal durante el embarazo, haciendo necesario pensar en ellas al momento de prescribir tratamiento.
- ❖ Se determina una prevalencia para Vaginosis Bacteriana semejante a lo que se reporta en la literatura y a pesar de ello en el Hospital de la Mujer no se cuenta con un protocolo de búsqueda intencionada durante el embarazo a pesar de su asociación con complicaciones obstétricas.
- ❖ Se determinó que al evaluar sólo el grado lactobacilar, la mayoría de las gestantes cursarán con una microbiota vaginal normal, evaluación que excluye a la restante microflora participante en alteración del microambiente vaginal.
- ❖ Al implementar tanto los criterios de Donders y Nugent se logró detallar con mejor precisión un perfil de la microbiota vaginal en vista de que describe la existencia tanto de microflora aerobia como anaerobia.
- ❖ Se determinó que al evaluar una microbiota mixta tanto aerobia como anaerobia se favorece su correlación con el impacto adverso obstétrico y perinatal.
- ❖ Se determinó que con sólo evidenciar una microbiota vaginal alterada, independientemente si es anaerobia o anaerobia, se correlaciona con un resultado positivo a patógenos oportunistas en el estudio bacteriológico del exudado vaginal

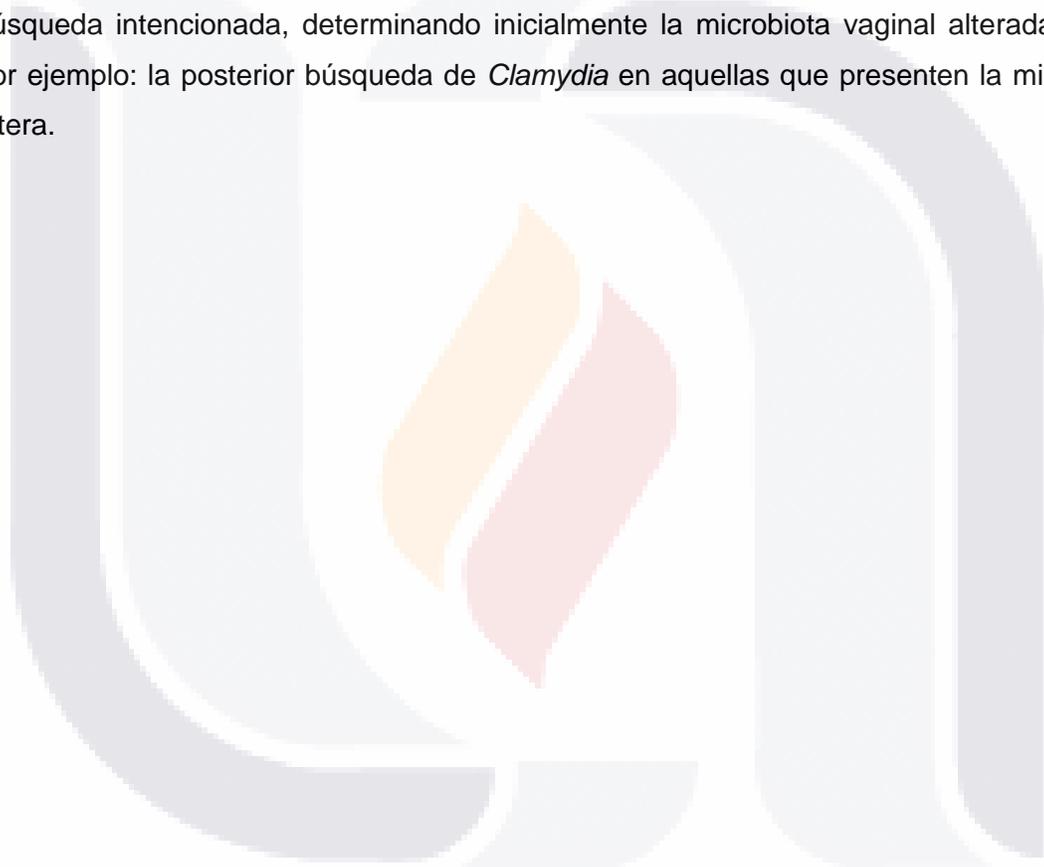
## SUGERENCIAS

La aplicación tanto de los criterios de Donders y Nugent a la evaluación del exudado vaginal confiere una herramienta clínica rápida y útil para identificar a las mujeres en

riesgo de parto pretérmino. Por lo que se sugiere la evaluación del exudado vaginal a todas las pacientes que ingresen a control prenatal en el Hospital de la Mujer de Aguascalientes podría ser una estrategia de detección oportuna de resultado perinatal adverso tanto materno como fetal.

Se sugiere que se extienda el conocimiento en el personal médico en relación de la existencia de vaginitis aeróbica como factor causante de complicación obstétrica.

Se sugiere continuar la línea de investigación en relación al tema expuesto, pues se puede identificar a la población susceptible a mayor riesgo y así establecer un criterio de búsqueda intencionada, determinando inicialmente la microbiota vaginal alterada; como por ejemplo: la posterior búsqueda de *Clamydia* en aquellas que presenten la microbiota altera.



## GLOSARIO

Criterios de Donders: escala de puntuación utilizada para diagnosticar vaginitis aerobica.

Criterios de Nugent: escala de puntuación utilizada para diagnosticar vaginosis bacteriana.

Estudio bacteriológico de exudado vaginal: análisis microbiológico de una muestra de secreción tomada de la mucosa vaginal.

Microbiota: término que hace alusión a la "flora microbiana normal"; denotando a la población de microorganismos que habitan en la piel y mucosas de los seres humanos.

Perfil: designa aquel conjunto de rasgos particulares que caracterizan a alguien o algo.

Resultado obstétrico y neonatal adverso: Todo aquel suceso o evento que llegue a ser desfavorable para en el embarazo y para el recién nacido dentro de sus primeros 28 días de vida.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.- Aagaard K, Riehle K, Ma J, Segata N, Mistretta T, Coarfa C et al. *A metagenomic approach to characterization of the vaginal microbiome signature in pregnancy*. PLoS ONE. 2012; (7): 364-366.
- 2.- Al-Charrakh A. *Relationship between lactobacilli and opportunistic bacterial pathogens associated with vaginitis*. North American Journal of Medical Sciences. 2011; (3): 186-192.
- 3.- Aiping F, Yingli Y, Huiying Z, Yingmei W. *Aerobic vaginitis and mixed infections: comparison of clinical and laboratory findings*. General Gynecology. 2013; (287): 329-335.
- 4.- Baldry P. *La batalla contra las bacterias*. Barcelona: Reverté; 2006.
- 5.- Bartlett J, Calderwood S, Thorner A. *Anaerobic bacteria: History and role in normal human flora*. Updated Review. 2015; 6.
- 6.- Beltrán D, Guerra J. *Consenso en probióticos vaginales*. Madrid: EDIMSA; 2012.
- 7.- Boris S, Barbés C. *Role played by lactobacilli in controlling the population of vaginal pathogens*. Microbes Infect. 2000; (2): 543-6.
- 8.- Brotman R. *Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective*. J Clin Invest. 2011;(121): 4610–4617.
- 9.- Braundmeier A, Lenz K, Inman K, Chia N, Jeraldo P, Walther-António M, et al. *Individualized medicine and the microbiome in reproductive tract*. Front. Physiol. 2015; (6): 97.
- 10.- Briceño I, *Sepsis: Definiciones y aspectos fisiopatológicos*. Medicrit 2005; 2:164-178.
- 11.- Cano F, Díaz A, Aedo S. *Síndrome de respuesta inflamatoria fetal*. Rev. Obstet. Ginecol. Hosp. Santiago Oriente. 2012; 7 (1): 39-44.
- 12.- Carroll K, Hobden J, Miller S, Morse S, et al. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*. 27ed. U.S.A: Mc graw hill; 2010.

- 13.- Cobo T, Ferrero S, Palacio M. *Protocolo: amenaza de parto pretérmino*. Protocols de Medicina Fetal I Perinatal Hospital Clínic. Barcelona. 2015.
- 14.- Cobo T, Ferrero S, Palacio M. *Protocolo: rotura prematura de membranas a término y pretermino*. Protocols de Medicina Fetal I Perinatal Hospital Clínic. Barcelona. 2015.
- 15.- Cobo T, Ferrero S, Palacio M. *Protocolo: sospecha de corioamnionitis y corioamnionitis clínica*. Protocols de Medicina Fetal I Perinatal Hospital Clínic. Barcelona. 2015.
- 16.- Committee on Practice Bulletins. *Obstetrics Management of preterm labor*. Obstet Gynecol. 2012 Jun;119(6):1308-17.
- 17.- De Kruijf P. *Cazadores de microbios*. México: Porrúa; 2003.
- 18.- De La Calle J, De La Calle M. *Vaginosis Bacteriana*. Med Clin Barc. 2009; (20): 789–797.
- 19.- Döderlein A. *Das Scheidensekret und seine Bedeutung für das puerperalfieber*. Leipzig: Verloag von Edard Besold; 1892.
- 20.- Donati L, Di Vico A, Nucci M, Quagliozi L, Labianca A, Paradisi G. *Vaginal microbial flora and outcome of pregnancy*. Arch Gynecol Obstet. 2010; (281): 589–600.
- 21.- Donders G. *Definition and classification of abnormal vaginal flora*. Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology. 2007; (21): 355–373.
- 22.- Donders G. *Microscopy of bacterial flora on fresh vaginal smears*. Infect Dis Obstet Gynecol. 1999 ; (7): 12.
- 23.- Donders G, Bellen G. *Management of abnormal vaginal flora as a risk factor for preterm birth* en: Jonh Morrison Editores. Preterm Birth - Mother and Child. 1°Ed: Intech Europe; 2012. 232-244.
- 24.- Donders G, Bellen G, Rezeberga D. *Aerobic vaginitis in pregnancy*. BJOG An International Journal of Obstetrics and Ginecology. 2011; (118): 1163-1170.
- 25.- Donders G, Calsteren K, Bellen G, Reybrouck R. *Predictive value for preterm birth of abnormal vaginal flora, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis during the first trimester of*

pregnancy. BJOG An International Journal of Obstetrics and Gynaecology. 2009; (116): 1315–1324.

26.- Donders G, Van Calsteren C, Bellen G, et al. *Association between abnormal vaginal flora and cervical length as risk factors for preterm birth*. Ultrasound Obstet Gynecol. 2010; (21): 355-373.

27.- Donders G, Vereecken A, Bosmans E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. *Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis*. BJOG: an I J Obstet Gynaecol. 2002; (109):34–43.

28.- Dreyfus G. *El mundo de los microbios*, 4ta ed. Fondo de cultura económica de España. 2010: 97.

29.- Ferrer R, Robles A, Pérez M, Crespo E, González G. *Corioamnionitis clínica e histológica, revisión bibliográfica*. Multimed. 2014; 18(1).

30.- García R, Martínez L, Reyes H, Von Schmeling G. *Programa de Acción Específico 2013-2018 Salud Materna y Perinatal*. 1er Ed. México. Secretaria de Salud: 2014: 16-17.

31.- Gardner H, Dukes C. *Haemophilus vaginalis vaginitis. A newly defined specific infection previously classified "non specific vaginitis"*. Am J Obstet Gynecol. 1955; (69): 962–976.

32.- Geneser F. *Histología*. 3ª ed. México: Editorial Médica Panamericana; 2003.

33.- GPC. *Diagnóstico y tratamiento de vaginitis infecciosa en mujeres en edad reproductiva en el primer nivel de atención*. México: Secretaría de Salud; 2014.

34.- Guía de Práctica Clínica. *Para el control prenatal con enfoque de riesgo. Evidencias y Recomendaciones*. Catálogo Nacional de Guías de Práctica Clínica. México: CENETEC; 2008.

35.- Hillebrand L, Harmanli O, Whiteman V, et al. *Urinary tract infections in pregnant women with bacterial vaginosis*. Am J Obstet Gynecol. 2002; (186): 916-917.

36.- Honesta H, Bachmanna L, Knox E, Gupta J, Kleijnend J, Khan K. *The accuracy of various tests for bacterial vaginosis in predicting preterm birth: a systematic review*. Br J Obstet Gynaecol. 2004; (111): 409–422.

- 37.- Hoyme U, Saling E. *Efficient prematurity prevention is possible by pH-self measurement and immediate therapy of threatening ascending infection.* *Obstet Gynaecol Reprod Boil* 2004; (115): 148-153.
- 38.- Krauss L, Almada A, Alves M, Camacho K, Moreira M, Braga A. *Basic vaginal pH, bacterial vaginosis and aerobic vaginitis: prevalence in early pregnancy and risk of spontaneous preterm delivery, a prospective study in a low socioeconomic and multiethnic South American population.* *BioMed Central.* 2014; (14): 107.
- 39.- Lamont R, Sobel J, Akins R, Hassan S, Romero R. *The vaginal microbiome: new information about genital tract flora using molecular based techniques.* *BJOG.* 2011; (118): 533–549.
- 40.- Leitch H, Kis H. *Asymptomatic bacterial vaginosis and intermediate flora as risk factors for adverse pregnancy outcome.* *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2007; (21):375-390.
- 41.- Lepargneur J, Rousseau V. *Protective role of the Doderleïn flora.* *J Gynecol Obstet Biol Reprod.* 2002 Sep; 31(5):485-94.
- 42.- Lindner J, Plantema F, Hoogkamp K. *Quantative studies of the vaginal flora of healthy women and of obstetric and gynaecologic patients.* *J Med Microbiol.* 1978; (11): 233–241.
- 43.- Martínez R, Soberóna N, Vázquez F, Suárez J. *La microbiota vaginal: composición, papel protector, patología asociada y perspectivas terapéuticas.* *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008; (3):160-7.
- 44.- Martínez M, Castro G, Aguilera M. *Microbiota vaginal normal: los lactobacilos.* *MedLab.* 2012; (4): 17-25.
- 45.- Morency A, Buold E. *The effect of second-trimester antibiotic therapy on the rate of preterm birth.* *J Obstet Gynaecol Can.* 2007; 29: 35- 44.
- 46.- Nápoles D. *Consideraciones sobre el síndrome de respuesta inflamatoria fetal.* *MEDISAN.* 2012; 16(11).
- 47.- Nava D, Escobar V. *Ruptura prematura de membranas y sepsis en recién nacidos de término.* *Revista Mexicana de Pediatría.* 2009; (76) 205.

- 48.- Nugent R, Krohn M, Hillier S. *Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram's stain interpretation.* J Clin Microbiol. 1991; (29): 297–301.
- 49.- Priestlley C, Jones B, Dhar J, Goodwin L. *What is normal vaginal flora?*. Genitourin Med. 1997; (73): 23-28.
- 50.- Real Academia española. *Diccionario de la lengua española.* 22° ed. Madrid, España; 2001.
- 51.- Ronnquist P, Forsgren-Bursk U, Grahn-Hakansson E. *Lactobacilli in the female genital tract in relation to other genital microbes and vaginal pH.* Acta Obstet Gynaecol Scand 2006; (85): 726-735.
- 52.- Sharma S, Dilbaghi N. *Microbial world, history and development of microbiology, scope of microbiology.* General Microbiology. 2006; 5-12.
- 53.- Spiegel C, Amsel R, Holmes K. *Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram-stain of vaginal fluid.* J Clin Microbiol.1993; (18): 170–177.
- 54.- Swadpanich U, Lumbiganon P, Prasertcharoensook W, Laopaiboon M. *Antenatal lower genital tract infection screening and treatment programs for preventing preterm delivery.* Cochrane Database Syst Rev. 2008.
- 55.- Swidsinski A, Mendling W, Loening-Baucke V, Swidsinski S, et al. *An adherent Gardnerella vaginalis biofilm persists on the vaginal epithelium after standard therapy with oral metronidazole.* Am J Obstet Gynecol 2008; (97): 1–6.
- 56.- Sydney S. *Modern microbiology.* Nature. 1976; (264): 141.
- 57.- The Human Microbiome Project Consortium. *Structure, function and diversity of the healthy human microbiome.* Nature. 2012; (486): 207-217.
- 58.- Thinkhamrop J. *Antibióticos para el tratamiento de la vaginosis bacteriana en el embarazo.* Comentario de la BSR. La Biblioteca de Salud Reproductiva de la OMS; Ginebra: 2007. Organización Mundial de la Salud.
- 59.- Usui R, Ohkuchis S, Matsubara S, Izumi A, Watanabe T, Suzuki M. *Vaginal lactobacilli and preterm birth.* J Perinat Med. 2000; (30): 458- 466.

- 60.- Ventolini G. *Progresses on biofilm formation by vaginal lactobacilli*. Journal of Nature and Science. 2015; (4).
- 61.- Verstraelen H, Verhelst R, Roelens K, et al. *Modified classification of Gram-stained vaginal smears to predict spontaneous preterm birth: a prospective cohort study*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 2007; 196: 528-529.
- 62.- Walther-Antonio M, Jeraldo P, Miller M, Yeoman C, Nelson K, Wilson B et al. *Pregnancy's stronghold on the vaginal microbiome*. PLOS ONE. 2014; (9): 514.
- 63.- White B, Creedon D, Nelson K, Wilson B. *The vaginal microbiome in health and disease*. Trends in Endocrinology & Metabolism. 2011; (22): 389–393.
- 64.- Yarbrough V, Winkle S, Herbst-Kralovetz M. *Antimicrobial peptides in the female reproductive tract: a critical component of the mucosal immune barrier with physiological and clinical implications*. Hum.Reprod. Update. 2014; (10).
- 65.- Zodzika J, Jermakova I, Rezeberga D, Vasina O, Vedmedovska N, Donders G et al. *Factors related to elevated vaginal pH in the first trimester of pregnancy*. Acta Obstet Gynecol Scand. 2011; (90): 41-46.
- 66.- Zoetendal E, Vaughan E, De Vos W. *A microbial world within us*. Mol Microbiol. 2006; (59):1639-50.

## ANEXOS

### Anexo A

Formato de recolección de datos.

HOSPITAL DE LA MUJER AGUASCALIENTES SERVICIO DE MICROBIOLOGIA		
TOMA DE MUESTRA	No. De Folio _____	Fecha: _____
IDENTIFICACION DE LA PACIENTE GESTANTE		
Nombre: _____	Edad: _____	
Escolaridad _____	Edo. Civil _____	No. Expediente: _____
DATOS GINECO-OBSTETRICOS		
F.U.M: Dia: ____/Mes: ____/Año: ____	[Rango de Referencia: (Entre 25/Sep/2014 y 15/Dic/2014)]	
Gesta: G: ____ P: ____ A: ____ C: ____		
FROTIS VAGINAL EN MONTAJE EN FRESCO		
-Prueba de Amina ( ) Positiva ( ) Negativa		
-Hallazgos observando bajo microscopio convencional con amplificación a 400 x		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Células CLUE ( ) si ( ) no</li> <li>• Numero de Leucocitos                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- ≤ 10 leucocitos/campo</li> <li>- &gt;10 leucocitos/campo y/o ≤ 10 leucocitos por célula epitelial</li> <li>- &gt; 10 leucocitos por célula epitelial</li> </ul> </li> <li>• Proporción de Leucocitos Tóxicos en comparación al total de leucocitos                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ninguno o esporádicos</li> <li>- ≤ 50% del total de leucocitos</li> <li>- &gt; 50% del total de leucocitos</li> </ul> </li> <li>• Proporción de células Parabasales                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ninguna ó &lt; 1%</li> <li>- ≤ 10%</li> <li>- &gt; 10%</li> </ul> </li> <li>• Tipo de microorganismos en la flora vaginal                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- Se aprecia datos de citolisis</li> <li>- Se aprecian Pequeños Bacilos Gruesos</li> <li>- Se aprecian Cocos Prominentes aislados o en cadena</li> </ul> </li> </ul>	PUNTUACION ( ) [Donders 0] ( ) [Donders 1] ( ) [Donders 2]  ( ) [Donders 0] ( ) [Donders 1] ( ) [Donders 2]  ( ) [Donders 0] ( ) [Donders 1] ( ) [Donders 2]  ( ) [Donders 0] ( ) [Donders 1] ( ) [Donders 2]	

Anexo A (continuación)

Continuación		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Grados Lactobacilar (Relación lactobacillus/flora mixta)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- I: Se aprecia numerosos lactobacilos sin presencia de otra bacteria</li> <li>- IIa: Se aprecia Flora mixta; pero Predominan los lactobacilos</li> <li>- IIb: Se aprecia Flora mixta; pero la relación de lactobacilos decrementa en relación al incremento de otras bacterias</li> <li>- III: Se aprecia ausencia de latobacilos, con sobrecrecimiento bacteriano</li> </ul> </li> </ul>		<p>PUNTUACION</p> <p>( ) [Donders 0]</p> <p>( ) [Donders 0]</p> <p>( ) [Donders 1]</p> <p>( ) [Donders 2]</p>
<hr/>		
<p>FROTIS VAGINAL EN MONTAJE BAJO TINCIÓN GRAM</p> <p>-Hallazgos observando bajo microscopio convencional con amplificación a 400 x</p>		
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Numero de Bacilos Largos Gram + (Lactobacillus spp)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- &gt; 30 morfotipos/campo (abundantes)</li> <li>- 5-30 morfotipos/campo (moderados)</li> <li>- 1- 4 morfotipos/campo (pocos)</li> <li>- &lt;1 morfotipos/campo (escasos)</li> <li>- 0 morfotipos/campo (nulos)</li> </ul> </li> </ul>		<p>PUNTUACION</p> <p>( ) [ Nugent 0 ]</p> <p>( ) [ Nugent 1 ]</p> <p>( ) [ Nugent 2 ]</p> <p>( ) [ Nugent 3 ]</p> <p>( ) [ Nugent 4 ]</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Numero de Bacilos Pequeños Gram – y Bacilos Gram Variables .....(Gardenella y Bacteroides spp ).....                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 0 morfotipos/campo (nulos)</li> <li>- &lt;1 morfotipos/campo (escasos)</li> <li>- 1- 4 morfotipos/campo (pocos)</li> <li>- 5-30 morfotipos/campo (moderados)</li> <li>- &gt;30 morfotipos/campo (abundantes)</li> </ul> </li> </ul>		<p>PUNTUACION</p> <p>( ) [ Nugent 0 ]</p> <p>( ) [ Nugent 1 ]</p> <p>( ) [ Nugent 2 ]</p> <p>( ) [ Nugent 3 ]</p> <p>( ) [ Nugent 4 ]</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Numero de Bacilos Curvos Gram Variables (Mobiluncus spp)                             <ul style="list-style-type: none"> <li>- 0 morfotipos/campo (nulos)</li> <li>- 1-4 morfotipos/campo (escasos - pocos)</li> <li>- &lt;5 morfotipos/campo ( moderados - abundantes)</li> </ul> </li> </ul>		<p>PUNTUACION</p> <p>( ) [ Nugent 0 ]</p> <p>( ) [ Nugent 1 ]</p> <p>( ) [ Nugent 2 ]</p>
<hr/>		
<p>DESARROLLO DE COLONIAS EN CULTIVO</p> <p>Gardnerella vaginalis ( )</p> <p>Streptococcus agalactiae ( )</p> <p>Candida krusey ( )</p> <p>Candida albicans ( )</p>	<p>DETECCION POR PCR</p> <p>Neisseria gonorrhoeae ( )</p> <p>Chlamydia trachomatis ( )</p> <p>BAJO MICROSCOPIA</p> <p>Trichomonas vaginalis ( )</p>	

Anexo A (continuación)

Continuación

---

**CRITERIOS DE CLSIFICACION PARA VAGINITIS AEROBICA Y VAGINOSIS BACTERIANA**

PUNTUACION PARA VAGINITIS AEROBICA (CRITERIOS DE DONDERS)	
<3	SIN VAGINITIS AEROBICA (AV)
3-4	AV LEVE
5-6	AV MODERADA
> 6	AV SEVERA [ 8-10 = VAGINITIS ATROFICA DESCAMATIVA]

PUNTUACION PARA VAGOSIS BACTERIANA (CRITERIOS DE NUGENT )	
0-3	FLORA VAGINAL NORMAL
4-6	FLORA VAGINAL INTERMEDIA
7-10	VAGINOSIS BACTERIANA

Observaciones:

---



---



---

Anexo B



**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo, \_\_\_\_\_, he sido informado del proyecto de investigación:

**"PERFIL DE LA MICROBIOTA VAGINAL EN GESTANTES QUE CURSAN EL TERCER TRIMESTRE EN EL HOSPITAL DE LA MUJER DE AGUASCALIENTES E IMPACTO EN EL RESULTADO OBSTÉTRICO Y NEONATAL ADVERSO"**

e invitado a participar en él.

Se me ha informado de los riesgos y beneficios que ello implica y los he aceptado. Reconozco que tengo el derecho de retirarme del proyecto en el momento en que lo considere pertinente, sin que esto represente agravio para los responsables del proyecto de investigación o exista represalia alguna a mi persona.

Se me ha enterado de que tengo derecho a ser informado de los resultados de pruebas que se lleguen a realizar.

He sido notificado que toda información obtenida se utilizara para fines académicos, manteniendo siempre la confidencialidad de la fuente.

Aguascalientes a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_

*Participante*

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del participante

*Investigador* *Testigo*

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del investigador \_\_\_\_\_  
Nombre y firma del testigo

Anexo C

**Cronograma de actividades**

Se calendarizaron las actividades en un orden secuencial, de acuerdo al plan de trabajo programado. El cuadro siguiente muestra la administración del tiempo por tipo de actividad

ACTIVIDAD	2015-2016									
	MAY	JUN	JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC	ENE	
Definir tema de protocolo y objetivos	**									
Recolección de información del marco teórico	**									
Registro en el comité local de investigación		**								
Capacitación a personal del Departamento de Microbiología		**								
Trabajo de campo (toma de muestras)			**	**						
Construcción de la base de datos con el análisis de los expedientes clínicos					**	**	**	**		
Análisis preliminar de resultados								**		
Resultados definitivos								**	**	
Conclusiones e integración en la presentación de tesis									**	