

EXUDADOS VAGINALES (EXOCERVICALES)

PRINCIPIO Y OBJETO DE SU ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

La mucosa vaginal tiene una flora microbiana normal, cuyo conocimiento y consideración debe tenerse en cuenta a la hora del estudio microbiológico de infecciones vaginales. Se pueden considerar tres situaciones:

- Saber cuándo se altera el equilibrio de esta flora colonizante.
- Búsqueda de agentes exógenos, transmitidos normalmente por vía sexual.
- Detección de portadoras de determinados microorganismos.

La mayoría de las situaciones clínicas que pueden ser objeto de estudios microbiológicos para el aislamiento ó visualización del agente etiológico son:

1. Vulvovaginitis: cuyos agentes etiológicos más frecuentes son *Candida* spp (principalmente *C.albicans*), *Trichomonas vaginalis* y virus herpes simple. En niñas pequeñas y en algunos casos de mujeres adultas también pueden ser causantes de vaginitis patógenos respiratorios como *Haemophilus* sp, *Streptococcus pneumoniae* o *Streptococcus pyogenes*. Asimismo la presencia de un cultivo puro de otros microorganismos observados en una tinción de Gram con leucocitos puede tener significación.

2. Vaginosis: estado caracterizado, desde el punto de vista microbiológico, por la ausencia o franca disminución de *Lactobacillus* spp y abundante flora mixta compuesta por *Gardnerella vaginalis*, anaerobios (*Mobiluncus*, *Bacteroides*, Cocos anaerobios...) y *Mycoplasma hominis*.

3. Detección de portadoras de *Streptococcus agalactiae* (SGB).

4. Infección gonocócica: La endocervicitis gonocócica aunque cursa con leucorrea, el exudado vaginal no es la muestra adecuada para su diagnóstico siendo recomendable la obtención de un exudado endocervical.

TIPOS DE ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS

- Cultivo bacteriano.
- Cultivo de levaduras.
- Cultivo de tricomonas.
- Despistaje de *Streptococcus agalactiae*.
- Cultivo de virus herpes simple (puesto que requiere toma de muestra y medio de transporte y cultivos especiales solo se hará por petición expresa del clínico y su protocolo de cultivo e identificación se recogerá en otro capítulo).

TOMA DE MUESTRAS

No debe usarse antiséptico previo a la toma de la muestra. Si se utiliza espéculo, lubricar con agua caliente. Es recomendable tomar dos escobillones. Se introduce un escobillón estéril en la vagina y se recoge la muestra de la zona de mayor exudado, y en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior. Se introduce el escobillón en medio de transporte.

CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

El envío de la muestra al laboratorio debe ser inmediato siempre que sea posible. Cuando no pueda procesarse en el momento se mantendrá en frigorífico o a temperatura ambiente. Nunca refrigerar si existe sospecha de infección gonocócica. Tiempo máximo de procesamiento con medio de transporte: 24 h.

CRITERIOS DE RECHAZO

- Muestras recibidas a partir del día siguiente de su toma.
- Escobillones secos, sin medio de transporte.
- Muestras sin orientación diagnóstica.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Uno de los escobillones se empleará para el examen microscópico y el otro para el cultivo.

- Examen microscópico: es el único método aceptado para el diagnóstico microbiológico de la vaginosis bacteriana. Se hará una extensión del escobillón en portaobjetos y tinción de Gram.
- Cultivo: Pueden establecerse distintas combinaciones de medios en función de la orientación diagnóstica:
 - Agar sangre en atmósfera de CO₂.
 - Agar Chocolate en atmósfera de CO₂.
 - McConkey.
 - Agar Granada (1/4 de placa) en anaerobiosis ó con cubreobjetos sobre la siembra en aerobiosis ó Agar sangre nalidíxico en atmósfera de CO₂.
 - Thayer Martin ó New York City en atmósfera de CO₂.
 - Medio para *Gardnerella* en atmósfera de CO₂.
 - Sabouraud con antibiótico u otro medio para *Candida*.
 - Caldo para cultivo de *Trichomonas vaginalis*.

EXAMEN DE LA MUESTRA

1. Examen microscópico: En el exudado vaginal normal se observará flora regional con predominio de morfotipo *Lactobacillus* sp y células epiteliales.

Evaluar:

- La presencia de leucocitos.
- La presencia de levaduras o pseudohifas.
- La presencia única o abundante de cualquier otro microorganismo.
- El exudado característico de la VAGINOSIS BACTERIANA:

a) Presencia de Células “clue” □ (células epiteliales recubiertas de bacilos o cocobacilos Gram variables.)

b) Ausencia o escasos Leucocitos.

c) Flora mixta alterada (Ver Criterios de Nugent en tabla 1).

Tabla 1. Interpretación de VAGINOSIS BACTERIANA mediante tinción de Gram

	Puntuación				
	0	1	2	3	4
Lactobacillus	>30 ¹	5-30	1-4	<1	0
CBGV ²	0	<1	1-4	5-30	>30
BGNC ³	0	1-4	5-30	-	-

¹org/campo con objetivo 100X; ²Cocobacilos Gram variables (morfotipo *Gardnerella/Bacteroides*); ³Bacilos Gram negativos curvados (morfotipo *Mobiluncus*)

Interpretación Puntuación:

De 0 a 3: No vaginosis bacteriana

De 4 a 6: flora vaginal alterada

De 7 a 10: VAGINOSIS BACTERIANA

2. Examen en medios de cultivo: Examinar todos los medios a las 18-24 horas. Si no crecimiento de patógenos, incubar hasta las 48 h, a excepción del McConkey que se descarta a las 18 h. El Thayer Martin ó New York City y el caldo de Tricomonas se incubarán, si son negativos, hasta 72 horas.

- Agar sangre: Presencia de cualquier microorganismo en gran cantidad, con especial atención a *Streptococcus pyogenes* o *S.pneumoniae*.
- Agar Chocolate: Presencia de cualquier microorganismo en gran cantidad, con especial atención a *Haemophilus* sp.
- McConkey: Presencia de enterobacterias en gran cantidad.
- Granada: Presencia colonias con pigmentación naranja correspondientes a *Streptococcus. agalactiae* (SGB) y agar sangre nalidíxico: con especial

interés en colonias b-hemolíticas de *Streptococcus. agalactiae*.

- Thayer Martin o New York City: Presencia de colonias grises brillantes de distinto tamaño, oxidasa positiva, compatibles con gonococo.
- Medio *Gardnerella*: Presencia de colonias β-hemolíticas puntiformes en gran cantidad: posiblemente *Gardnerella vaginalis*.
- Sabouraud: Presencia de levaduras.
- Caldo para *Trichomonas vaginalis*: una gota del caldo de cultivo se monta entre porta y cubreobjetos y se observa al microscopio para detectar tricomonas (con objetivos de 10X y 40X).

3. Identificación y pruebas de sensibilidad de los microorganismos:

- *Gardnerella vaginalis*: discos de metronidazol (50 mg) y sulfonamida (1 mg). También se puede utilizar para identificar *Gardnerella vaginalis* API CORYNE. No requiere estudio de sensibilidad a antibióticos.

- *Candida* sp: morfología colonial con las típicas prolongaciones en Agar sangre se identificará como *Candida albicans*. Si por el contrario, son colonias sin prolongaciones, hacer test del tubo germinal. Si este test es negativo se puede proceder a identificación completa. Puede requerir pruebas de sensibilidad a antifúngicos en casos determinados.

- *Streptococcus agalactiae* (SGB): colonias con pigmentación naranja en medio Granada. En agar sangre nalidíxico identificar por métodos establecidos para SGB, las colonias b-hemolíticas, catalasa negativa. Proceder identificación. No requiere estudios de sensibilidad rutinarios.

- *Trichomonas vaginalis*: morfología y movilidad típicas en caldo de cultivo específico.

- *Neisseria gonorrhoeae*: Diplococos Gram negativo, oxidasa positiva. Identificación de neisserias y pruebas de sensibilidad.

- Además, cualquier microorganismo (*S.pyogenes*, *S. pneumoniae*, *Haemophilus* sp, Enterobacterias, *S. aureus*, etc.) en cultivo puro en medios de cultivo y/o único observado en el examen microscópico de la muestra, es susceptible de su estudio correspondiente y valoración.

RESULTADOS E INFORME MICROBIOLÓGICO

-Si la tinción de Gram es indicativa de Vaginosis bacteriana se reflejará en el informe: "Tinción de Gram compatible con vaginosis bacteriana".

- Si la tinción de Gram es indicativa de flora alterada (sin llegar a vaginosis) se informará: "Flora vaginal alterada. Repetir".

- Si solo hay crecimiento de flora típica vaginal (morfofoto *Lactobacillus*), se informará como: “Flora habitual”.
- Si hay crecimiento de algún o algunos de los gérmenes considerados patógenos: “Crecimiento escaso, moderado o abundante de ...”.
- En los casos necesarios, se indicará: “Valorar clínicamente”.

EXUDADOS VAGINO-RECTALES PARA DESPISTAJE DE PORTADORAS DE *Streptococcus agalactiae*

OBJETIVO DEL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO

Detectar embarazadas portadoras recto- vaginales de SGB para profilaxis de infección neonatal

TIPO DE PROCEDIMIENTO

Cultivo- Despistaje de *Streptococcus agalactiae* (SGB).

TOMA DE MUESTRAS

Muestras vagino-rectales: Se toman en gestantes entre las semanas 35 y 37 de gestación. Primero se introduce el escobillón en la vagina, se rota por la pared vaginal unos segundos y a continuación, ese mismo escobillón se introduce en el recto, procediendo de igual forma que en la vagina.

CONSERVACIÓN Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA

El envío de la muestra al laboratorio debe ser lo más rápidamente posible.

CRITERIOS DE RECHAZO.

Los contemplados para las muestras vaginales.

PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Hay tres métodos:

Método A: Introducir directamente el escobillón en tubo de medio de Granada e incubar a 37°C.

Método B: Sembrar directamente el escobillón en placa de medio de Granada e incubar en anaerobiosis a 37°C o poner sobre la siembra un cubre e incubar en

aerobiosis a 37°C.

Método C: Introducir el escobillón para enriquecimiento en BHI caldo selectivo con antibióticos y subcultivar a las 18-24 horas de incubación a Agar sangre nalidíxico que será incubado en atmósfera de CO₂ a 37°C ó a placa de Granada con las mismas condiciones de incubación que en las contempladas en el método B.

EXAMEN DE LA MUESTRA

Método A y B: Se examinan los tubos ó las placas a las 18 h y se observa la formación de pigmento naranja en el medio de cultivo indicativo de presencia de SGB. Los tubos o placas negativos se reincuban hasta las 48 h.

Método C: Se examinan las placas de Granada para presencia de colonias naranjas o las de agar sangre nalidíxico para presencia de colonias β-hemolíticas catalasa negativa y se procede a identificación de SGB por métodos establecidos.

RESULTADOS E INFORME MICROBIOLÓGICO

Se informará como: “No se aísla *Streptococcus agalactiae*” □ o “Se aísla *Streptococcus agalactiae*”.