



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA

Tesis Doctoral en Bioquímica

**Ecología de la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres
de la ciudad de Bahía Blanca**

Bioquímico Marcelo R. Occhionero

Director: Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin

Co-Director: Dr. Sixto Raúl Costamagna

Bahía Blanca

Argentina

2014

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Bioquímica, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el ámbito del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, durante el período comprendido entre noviembre de 2006 y noviembre de 2014, bajo la dirección del Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin, Universidad de Buenos Aires y la co-dirección del Dr. Sixto Raúl Costamagna, Universidad Nacional del Sur.

Bahía Blanca, noviembre de 2014.

Bioq. Marcelo Occhionero



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

Secretaría General de Posgrado y Educación Continua

La presente tesis ha sido aprobada el/..../..... , mereciendo la calificación de(.....)

*A mi esposa, a mis hijos
y a la memoria de mi padres*

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Marcelo Rodríguez Fermepin por abrirme las puertas de la “Unidad de Estudios de *Chlamydia* y otras infecciones del tracto genital” de la UBA, por darme la oportunidad de desarrollar esta tesis, y por su incansable dedicación.

Al Dr. Raúl Costamagna por su estímulo y acompañamiento, por estar siempre dispuesto a darme un consejo y una palabra de amigo.

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la UNS por brindarme el apoyo institucional y el espacio para trabajar.

A las Dras. Carolina Entrocassi y Lucia Gallo Vaulet por sus enseñanzas y por el tiempo compartido.

A la Dra. Laura Paniccia por haberme ayudado a dar los primeros pasos en este trabajo y por su apoyo incondicional en los momentos difíciles.

A mis compañeros de la Cátedra Gabriela Rossi, Dina Pedersen y Héctor Mazzucchini por toda su colaboración.

A las Profesoras Haydeé Benassati y Liliana Marfil por haberme iniciado en el camino de la Microbiología.

A la Profesora Magdalena Valea por su por su ayuda en la diagramación de esta tesis.

A mi esposa por su comprensión y por aceptar tantas horas de ausencia.

A mis hijos Cristian, Antonella y Fiorella por entender lo que hago.

Ecología de la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres de la ciudad de Bahía Blanca

El objetivo general de esta tesis fue avanzar en el estudio de la relación patógeno-hospedador-ecosistema de la infección por *C. trachomatis* en mujeres de la ciudad de Bahía Blanca, para poder favorecer medidas de control y prevención eficaces.

Las poblaciones estudiadas fueron mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público (n=295), trabajadoras sexuales (n=143) y jóvenes ingresantes universitarios de ambos sexos (n=204). La prevalencia de infección por *C. trachomatis* fue mayor en las trabajadoras sexuales que en las estudiantes universitarias (6,29 % y 5,88 % respectivamente). La menor prevalencia se observó en las mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público (3,05 %). En este grupo, la frecuencia de infección fue mayor en las mujeres asintomáticas (4,35 %) que en las sintomáticas (2,65 %). Entre las muestras positivas para *C. trachomatis* el genotipo E fue el de mayor circulación, seguido por el D y el F.

La presencia de *C. trachomatis* se asoció significativamente con la menor edad, el mayor número de parejas sexuales, el cambio reciente de pareja, la alteración de la microbiota habitual vaginal y la presencia de reacción inflamatoria vaginal.

En las trabajadoras sexuales y en las mujeres sintomáticas y asintomáticas, la vaginosis bacteriana fue el estado patológico más frecuente y la trichomonosis la ITS más prevalente. La frecuencia de otras infecciones genitales como candidiasis y sífilis fue baja. No se detectaron casos de infección por *N. gonorrhoeae* ni serología positiva para HIV.

En las jóvenes universitarias, los factores de riesgo para la adquisición de ITS fueron el inicio temprano de las relaciones sexuales, la baja utilización del preservativo y la falta de consulta a los profesionales especializados, los cuales alertan sobre la necesidad de incrementar la vigilancia en esta población.

Los resultados muestran la necesidad de profundizar el estudio de las infecciones genitales, y en particular las causadas por *C. trachomatis*, en las mujeres jóvenes, independientemente de la sintomatología, y encarar programas de prevención de ITS, especialmente en las poblaciones más vulnerables.

Palabras clave: *Chlamydia trachomatis*, ITS, trichomonosis, vaginosis bacteriana, candidiasis, sífilis, HIV, trabajadoras sexuales, jóvenes universitarios.

**Ecology of infection by *Chlamydia trachomatis* in women
of the city of Bahía Blanca**

The general aim of this thesis was to advance in the study of the pathogen-host-ecosystem relation of infection by *C. trachomatis* in women of the city of Bahía Blanca, to promote effective control and prevention measures.

The studied populations were symptomatic and asymptomatic women treated in a public hospital (n=295), female sex workers (n=143) and young college students of both sex (n=204). The prevalence of infection by *C. trachomatis* was higher in female sex workers than in college students (6.29% y 5.88 % respectively). The lower prevalence was observed in symptomatic and asymptomatic women treated in a public hospital (3.05%). In this group, the frequency of infection was higher in asymptomatic women (4.35%) than in the symptomatic women (2.65%). Between the positives samples for *C. trachomatis*, the E genotype was the one with most circulation, followed by genotypes D and F.

The presence of *C. trachomatis* was significantly associated with lower ages, bigger number of sexual partners, the recent change of partner, the alteration of the normal vaginal microbiota and the presence of vaginal inflammatory reaction.

In female sex workers, and in symptomatic and asymptomatic women, the bacterial vaginosis was the most frequent pathological state and the trichomonosis was the most prevalent STI. The frequency of other genital infections such as candidiasis and syphilis was low. There were no cases detected of infection by *N. gonorrhoeae* or positive serology for HIV.

In young college students, the risks factors for the acquisition of STI were the early beginning of sexual intercourse, low utilization of condom and the lack of consultation to specialized professional, which alert about the need of increase the surveillance in this population.

The results show the need of deepen the study of genital infections, and particularly the ones caused by *C. trachomatis*, in young women, independently of

the symptomatology, and encourage STI prevention programs, especially in the most vulnerable populations.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, STI, trichomonosis, bacterial vaginosis, candidiasis, syphilis, HIV, female sex workers, young college students.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Generalidades de los miembros del orden <i>Chlamydiales</i>	2
1.2. Historia y evolución taxonómica	3
1.3. <i>Chlamydia trachomatis</i>	8
1.3.1. Biodiversidad y evolución taxonómica de la especie <i>C. trachomatis</i> ..	8
1.3.2. Ciclo de crecimiento poblacional	9
1.3.3. Infecciones por <i>Chlamydia trachomatis</i>	14
1.3.3.1. Tracoma	14
1.3.3.2. Infecciones genitales en la mujer	14
1.3.3.3. Infecciones genitales en el hombre	15
1.3.3.4. Infecciones en el recién nacido	15
1.3.3.5. Proctitis	16
1.3.3.6. Conjuntivitis del adulto	16
1.3.3.7. Linfogranuloma venéreo (LGV)	16
1.3.4. Diagnóstico de laboratorio de <i>C. trachomatis</i>	17
1.3.5. Tratamiento de la infección genital por <i>C. trachomatis</i>	23
2. ANTECEDENTES	25
2.1. Situación epidemiológica de la infección por <i>C. trachomatis</i>	25
2.2. Situación epidemiológica en Estados Unidos de Norteamérica	25
2.3. Situación epidemiológica en Europa	30
2.4. Situación epidemiológica en Australia	32
2.5. Situación epidemiológica en América Latina	35
2.6. Situación epidemiológica en la República Argentina	38
3. HIPOTESIS	43
4. OBJETIVOS	44
4.1. OBJETIVO GENERAL	44
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES	44
5. MATERIALES Y MÉTODOS	45
5.1. Poblaciones estudiadas y muestras analizadas	45
5.1.1. Toma de muestra de fondo de saco vaginal	45
5.1.2. Hisopado endocervical	46

5.1.3.	Orina de primera fracción	46
5.2.	Detección de <i>Chlamydia trachomatis</i>	47
5.2.1.	Procedimiento para la amplificación	47
5.2.2.	Visualización de los resultados.....	48
5.2.3.	Genotipificación de cepas de <i>Chlamydia trachomatis</i>	49
5.3.	Determinación del estado de Vaginosis Bacteriana.	50
5.3.1.	Examen en fresco.....	50
5.3.2.	Coloración de Gram.....	51
5.3.3.	Coloración de Giemsa	54
5.4.	Determinación de la Reacción Inflamatoria Vaginal (RIV).....	55
5.5.	Reconocimiento de Estados Vaginales Básicos	55
5.6.	Determinación del pH vaginal	56
5.7.	Detección de <i>Trichomonas vaginalis</i>	57
5.8.	Detección de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	57
5.9.	Detección de <i>Candida</i> spp.	58
5.10.	Pruebas serológicas.....	58
5.11.	Análisis estadístico.....	59
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
6.1.	Capítulo I: Infección por <i>C. trachomatis</i> en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público.....	60
6.1.1.	Introducción	60
6.1.2.	Población y muestras	65
6.1.3.	Resultados.....	65
6.1.4.	Discusión	75
6.2.	Capítulo II: Infección por <i>C. trachomatis</i> en trabajadoras sexuales.	85
6.2.1.	Introducción	85
6.2.2.	Población y muestras	88
6.2.3.	Resultados.....	88
6.2.4.	Discusión	99
6.3.	Capítulo III: Infección por <i>C. trachomatis</i> en ingresantes universitarios	107
6.3.1.	Introducción	107
6.3.2.	Población y muestras	109
6.3.3.	Resultados.....	110

6.3.4. Discusión	117
7. CONCLUSIONES.....	122
8. PRODUCCION CIENTÍFICA DERIVADA DE ESTA TESIS.....	124
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	127
10. ANEXOS.....	154

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dibujos de Halberstaedter y Prowazek. 1907.....	3
Figura 2. Clasificación tradicional del orden Chlamydiales.....	5
Figura 3. Nueva clasificación propuesta del orden <i>Chlamydiales</i>	6
Figura 4. Principales diferencias entre <i>C. trachomatis</i> , <i>C. psittaci</i> y <i>C. pneumoniae</i>	7
Figura 5. Biotipos y serotipos de <i>C. trachomatis</i> y patologías asociadas	9
Figura 6. Contenido de una inclusión madura de <i>C. trachomatis</i>	10
Figura 7. Células LLCMK2 infectadas por <i>C. trachomatis</i> coloreadas por Giemsa	12
Figura 8. Células LLCMK2 infectadas por <i>C. trachomatis</i> y teñidas por IF.	12
Figura 9. Ciclo de crecimiento poblacional de clamidias	13
Figura 10. Sensibilidad analítica de las distintas metodologías diagnósticas (Black, 1997).	22
Figura 11. Nuevos casos estimados de infecciones de transmisión sexual curables (gonorrea, clamidia, sífilis y tricomoniasis) por región de la OMS, 2008	25
Figura 12. <i>C. trachomatis</i> , tasas por estados y áreas periféricas, EEUU, 2012. .	27
Figura 13. <i>C. trachomatis</i> , tasas de infección por sexo, EEUU, 1992-2012.	28
Figura 14. <i>C. trachomatis</i> , tasas por edad y sexo, EEUU, 2012.....	29
Figura 15. <i>C. trachomatis</i> , tasas por grupo étnico, EEUU, 2008-2012	29
Figura 16. Número de casos de <i>C. trachomatis</i> por 100.000 habitantes, Europa, 2011	30
Figura 17. Edad y tasa de casos reportados de <i>C. trachomatis</i> por cada 100.000 habitantes en función de género, 2011, Unión Europea.	31
Figura 18. Casos de <i>C. trachomatis</i> por grupos de edad, 2000 y 2011, países de la Unión Europea con reportes consistentes.	32
Figura 19. Tasas y número de casos notificados de infección por <i>C. trachomatis</i> , Australia, 2010.	33
Figura 20. Tasas de infección por <i>C. trachomatis</i> según sexo	34
Figura 21. Tasas de infección por <i>C. trachomatis</i> en personas de 10 a 39 años de edad, según sexo, años y grupos de edad, Australia, 2010.....	34

Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa 1,5 % de los productos de amplificación PCR-MOMP.....	48
Figura 23. <i>Trichomonas vaginalis</i> : observación en fresco con solución fisiológica (400X).	57
Figura 24. <i>Trichomonas vaginalis</i> : coloración de Giemsa (1000X).....	57
Figura 25. Distribución de genotipos de <i>C. trachomatis</i> en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca	68
Figura 26. Frecuencia de infecciones por <i>C. trachomatis</i> , <i>T. vaginalis</i> , <i>Candida</i> spp., y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca (n=295).	70
Figura 27. Prevalencia de <i>C. trachomatis</i> , <i>T. vaginalis</i> y sífilis en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca.	89
Figura 28. Prevalencia de ITS y Vaginosis Bacteriana en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca.	90
Figura 29. Cantidad de muestras recolectadas y muestras positivas para <i>C. trachomatis</i> , según los meses de estudio	91
Figura 30. Distribución de genotipos de <i>C. trachomatis</i> en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca	91

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Casos de infecciones por <i>C. trachomatis</i> reportados por los Departamentos de Salud Estatales y tasas por 100.000 habitantes, EEUU, 1992-2012.	26
Tabla 2. Prevalencia de la infección genital por <i>C. trachomatis</i> en América Latina por país (1997-2013).	35
Tabla 3. Prevalencia de la infección genital por <i>C. trachomatis</i> en la República Argentina (1994-2012).	38
Tabla 4. Supuraciones genitales gonocócicas y no gonocócicas en la República Argentina, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). Casos y tasas acumuladas por 100.000 habitantes, hasta la 52° semana epidemiológica, años 2010-2012.	40
Tabla 5. Supuraciones genitales no gonocócicas y sin especificar en la República Argentina, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). Casos y tasas notificadas cada 100.000 habitantes, según provincia y región, hasta la 51° semana epidemiológica,.....	40
Tabla 6. Interpretación de la coloración de Gram para generar el valor numérico	53
Tabla 7. Estados vaginales básicos.....	56
Tabla 8. Características de las mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistieron al HMALL de Bahía Blanca desde mayo de 2006 a mayo de 2007.	66
Tabla 9. Prevalencia de ITS, <i>Candida</i> spp. y vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca (n = 295).	69
Tabla 10. Frecuencia de infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.	69
Tabla 11. Factores asociados a sintomatología urogenital en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.	70
Tabla 12. Factores de riesgo asociados a infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.....	72
Tabla 13. Asociaciones microbianas y relación con la presencia de síntomas en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.	73
Tabla 14. Frecuencia de Estados Vaginales Básicos y detección de <i>C. trachomatis</i> , <i>T. vaginalis</i> y <i>Candida</i> spp.	74

Tabla 15. Estados Vaginales Básicos y detección de <i>C. trachomatis</i> , <i>T. vaginalis</i> y <i>Candida</i> spp., según la presencia de síntomas.....	74
Tabla 16. Relación entre la edad de las trabajadoras sexuales y la presencia de <i>C.trachomatis</i> , vaginosis bacteriana y <i>T. vaginalis</i>	92
Tabla 17. Características sociodemográficas de las trabajadoras sexuales controladas en el HMALL de Bahía Blanca.....	93
Tabla 18. Características gineco-obstétricas de las trabajadoras sexuales controladas en el HMALL de Bahía Blanca.....	95
Tabla 19. Características relacionadas con el trabajo sexual de las mujeres controladas en el HMALL de Bahía Blanca.....	96
Tabla 20. Estados Vaginales Básicos en trabajadoras sexuales de B. Blanca y su relación con las infecciones por <i>C. trachomatis</i> y <i>T. vaginalis</i>	98
Tabla 21. Relación entre la reacción inflamatoria vaginal (RIV) y la presencia ...	98
Tabla 22. Características demográficas y de actividad sexual en alumnos ingresantes a la UNS, según género.....	112
Tabla 23. Descripción de la última relación sexual en cuanto a: prácticas realizadas y utilización del preservativo en ingresantes a la UNS, según género	114
Tabla 24. Factores de riesgo para la adquisición de ITS en ingresantes universitarios, según género	115
Tabla 25. Factores de riesgo relacionados con la infección por <i>C. trachomatis</i> en ingresantes a la UNS	116

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMMAR	Asociación de Mujeres Meretrices de la Argentina
AMT	Amplificación Mediada por Transcripción
ARN	Ácido ribonucleico
ATP	Trifosfato de adenosina (<i>Adenosine TriPhosphate</i>)
BACOVA	Balance del contenido vaginal
CDC	Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (<i>Center for Disease Control</i>)
CE	Cuerpo Elemental
CR	Cuerpo Reticulado
DIU	Dispositivo intrauterino
EIA	Análisis inmunoenzimáticos
ELISA	Enzimoimmunoensayo (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)
EPI	Enfermedad Inflamatoria Pélvica
EEUU	Estados Unidos de América
EVBs	Estados Vaginales Básicos
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
HIV	Virus de la Inmunodeficiencia Humana (<i>Human Immunodeficiency Virus</i>)
HPV	Virus Papiloma Humano (<i>Human Papiloma Virus</i>)
IFD	Inmuofluorescencia directa
IG	Infección genital
IgM	Inmunoglobulina M
IRS	Inicio de relaciones sexuales
ITS	Infecciones transmisibles sexualmente
LCR	Reacción en Cadena de la Ligasa (<i>Ligase Chain Reaction</i>)
LGV	linfogranuloma venéreo
LPS	Lipopolisacárido
MI	Microbiota Intermedia
MIF	Microinmunofluorescencia
MN	Microbiota Normal

MOMP	Proteína principal de la membrana externa (<i>Major Outer Membrane Protein</i>)
NNDSS	<i>National Notifiable Diseases Surveillance System</i>
OIM	Organización Internacional para las Migraciones
OMS	Organización Mundial de la Salud
OR	<i>Odds Ratio</i>
PCR	Reacción en Cadena de la Polimerasa (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
PLT	Psitacosis-Linfogranuloma venéreo-Tracoma
RFLP	Polimorfismo de Longitud de los Fragmentos de Restricción (<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>).
RIV	Reacción Inflamatoria Vaginal
rRNA	Ácido ribonucleico ribosomal
SIDA	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SINAVE	Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica
TAAN	Tecnología de amplificación de ácidos nucleicos
TBE	Buffer solución de tris- borato-EDTA
TEMED	Tetrametiletilendiamina
TNF	Factor de Necrosis Tumoral (<i>Tumor Necrosis Factor</i>)
TPHA	Prueba de hemaglutinación de <i>Treponema pallidum</i> (<i>Treponema pallidum Hemagglutination</i>)
TRIC	Tracoma y Conjuntivitis de Inclusión
TV	<i>Trichomonas vaginalis</i>
UNS	Universidad Nacional del Sur
UV	Luz ultravioleta
VB	Vaginosis Bacteriana
VDRL	<i>Venereal Disease Research Laboratory</i>
VMI	Vaginitis Microbiana Inespecífica
VN	Valor de Nugent
WAAVP	<i>World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology</i>
WB	<i>Western Blot</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

1. INTRODUCCIÓN

Chlamydia trachomatis es considerada en la actualidad una de las causas más frecuentes de infecciones transmisibles sexualmente a nivel mundial.

La infección por *C. trachomatis* del tracto genital femenino puede producir cervicitis crónica, enfermedad inflamatoria pélvica, endometritis y uretritis, aunque un gran número de casos pueden cursar la forma asintomática. Las complicaciones más frecuentes son la infertilidad, el embarazo ectópico, la ruptura prematura de membranas y las infecciones puerperales y del recién nacido (Smith y Taylor-Robinson, 1993; Claman *et al.*, 1995; Paavonen y Lehtinen, 1996; Stamm *et al.*, 1999). La manifestación clínica más frecuente en los hombres es la uretritis no gonocócica (Bébéar *et al.*, 2009).

En la República Argentina los datos de prevalencia de la infección por *C. trachomatis* son escasos y variados, debido principalmente a diferencias en el tipo de estudio realizado, la metodología diagnóstica empleada y la población analizada. En la ciudad de Bahía Blanca, en particular, no existen datos epidemiológicos de esta infección, razón por la cual es necesario realizar un mayor número de investigaciones para avanzar en el conocimiento de las infecciones por *C. trachomatis* en términos de frecuencia, transmisión, complicaciones y factores de riesgo asociados.

Para comprender el alcance de este trabajo de tesis es necesario recordar que la ecología se define como el estudio de las interacciones entre los organismos y entre estos y el ambiente que los rodea. La suma total de los elementos que interactúan se denomina ecosistema. La ecología de las enfermedades infecciosas es particularmente interesante, ya que uno de los elementos del sistema es el hombre, que es afectado por el medio externo, y a su vez sirve de ambiente para los microorganismos.

El estudio de la ecología de la infección por *C. trachomatis* permite, además del análisis epidemiológico, una discusión más profunda e integradora de ciertos aspectos del tema, tales como identificar la magnitud del problema y la frecuencia en diferentes grupos, describir la presencia de sintomatología en la población afectada, determinar los factores fisiológicos y no fisiológicos asociados, evaluar la relación con otros agentes responsables de ITS y con los

miembros de la microbiota habitual vaginal, y desarrollar medidas preventivas y de control.

1.1. Generalidades de los miembros del orden *Chlamydiales*

Los miembros del orden *Chlamydiales* son bacterias de crecimiento intracelular obligado en células eucariotas, que desarrollan su división celular dentro de endosomas citoplasmáticos denominados “inclusiones”. Poseen un ciclo de vida bifásico con dos formas funcional y metabólicamente distintas denominadas cuerpo elemental y cuerpo reticular (Schachter, 1989).

El orden *Chlamydiales* pertenece al dominio Bacteria (Storz *et al.*, 1971) y está integrado actualmente por las familias *Chlamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae* y *Waddliaceae*, con sus respectivos géneros y especies (Everett *et al.*, 1999). Sus integrantes comparten más del 80 % de similitud en las secuencias de los rRNA de 16S y 23S.

Las clamidias (denominación en español para los miembros de este orden) poseen una membrana externa separada de la membrana citoplasmática por un espacio periplasmático variable, la cual se asemeja a la pared celular de las bacterias Gram negativas. Al parecer su pared carece del ácido n-acetilmurámico. El tamaño del genoma de las especies de *Chlamydia* es muy pequeño (Stephens *et al.*, 1998), y oscila entre 1,042 Mpb en *C. trachomatis* a 1,230 Mpb en *C. pneumoniae* (Rodríguez-Domínguez *et al.*, 2014).

Las bacterias de este orden se encuentran ampliamente distribuidas en la naturaleza. Se las ha detectado prácticamente en toda clase de hospedadores, pudiéndose mencionar su asociación a infecciones de vertebrados superiores e inferiores, invertebrados y protozoarios. En estos últimos probablemente como simbioses (Fritsche *et al.*, 2000; Corsaro *et al.*, 2006).

Algunas especies como *Chlamydia trachomatis*, son patógenos exclusivamente humanos, otras son compartidas por humanos y animales, como es el caso de *Chlamydia pneumoniae*, y otras son principalmente patógenos animales, infectando al hombre en forma ocasional como *Chlamydia psittaci* (Schachter, 1989).

1.2. Historia y evolución taxonómica

Los primeros informes acerca de la presencia de clamidias en patologías infecciosas se remontan al antiguo Egipto y en manuscritos chinos, donde se describe una enfermedad de los ojos humanos semejante al “tracoma”, enfermedad que en la actualidad se sabe es causada por los serotipos A, B, Ba y C de *Chlamydia trachomatis*.

En 1907, los austríacos Halberstaedter y Prowazek, durante sus trabajos en la isla de Java, describen la transmisión del tracoma de hombres a orangutanes mediante la inoculación de sus ojos con raspados conjuntivales. Ellos encontraron, en las células epiteliales de las muestras conjuntivales teñidas con Giemsa, vacuolas intracitoplasmáticas (inclusiones) conteniendo numerosas partículas diminutas (cuerpos elementales) y de mayor tamaño (cuerpos reticulados) que asociaron correctamente con el agente causal del tracoma.

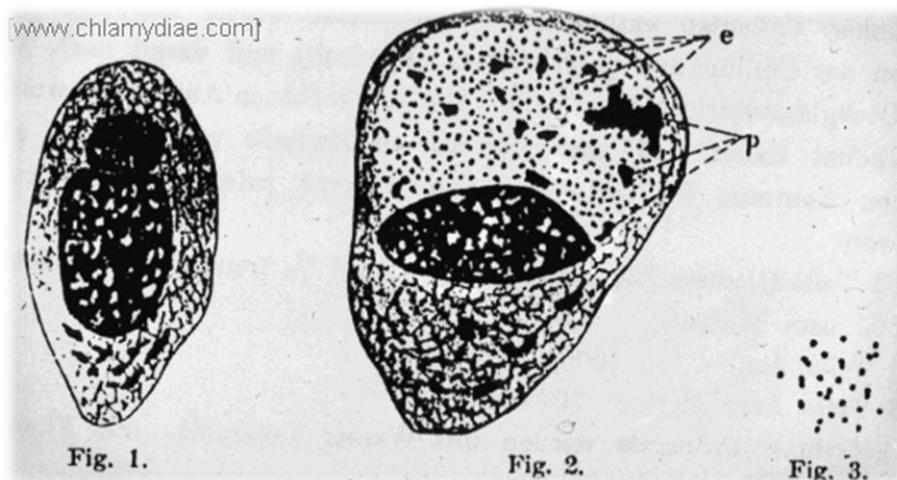


Figura 1. Dibujos de Halberstaedter y Prowazek de una célula normal de epitelio conjuntival (izquierda), una célula infectada (centro) y partículas clamidiales libres (derecha). 1907.

Estos organismos así descubiertos fueron considerados protozoarios intracelulares y denominados *Chlamydozoa* (del griego khlamus: manto, capa) debido a las manchas azules observadas rodeando al núcleo celular (Collier LH, 1990). Si bien esta consideración no es correcta, se mantiene la raíz del nombre griego en homenaje a los trabajos de estos investigadores.

Posteriormente, fueron observadas inclusiones similares en células conjuntivales de recién nacidos con oftalmia no gonocócica, en el cuello uterino

de algunas de sus madres y en el epitelio uretral de pacientes masculinos con uretritis no gonocócica. De esta forma, se llegó a la conclusión que el tracoma, la conjuntivitis de inclusión del recién nacido y la infección del tracto genital de los adultos eran causadas por agentes infecciosos similares. La capacidad de estos agentes de atravesar los filtros de esterilización y la incapacidad de crecer en medios artificiales llevó erróneamente a los investigadores de la época a considerarlos como virus.

En 1929 y 1930, en Europa y principalmente en Alemania, se produjeron numerosos brotes de una neumonía grave y atípica adquirida de aves psitácidas (loros, papagayos, etc.) que se denominó psitacosis. Estos brotes estimularon los trabajos de varios investigadores que en forma independiente describieron diminutas partículas basófilas en muestras coloreadas con Giemsa de sangre y tejidos de aves infectadas y pacientes humanos. Fue Bedson quien demostró la relación causal de estas partículas con la psitacosis y el que definió el ciclo de desarrollo que actualmente caracteriza a todos los miembros del orden *Chlamydiales*. Bedson se refirió a este agente como “un parásito intracelular obligado con características bacterianas”, concepto que no fue aceptado hasta 30 años después.

En 1934 el oftalmólogo Thigeson destacó las semejanzas entre el desarrollo y la morfología de las inclusiones observadas en el tracoma, la conjuntivitis de inclusión y la psitacosis. El hallazgo de un antígeno común, detectado por fijación de complemento, reforzó la idea de que estos agentes pertenecían al mismo grupo que los responsables del linfogranuloma venéreo (LGV) y de la neumonitis del ratón.

En 1931 el agente del LGV se cultivó en cerebro de mono, en 1935 el de la psitacosis en embriones de pollo y en 1957, el considerado por entonces “virus del tracoma”, fue aislado por primera vez en saco vitelino en China por Tang y sus colegas (Wang, 1999).

La relación causal de este organismo con el tracoma se demostró en 1958 mediante la inoculación en voluntarios humanos. Su papel etiológico en la conjuntivitis de inclusión y en la infección del tracto genital se confirmó mediante la inoculación en los ojos de voluntarios y babuinos.

Durante todo ese tiempo estas bacterias recibieron diferentes nombres, incluidos *Bedsonia*, *Miyagawanella*, *Halprowia*, agentes TRIC (Tracoma y Conjuntivitis de inclusión), agentes PLT (Psitacosis-Linfogranuloma venéreo-Tracoma), hasta su nombre actual (Storz *et al.*, 1971). El término *Chlamydia* apareció en la literatura en 1945.

Los primeros estudios moleculares demostraron la presencia de una organización procariota típica, con ADN, ARN y ribosomas propios que, junto con la sensibilidad a ciertos antibióticos, confirmaron su inclusión definitiva entre las bacterias (Moulder, 1984).

Una primera clasificación de estos organismos se basó en las diferentes patologías que producían y los hospedadores relacionados (biotipos), la cual fue evolucionando de acuerdo a características específicas.

De esta forma, en 1968 se propusieron las especies *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia psittaci* según la sensibilidad a la sulfamida y a la presencia de glucógeno en las inclusiones (Page, 1968). Posteriormente se aplicaron técnicas de hibridación de ADN en estos microorganismos, observándose la inmensa diversidad genética de *C. psittaci*, lo que permitió la separación de las especies *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia pecorum* (Grayston *et al.*, 1989; Fukushi *et al.*, 1992).

Clásicamente, la taxonomía del orden *Chlamydiales* se presentaba de la siguiente manera:

Orden	Familia	Género	Especies
<i>Chlamydiales</i>	<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>
			<i>Chlamydia psittaci</i>
			<i>Chlamydia pneumoniae</i>
			<i>Chlamydia pecorum</i>

Figura 2. Clasificación tradicional del orden *Chlamydiales*.

Debido a la gran diversidad entre los aislamientos de *C. psittaci*, la existencia de cepas murinas y porcinas de *C. trachomatis*, como así también la aparición de microorganismos de diferentes orígenes similares a las clamidias,

Everett encaró una revisión taxonómica del orden *Chlamydiales* proponiendo la inclusión de nuevas familias, nuevos géneros y el cambio de nombre en algunas especies (Everett *et al.*, 1999 y 2000) (Figura 3).

Los fundamentos en que se basa la nueva clasificación incluyen características fenotípicas, rango de hospedador, tipo de patologías asociadas y el análisis filogenético de la secuenciación de los genes del rRNA 23S, del 16S y de su espacio intergénico.

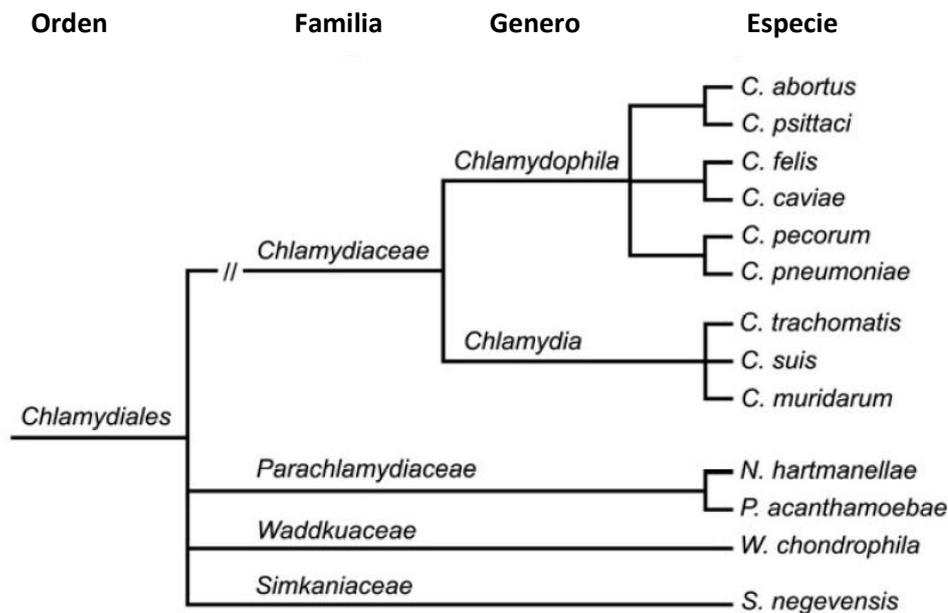


Figura 3. Nueva clasificación propuesta del orden *Chlamydiales*.

La familia *Chlamydiaceae* se caracteriza porque sus miembros presentan el mismo lipopolisacárido (LPS) en su membrana externa (Schachter *et al.*, 1980). Contiene dos géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* y nueve especies, las que comparten > 90% de similitudes en los genes 16S rRNA y 23S rRNA.

El género *Chlamydia* contiene tres especies: *C. trachomatis*, *C. muridarum* y *C. suis*, con > 97 % de similitud en las secuencias de sus 16S y 23S rRNAs.

C. trachomatis es un patógeno humano y contiene 18 serovariedades agrupadas en dos biovariedades: TRIC y linfogranuloma venéreo. *C. suis* infecta cerdos y *C. muridarum* infecta ratones y hámsteres. *Chlamydia* se distingue de

Chlamydomphila porque contiene glucógeno en sus inclusiones intracitoplasmáticas y su genoma es más pequeño que el de *Chlamydomphila*.

El género *Chlamydomphila* contiene seis especies. Una es *C. pneumoniae*, que contiene actualmente tres biovariedades: TWAR (Taiwan Acute Respiratory), patógeno humano, Equino, patógeno de los caballos y Koala, patógeno de marsupiales. Otras dos especies son *C. psittaci*, que incluye únicamente a las cepas patógenas de aves y *C. pecorum*. Las nuevas especies que aparecen en este género son *C. abortus*, *C. caviae* y *C. felis*, que corresponden a las biovariedades patógenas de rumiantes, felinos y cobayos respectivamente. Estas especies, a pesar de la diversidad de hospedadores y de algunas diferencias morfológicas de los corpúsculos elementales, tienen > 95 % de similitud en las secuencias de los 16S y 23S rRNAs.

En la Figura 4 se presenta una breve comparación entre las características de las especies que producen patología en humanos.

	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. psittaci</i>	<i>C. pneumoniae</i>
Hospedador o reservorio natural	Homme	Aves, mamíferos, otros animales	Homme y animales
Síndromes principales en humanos	Oculares Genitales	Respiratorios	Respiratorios
Transmisión	Sexual, neonatal, fómites	Aerosoles, excreciones	Aerosoles
Acúmulo de glucógeno en las inclusiones	Si	No	No
N° de serovars	18	8-10	1
Presencia de plásmidos	Muy frecuente	Variable	Biovar Equino
Presencia de fagos	No detectada	Si	Si

Figura 4. Principales diferencias entre *C. trachomatis*, *C. psittaci* y *C. pneumoniae*

1.3. *Chlamydia trachomatis*

C. trachomatis es una bacteria asociada a patologías humanas, principalmente infecciones oculares y genitales, no habiéndose detectado hasta el momento un reservorio animal.

Es el agente causal de la infección de transmisión sexual bacteriana más prevalente en países desarrollados. Es conocida como la enfermedad “silenciosa” porque el 75 % de las mujeres infectadas y casi el 50 % de los hombres son asintomáticos (Datta *et al.*, 2003), lo cual puede retrasar el diagnóstico, mantener la transmisión y aumentar el riesgo de secuelas a largo plazo.

El espectro clínico de las infecciones ginecológicas causadas por *C. trachomatis* incluye cervicitis, endometritis, uretritis, abscesos pélvicos, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), embarazo ectópico e infertilidad (Stamm *et al.*, 1999). Desde el punto de vista obstétrico y perinatal, la infección por *C. trachomatis* se ha asociado con aborto, retraso del crecimiento intrauterino, ruptura prematura de membranas, parto pretérmino, endometritis puerperal, y conjuntivitis y neumonía en el recién nacido (Sánchez *et al.*, 2006).

En los hombres, *C. trachomatis* es la principal causa de uretritis no gonocócica y post-gonocócica. Otros síndromes clínicos incluyen epididimitis, proctitis, conjuntivitis y síndrome de Reiter (uretritis, conjuntivitis, artritis y lesiones mucocutáneas). La infertilidad masculina, la prostatitis crónica y las estenosis uretrales son posibles consecuencias de la infección (Peipert, 2003).

1.3.1. Biodiversidad y evolución taxonómica de la especie

C. trachomatis

C. trachomatis, como se mencionó anteriormente, pertenece a la familia *Chlamydiaceae*. Inicialmente se la clasificó en tres biotipos: el biotipo de la neumonía murina (cepa MoPn), hoy separado como especie diferente (*C. muridarum*) y los biotipos LGV (linfogramuloma venéreo) y TRIC (tracoma, conjuntivitis de inclusión) exclusivamente en humanos.

Las características típicas de *C. trachomatis* dentro del género *Chlamydia* son la síntesis y acumulación de glucógeno en las inclusiones durante el ciclo de desarrollo y la sensibilidad a sulfamidas (Everett *et al.*, 1999).

En la década de 1980, mediante la utilización de anticuerpos monoclonales específicos contra los epitopes variables de la proteína principal de la membrana externa (MOMP), los biotipos LGV y TRIC fueron separados en 18 serotipos a los que se denominó con letras (Moulder, 1984; Wang *et al.*, 1985). La Figura 5 muestra la clasificación de *C. trachomatis* en biotipos y serotipos, y la patología asociada a cada uno de ellos.

BIOTIPOS	SEROTIPOS	PATOLOGÍAS ASOCIADAS
TRIC	A, B, Ba, C	Tracoma ocular
	D, Da, E, F,	Conjuntivitis de inclusión, uretritis,
	G, H, I, Ia, J, K	cervicitis e infecciones neonatales
LGV	L ₁ , L ₂ , L _{2a} , L ₃	Linfogranuloma venéreo

Figura 5. Biotipos y serotipos de *C. trachomatis* y patologías asociadas

Posteriormente, en la década de 1990 se estableció la clasificación en genotipos que concuerda con los serotipos previamente establecidos. Esta clasificación se basa en la diversidad de la secuencia del gen *ompA* que codifica la MOMP. La determinación del genotipo se puede realizar por secuenciación o por amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y posterior análisis del tamaño de los fragmentos obtenidos por tratamiento con enzimas de restricción (RFLP) (Lan *et al.*, 1993).

1.3.2. Ciclo de crecimiento poblacional

C. trachomatis, al igual que todas las especies de clamidias, presenta un ciclo de crecimiento donde se alternan dos estadios metabólicamente diferentes, que se evidencian como dos organizaciones celulares morfológicamente distintas: el Cuerpo Elemental (CE) y el Cuerpo Reticulado (CR) (Schachter, 1989).

Los CE son estructuras redondeadas diminutas, infecciosas, rígidas, resistentes a la ruptura de los puentes disulfuro de las proteínas de la capa externa de la membrana; se liberan cuando la célula hospedera infectada se lisa. Tienen un tamaño de 200 a 400 nm y son electrodensos al microscopio electrónico. Contienen RNA y DNA en relación 1:1. No tienen actividad metabólica y no se pueden replicar.

Los CR en cambio, son frágiles, polimórficos y resultan de la diferenciación de los CE al ser fagocitados. Tienen aspecto granular al microscopio electrónico y mayor tamaño, de 500 a 800 nm. Su relación RNA:DNA es 3:1. No son infecciosos, tienen actividad metabólica y son capaces de replicarse.

Los nombres de cuerpo elemental y cuerpo reticulado asignados a estas dos formas polares están relacionados con el aspecto que presentan cuando se los visualiza con microscopía electrónica (Figura 6).

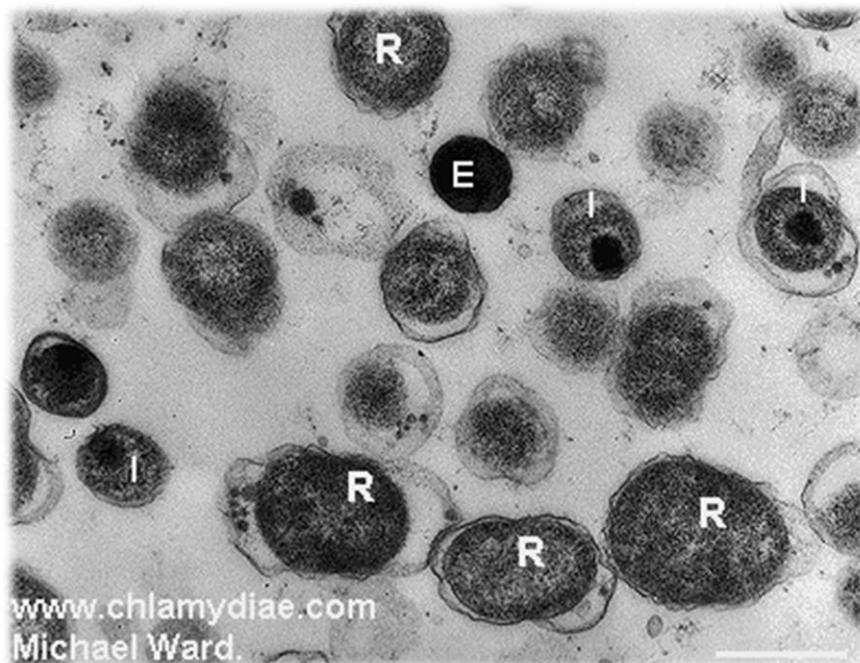


Figura 6. Contenido de una inclusión madura de *C. trachomatis*, 40 horas después de la infección de una célula HeLa 229. La imagen muestra los cuerpos reticulares (R) grandes y frágiles, los cuerpos intermedios (I) más pequeños y los cuerpos elementales (E) ligeramente menores. La barra representa 1 micrón. Microfotografía electrónica de Michael Ward, extraída de www.chlamydiae.com.

El ciclo de crecimiento poblacional de clamidias consta de las siguientes etapas (Rodríguez Fermepin *et al.*, 2006):

a) **Adhesión:** el ciclo de multiplicación comienza con la adhesión del CE, que es la forma de sobrevivida extracelular, infectiva y metabólicamente inactiva, al receptor de una célula eucariota.

b) **Ingreso:** el CE es internalizado y una vez en el interior de la célula, la vacuola fagocítica es movilizadada hasta la zona perinuclear y evade la fusión con los lisosomas.

Si los CE son previamente inactivados por calor o luz ultravioleta, su incorporación es mucho menor, por lo que debe asignarse a los CE viables algún factor activo en la internalización celular (Moulder, 1991).

Se utiliza el término endocitosis para designar este proceso, dado que las clamidias poseen la capacidad de inducirlo aún en células no especializadas en fagocitosis, como las epiteliales.

c) **Diferenciación a CR:** posteriormente, este cuerpo compacto y pequeño (200-400 nm) que es el CE evoluciona a una forma laxa y de mayor tamaño (500-800 nm): el Cuerpo Reticulado.

La vacuola donde se desarrolla este proceso de transformación del CE a CR recibe el nombre de "inclusión" y es el lugar donde se llevarán a cabo los restantes pasos del ciclo.

El CR a diferencia del CE no es infectivo, fuera del ambiente de la inclusión es osmóticamente frágil y pierde su viabilidad.

d) **Multiplicación:** dentro de la inclusión el CR desarrolla su actividad metabólica y se divide por fisión binaria generando un crecimiento poblacional logarítmico. Por ello, la inclusión aumenta de tamaño hasta ocupar la mayor parte del citoplasma, llegando a desplazar el núcleo hacia la periferia celular (Figuras 7 y 8).

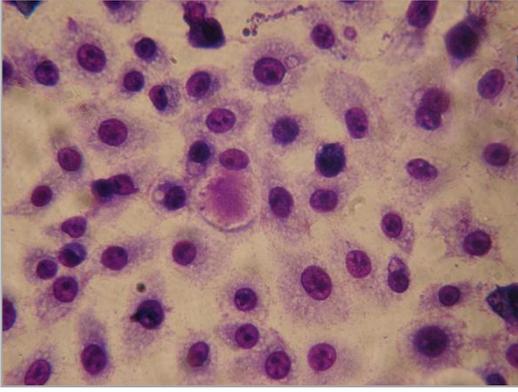


Figura 7. Células LLCMK2 infectadas por *C. trachomatis* coloreadas por Giemsa

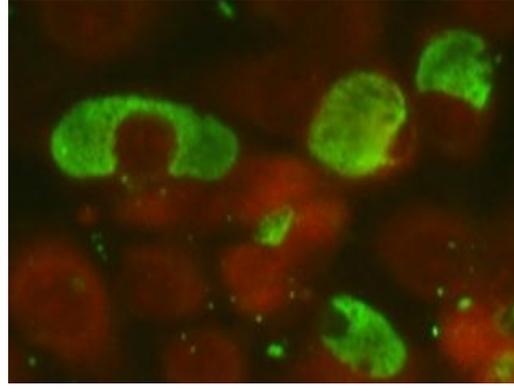


Figura 8. Células LLCMK2 infectadas por *C. trachomatis* y teñidas por IF.

e) **Maduración a CR:** después de varias horas de crecimiento y cuando la inclusión alcanza un número máximo de CR, la mayoría maduran a CE, probablemente por el agotamiento de nutrientes y ATP.

f) **Liberación de CEs:** los nuevos CE son liberados de la célula por lisis o por extrusión de la inclusión, con sobrevivencia de la célula infectada, comenzando el ciclo nuevamente.

La duración de este ciclo de desarrollo varía, según la especie de clamidia y el número de inclusiones por célula hospedadora. En cultivos celulares infectados con *C. trachomatis* el ciclo completo dura entre 36 y 72 horas, pudiendo ser más corto en *C. psittaci* y más extenso en *C. pneumoniae*.

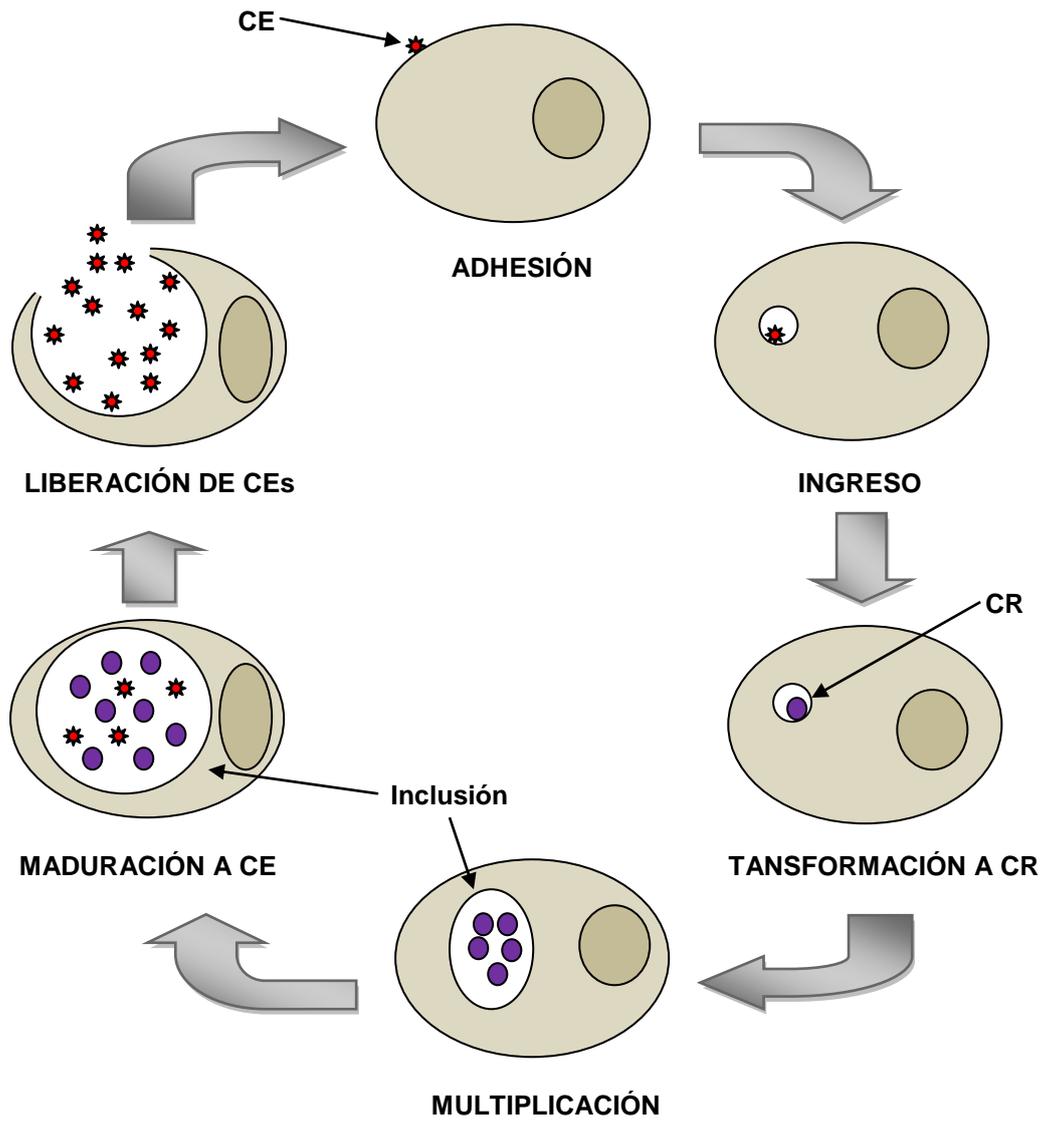


Figura 9. Ciclo de crecimiento poblacional de clamidias

1.3.3. Infecciones por *Chlamydia trachomatis*

1.3.3.1. Tracoma

Esta enfermedad, producida por los serotipos A, B, Ba y C de *C. trachomatis*, es una conjuntivitis crónica con una marcada reacción folicular y una hipertrofia papilar de la conjuntiva.

Las formas graves se dan a partir de sucesivas reinfecciones, principalmente con serotipos diferentes del original, que generan una reacción inflamatoria más agresiva, y por lo tanto un daño mayor (Rodríguez Fermepin *et al.*, 2006).

La necrosis de los folículos suele producir cicatrices en la conjuntiva, ocasionando una deformación con inversión de los párpados (entropión) y un crecimiento anormal de las pestañas hacia el ojo (trichiasis). Las lesiones corneales que se producen agravan el cuadro inicial con úlceras recidivantes, alteración del flujo lacrimal y la función glandular, lo que aumenta la posibilidad de sobre-infecciones bacterianas (Arango *et al.*, 2001). Todos estos factores coadyuvan a la pérdida de la visión.

1.3.3.2. Infecciones genitales en la mujer

La manifestación clínica más frecuente de la infección por *C. trachomatis* en la mujer es la cervicitis, que puede estar acompañada o no de uretritis. Aproximadamente el 70 % de las mujeres infectadas no tienen síntomas, mientras que en el tercio restante las evidencias clínicas son poco específicas: aumento del flujo genital, dolor abdominal o pélvico, sangrado y/o disuria (Bébéar *et al.*, 2009).

Los causantes de infección genital son los serotipos D a K. El serotipo E es el más frecuente y altamente asociado a casos de inflamación cervical asintomática, como lo demuestra un estudio en trabajadoras sexuales en Senegal (Sturm-Ramirez *et al.*, 2000).

Otras manifestaciones clínicas de la infección por *C. trachomatis* son Bartholinitis, endometritis, que puede producir sangrado uterino irregular, y

salpingitis o enfermedad inflamatoria pélvica (EPI), que a menudo resulta subclínica. En Europa, el 60 % de los casos de EPI aguda son causados por *C. trachomatis* (Rogstad, 2008). La salpingitis puede conducir a la cicatrización de las trompas y generar serias complicaciones reproductivas, incluyendo infertilidad, embarazo ectópico y dolor pélvico crónico. Dos tercios de todos los casos de infertilidad por factor tubárico y un tercio de todos los casos de embarazo ectópico pueden ser atribuidos a la infección por *C. trachomatis* (Peipert, 2003). Aunque el sitio inicial de la infección es usualmente el cérvix, la uretra y el recto también pueden verse afectados.

En las mujeres embarazadas, la infección por *C. trachomatis* se ha asociado con aborto, ruptura prematura de membranas, endometritis puerperal, parto pretérmino y niños de bajo peso al nacer (Andrews *et al.*, 2000; Mardh, 2002; Trejo *et al.*, 2014).

1.3.3.3. Infecciones genitales en el hombre

En los varones, la infección por los serotipos D a K de *C. trachomatis* produce uretritis no gonocócica y post-gonocócica. La primoinfección es asintomática en el 50 % de los casos. Los síntomas se presentan usualmente entre 1 a 3 semanas de la exposición y son indistinguibles de los causados por la gonorrea. También en el hombre pueden presentarse complicaciones como epididimitis o infección de los conductos espermáticos de los testículos y ser causa de infertilidad (Peipert, 2003).

1.3.3.4. Infecciones en el recién nacido

Los serotipos D a K de *C. trachomatis*, que colonizan el canal de parto de la mujer embarazada, pueden infectar al niño al nacer. La tasa de transmisión a través de las secreciones infectadas es alta (50-70 %). Si esto sucede, aproximadamente el 30-50 % de los lactantes de madres infectadas, entre los 5 a 10 días del nacimiento tendrán una conjuntivitis purulenta que generalmente respeta la córnea y evoluciona lentamente hacia la curación (Bébéar *et al.*, 2009).

Muchas veces (30 % de los casos), con posterioridad a la conjuntivitis neonatal, o aún en ausencia de esta, puede presentarse una neumonía intersticial bilateral, después de 2 a 3 semanas de incubación, que se caracteriza por una tos persistente, polipnea y descarga nasal.

C. trachomatis también puede producir en el recién nacido rinitis, rinofaringitis, otitis e infecciones del tracto genital y gastrointestinal.

1.3.3.5. Proctitis

C. trachomatis produce proctitis en varones homosexuales que practican el coito anal receptivo o en mujeres heterosexuales que practican el coito anal. La mayoría de los casos están producidos por los serotipos D a K, pero en ocasiones también la producen los serotipos L₁ a L₃. (Roca, 2007)

1.3.3.6. Conjuntivitis del adulto

En el adulto los serotipos D a K de *C. trachomatis* causan una conjuntivitis folicular caracterizada por cuadros recurrentes de hiperemia ocular, secreción mucopurulenta, fotofobia y ocasionalmente edema palpebral. El contagio es a partir de secreciones genitales contaminadas y el período de incubación es de 2 a 19 días, con una media de 5 días. El curso de la infección está influenciado por el estado inmunológico del paciente. Las secuelas no son comunes (Basualdo *et al.*, 2001).

1.3.3.7. Linfogranuloma venéreo (LGV)

Es una enfermedad sistémica producida por *C. trachomatis* serotipos L₁ a L₃, que se inicia por la aparición de una pápula o vesícula en la piel de la región genital, la cual se transforma en una úlcera indolora que evoluciona hacia la curación. La infección difunde por vía linfática, de manera que desde el primer mes se produce una adenitis inguinal, que se reblandece y forma un absceso que posteriormente se fistuliza y abre hacia el exterior. Le sigue una fase de

esclerosis, con formación de estenosis en el recto, uretra o vagina (Schachter *et al.*, 1983). Los brotes recientes de LGV se han registrado en Europa, Australia, Nueva Zelanda, Estados Unidos y Canadá, principalmente entre hombres infectados con HIV que tienen sexo con hombres (Dal Conte *et al.*, 2014).

1.3.4. Diagnóstico de laboratorio de *C. trachomatis*

La búsqueda de *C. trachomatis* debe realizarse en todos los casos de uretritis, de cervicitis con o sin presencia de uretritis, de *ophthalmia neonatorum*, de conjuntivitis de inclusión y ante la sospecha de linfogranuloma venéreo o tracoma. También se recomienda la investigación de *C. trachomatis* en pacientes con epididimitis, prostatitis, proctitis o infertilidad obstructiva, tanto masculina como femenina.

La obtención de la muestra es el factor más importante para el diagnóstico de este microorganismo, más allá de la técnica elegida. Dado que *C. trachomatis* infecta específicamente a las células columnares y la infección es intracelular, las muestras deben ser obtenidas por raspado del sitio apropiado, asegurando un alto contenido de células, luego de haber retirado cuidadosamente las secreciones mucopurulentas que cubren la mucosa.

Las muestras de la primera fracción de orina resultan de utilidad por ser menos invasivas y más apropiadas para el tamizaje en poblaciones asintomáticas.

La recolección de la muestra deberá realizarse según el manual de procedimientos del laboratorio, en el medio apropiado para la técnica a utilizar y ser conservada de acuerdo al protocolo establecido.

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

a) Aislamiento en cultivos celulares

Originariamente, el aislamiento de *C. trachomatis* se realizó por inoculación en el saco vitelino de huevos de pollo embrionados de 6 a 8 días de edad (McComb *et al.*, 1974; Youder *et al.*, 1981).

Posteriormente, se descubrieron líneas de cultivos celulares susceptibles, de las cuales las más utilizadas son McCoy (fibroblastos de ratón), HeLa 229 (carcinoma humano), BHK-21 (células de ovario de hámster), BGMK y LLCMK2 entre otras.

Las muestras indicadas para la realización de cultivo son uretrales, cervicales, oculares, rectales y vaginales de niñas prepúberes y en caso de abuso sexual (CDC, 1998).

La muestra debe colocarse en el medio de transporte adecuado y ser conservada en refrigerador, sin congelar, para ser procesada dentro de las primeras 24 horas. En caso contrario deberá ser conservada a -70°C hasta su procesamiento.

Las líneas celulares se tratan con irradiación, dextran o cicloheximida para aumentar la sensibilidad del aislamiento. Antes de inocular la muestra se puede sonificar para romper las células hospedadoras y permitir que los cuerpos elementales se separen (Barnes, 1989).

Luego de 48-72 horas de la infección se puede visualizar la presencia de típicas inclusiones mediante el uso de distintas tinciones. La tinción de Lugol modificada puede utilizarse para revelar el acumulo de glucógeno en las inclusiones, típico de *C. trachomatis*. También puede emplearse anticuerpos específicos, marcados con fluoresceína, que se ligan al LPS o a la proteína de membrana MOMP.

El cultivo en líneas celulares presenta una especificidad del 100 % y una sensibilidad que varía entre el 70 y 85 %, hecho que ha quedado demostrado con la disponibilidad de las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Entre las ventajas que ofrece se pueden mencionar la disponibilidad de cepas viables para la realización de estudios de sensibilidad a antimicrobianos y el estudio de la interacción del microorganismo con la célula hospedadora. Además, en muchos países es la única metodología aceptada cuando existen implicancias legales, como en casos de abusos sexuales.

Las limitaciones del cultivo celular se relacionan con su relativa baja sensibilidad, la exigente conservación de la muestra, el costo y alto nivel de

entrenamiento del personal, que junto con la demora de 3 a 7 días en obtener los resultados, reducen su práctica a centros especializados.

El aislamiento en cultivos celulares, por su elevada especificidad, ha sido la técnica de referencia para el diagnóstico de *C. trachomatis*. En la actualidad, a partir de los nuevos parámetros de sensibilidad aportados por las técnicas de amplificación génica, se propone la creación de un gold standard “expandido” para evaluar los nuevos procedimientos de diagnóstico, especialmente las técnicas moleculares.

b) Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia utilizando antisueros policlonales fue utilizada desde la década de 1960 para la detección de antígenos de *Chlamydia* spp., tanto en material clínico como en cultivo celular. Sin embargo, el gran impacto en el diagnóstico de *C. trachomatis* llegó en la década de 1980, con el advenimiento de la tecnología de anticuerpos monoclonales. El primer tipo de metodología en desarrollarse fue la inmunofluorescencia directa (IFD) y permitió que un mayor número de laboratorios accedan al diagnóstico de este microorganismo.

La IFD se puede realizar sobre los extendidos de las mismas muestras destinadas al cultivo o el extendido del sedimento de la orina de primera fracción. Los anticuerpos monoclonales, conjugados con isotiocianato de fluoresceína, van dirigidos contra el LPS de membrana o contra la proteína principal de la membrana externa de *C. trachomatis* (MOMP).

Con esta metodología pueden detectarse en las muestras clínicas tanto células infectadas con inclusiones características como cuerpos elementales aislados.

La sensibilidad de la IFD, en comparación con el cultivo celular varía entre 80-90 %, y la especificidad entre 98-99 % (Malhotra *et al.*, 2013). La alta especificidad de la IFD se atribuye a su capacidad de visualizar la morfología y coloración de las características inclusiones clamidiales.

Es la única prueba de diagnóstico que permite la evaluación simultánea de la calidad de la muestra en cuanto a número y tipo de células obtenidas. Es una

técnica rápida y simple, pero el examen microscópico y la interpretación de los resultados requieren un observador experimentado.

c) ELISA (enzyme linked immunosorbant assay)

Las técnicas de ELISA aparecieron a fines de los años 80 y se basan en la detección del LPS clamidial, antígeno común a todas las especies de clamidias que infectan humanos y más soluble que la MOMP.

Los primeros análisis inmunoenzimáticos (EIA) se caracterizaron por su baja especificidad dando reacciones cruzadas con bacterias Gram negativas. (Taylor Robinson *et al.*, 1987; Demaio *et al.*, 1991). A partir de 1990 los EIA incluyen un anticuerpo bloqueador para confirmar los resultados positivos, mejorando así la especificidad. (Moncada *et al.*, 1990).

Estas pruebas presentan una sensibilidad y especificidad menor a la del cultivo y la IFD, siendo su uso práctico en poblaciones de alta prevalencia pero carecen de suficiente especificidad en poblaciones de bajo riesgo. (Thomas *et al.*, 1994).

Los EIA rápidos cualitativos, son muy simples de efectuar, requieren de 20 a 30 minutos para su lectura y han sido diseñados para ser usados por el médico en su consultorio, con el objeto de iniciar un tratamiento antimicrobiano de inmediato. En general estas pruebas rápidas son significativamente menos sensibles y específicas que sus homólogos cuantitativos (Rani *et al.*, 2002; Saison *et al.*, 2007).

Las pruebas rápidas no deben ser utilizadas en una población de baja prevalencia o para los individuos asintomáticos debido a la posibilidad de resultados falsos positivos. Los resultados de una prueba rápida se deben considerar siempre presuntivos y, en caso positivo, debe confirmarse mediante una prueba de laboratorio (Malhotra *et al.*, 2013).

d) Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAANs)

El desarrollo de los ensayos basados en la tecnología de amplificación de ácido nucleico (TAAN) ha sido el avance más importante en el campo del

diagnóstico de clamidia desde que las técnicas de cultivo celular sustituyeron el saco vitelino para el cultivo y el aislamiento del organismo a partir de muestras clínicas (Malhotra *et al.*, 2013). Estas técnicas son al menos 20-30 % más sensibles (capacidad de detectar una única copia del gen) y casi 100 % específicas (Schachter *et al.*, 2005).

Existen tres técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos que han sido empleadas para el diagnóstico de *C. trachomatis*: la PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), la LCR (Reacción en Cadena de la Ligasa) y la AMT (Amplificación Mediada por Transcripción). La PCR y la LCR amplifican ADN, mientras que AMT amplifica ARN. La PCR es la técnica más usada por ser fácil de implantar en los laboratorios e incluso está disponible en forma comercial. Su blanco molecular es por lo general el gen de MOMP o el plásmido críptico, del que se encuentran entre cuatro y diez copias por célula. Sin embargo debe considerarse que, si bien han sido descritas ocasionalmente, existen cepas que carecen del plásmido.

La primera prueba de PCR para la detección de *C. trachomatis* aprobada por la FDA (Food and Drug Administration) en los Estados Unidos de Norteamérica fue desarrollado por Roche Diagnostics, Basel Suiza (Roche-Amplicor). Desde 1993, Amplicor PCR ha sido utilizada para muestras urogenitales y orina, con una sensibilidad de 90 % y una especificidad de 99-100 % (Ossewaarde *et al.*, 1992).

Las muestras sobre las que pueden realizarse las TAANs son las descritas anteriormente, e inclusive, otras que en general no son resueltas por las técnicas anteriores, como material de biopsias o muestras de semen. Debido a su gran sensibilidad y alta especificidad las técnicas de amplificación ofrecen una tasa de detección alta en individuos sintomáticos y adecuada en asintomáticos, permitiendo incluso utilizar muestras de orina con mejores resultados que otros procedimientos, siendo esto una ventaja en estudios de tamizaje a gran escala.

La mayor sensibilidad de estos ensayos implica más riesgos de contaminación accidental con los segmentos amplificados. El problema de la contaminación, junto con el costo y la necesidad de áreas específicamente destinadas y personal de laboratorio cuidadosamente capacitado, son limitaciones que se deben tener en cuenta en el laboratorio clínico.

En la actualidad, la PCR a tiempo real parecería lentamente ir reemplazando la PCR convencional, debido a sus indudables ventajas, como la facilidad de empleo, la mayor rapidez o el menor riesgo de contaminación. En la PCR a tiempo real, los procesos de amplificación y detección se producen de manera simultánea en el mismo vial cerrado, sin necesidad de ninguna acción posterior. Además, mediante detección por fluorescencia se puede medir durante la amplificación la cantidad de ADN sintetizado en cada momento, ya que la emisión de fluorescencia producida en la reacción es proporcional a la cantidad de ADN formado. Esto permite conocer y registrar en todo momento la cinética de la reacción de amplificación (Costa, 2004).

Según la revisión de Black, el número de microorganismos mínimo que puede detectar por muestra cada técnica es entre 1 y 10 para la amplificación de ADN, entre 5 y 100 para el cultivo, entre 10 y 500 para la IFD, entre 500 y 10.000 para la hidridización con sondas y de 5.000 a 100.000 para los EIAs (Black, 1997) (Figura 10).

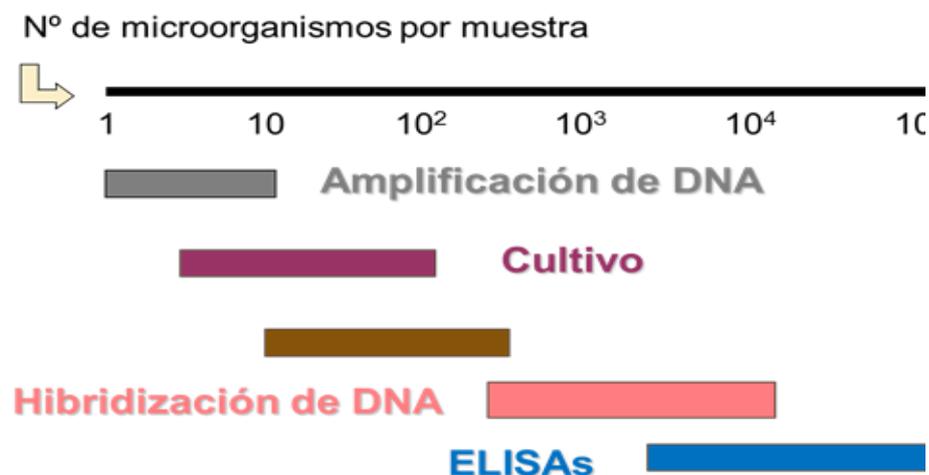


Figura 10. Sensibilidad analítica de las distintas metodologías diagnósticas (Black, 1997).

e) Serología

Las pruebas serológicas no son de utilidad en el diagnóstico de infecciones de las vías genitales causadas por *C. trachomatis*, ya que estas no producen títulos de anticuerpos elevados. Sólo se utiliza en el diagnóstico de linfogranuloma venéreo. Las técnicas más efectivas son la micro-inmunofluorescencia (MIF) y la fijación de complemento, cuidadosamente estandarizadas. La MIF es de gran utilidad en las infecciones por *C. pneumoniae* y *C. psittaci* (Rodríguez Fermepin, 2008).

La detección de la presencia de IgM específica es la técnica de elección para el diagnóstico de la neumonía del recién nacido (Black, 1997).

1.3.5. Tratamiento de la infección genital por *C. trachomatis*

El tratamiento adecuado de las personas infectadas por *C. trachomatis* impide el avance de la infección y la transmisión de la enfermedad. La posibilidad de reinfección se puede prevenir mediante el tratamiento de todas las parejas sexuales. Las demoras en recibir tratamiento han sido asociadas con complicaciones serias, como enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) (Geisler *et al.*, 2008).

El CDC recomienda 2 g de azitromicina por vía oral en una dosis única, o 100 mg de doxiciclina por vía oral dos veces al día durante siete días, para la infección genitourinaria por *C. trachomatis*. Regímenes alternativos incluyen eritromicina 500 mg por vía oral cuatro veces al día, levofloxacina 500 mg por vía oral una vez al día durante 7 días o 300 mg por vía oral de ofloxacina durante siete días (CDC, 2010).

Estudios comparativos de tratamientos con azitromicina y doxiciclina, han demostrado que ambos fueron igualmente eficaces, con tasas de curación de 97 y 98 % respectivamente (Lau *et al.*, 2002). La azitromicina tiene la ventaja de permitir un mejor cumplimiento del tratamiento debido a la aplicación de una única dosis. La eritromicina puede ser menos eficaz que la azitromicina o doxiciclina, a

causa de la frecuente aparición de efectos secundarios gastrointestinales, que pueden llevar al incumplimiento. Levofloxacin y ofloxacin son alternativas de tratamiento eficaces pero son más caras y no ofrecen ninguna ventaja en el régimen de dosificación.

Los pacientes bajo tratamiento deben abstenerse de tener relaciones sexuales por siete días después del inicio del tratamiento y su pareja debe ser tratada al mismo tiempo, con el fin de prevenir la reinfección.

En mujeres embarazadas la levofloxacin, ofloxacin y doxiciclina están contraindicadas. Por lo tanto, se recomienda la azitromicina 2 g por vía oral en una sola dosis o amoxicilina 500 mg por vía oral tres veces al día. Tres semanas después de la finalización del tratamiento las pacientes embarazadas deben realizarse pruebas de laboratorio para confirmar la curación. Si el riesgo de reinfección es alto, el esquema debe repetirse durante todo el embarazo (CDC, 2010).

2. ANTECEDENTES

2.1. Situación epidemiológica de la infección por *C. trachomatis*

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año se producen 498,9 millones de casos nuevos de infecciones transmisibles sexualmente causadas por *Trichomonas vaginalis* (276,4 millones), *Neisseria gonorrhoeae* (106,1 millones), *Chlamydia trachomatis* (105,7 millones) y *Treponema pallidum* (10,6 millones), principalmente en hombres y mujeres de edades comprendidas entre los 15 y los 49 años. La mayor proporción se observa en la región del Pacífico Occidental con 128,2 millones de casos, seguida por la región de las Américas con 125,7 millones de casos, y por la región de África, 92,6 millones (WHO, 2008) (Figura 11).



Figura 11. Nuevos casos estimados de infecciones de transmisión sexual curables (gonorrea, clamidia, sífilis y tricomoniasis) por región de la OMS, 2008

2.2. Situación epidemiológica en Estados Unidos de Norteamérica

En Estados Unidos de Norteamérica, la infección por *C. trachomatis* es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente. En base a las estimaciones

de las encuestas nacionales realizadas entre 1999-2008, la prevalencia de infección por *C. trachomatis* fue 6,8 % en las mujeres de 14-19 años sexualmente activas (CDC, 2011; 2012; 2014).

En el año 2012 fueron reportados un total de 1.422.976 casos de infecciones por *C. trachomatis* a los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en los 50 estados y el Distrito de Columbia (CDC, 2014). Este recuento corresponde a una tasa de 456,7 casos por cada 100.000 habitantes, lo que supone un incremento del 0,7 % con respecto al índice de 453,4 en el año 2011. Durante el período 1992-2012, la tasa de infección por *C. trachomatis* aumentó de 182,3 a 456,7 casos por cada 100.000 habitantes (Tabla 1).

Tabla 1. Casos de infecciones por *C. trachomatis* reportados por los Departamentos de Salud Estatales y tasas por 100.000 habitantes, EEUU, 1992-2012.

Año	Nº de casos	Tasa (por 100.000 habitantes)
1992	409.694	182,3
1993	405.332	178,0
1994	451.785	192,5
1995	478.577	187,8
1996	492.631	190,6
1997	537.904	205,5
1998	614.250	231,8
1999	662.647	272,7
2000	709.452	251,4
2001	783.242	274,5
2002	834.555	289,4
2003	877.478	301,7
2004	929.462	316,5
2005	976.445	329,4
2006	1.030.911	344,3
2007	1.108.374	367,5

Tabla 1 Continuación

Año	Nº de casos	Tasa (por 100.000 habitantes)
2008	1.210.523	398,1
2009	1.244.180	405,3
2010	1.307.893	423,6
2011	1.412.791	453,4
2012	1.422.976	456,7

El aumento de las infecciones por *C. trachomatis* reportadas en los últimos 20 años refleja la expansión de los programas de tamizaje, el uso de pruebas de diagnóstico cada vez más sensibles, un mayor énfasis en la notificación de casos, y las mejoras en los sistemas de información utilizados para la presentación de informes (CDC, 2011; 2012; 2014).

En el mismo año 2012, las tasas de infección por *C. trachomatis* reportadas por cada estado varió entre 233,0 casos por cada 100.000 habitantes en New Hampshire hasta 774,0 casos en Mississippi (Figura 12).

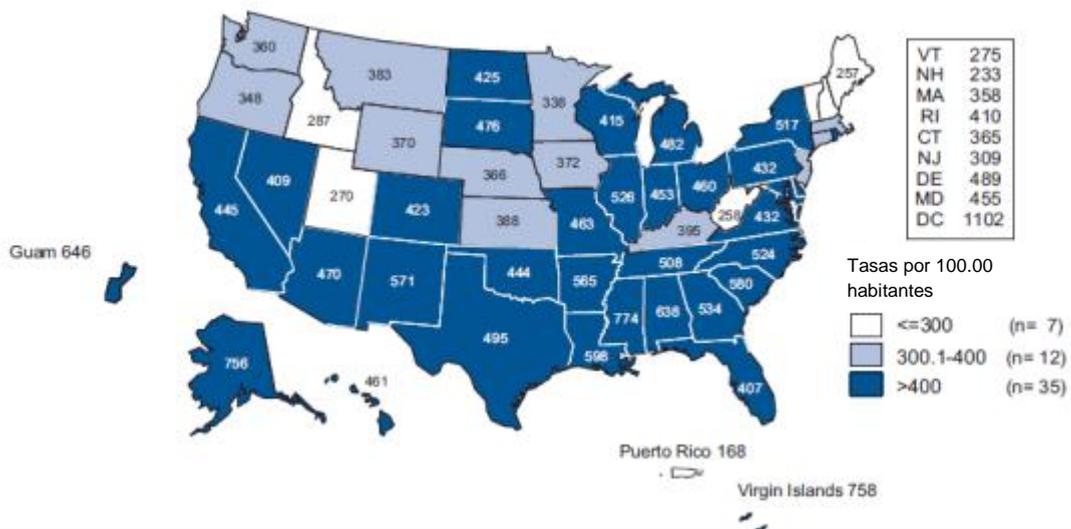


Figura 12. *C. trachomatis*, tasas por estados y áreas periféricas, EEUU, 2012.

Durante el período 1995-2011, las tasas de infección por *C. trachomatis* aumentaron cada año (Figura 13). En el 2012, la tasa global entre las mujeres (643,3 casos por 100.000 mujeres) fue similar a la reportada en el año 2011 (643,4 casos por cada 100.000 mujeres). Este es el primer año, desde la presentación de informes a nivel nacional, que no se registró un aumento.

Entre los hombres, el valor aumentó durante los años 2011-2012 de 254,4 a 262,6 casos por 100.000 hombres. Como en años anteriores, la tasa de casos reportados entre las mujeres fue alrededor de dos veces la tasa entre los hombres (Figura 13). Estas cifras menores entre los hombres sugieren que muchas de las parejas sexuales de las mujeres con infección por *C. trachomatis* no reciben un diagnóstico adecuado o no denuncian la infección.

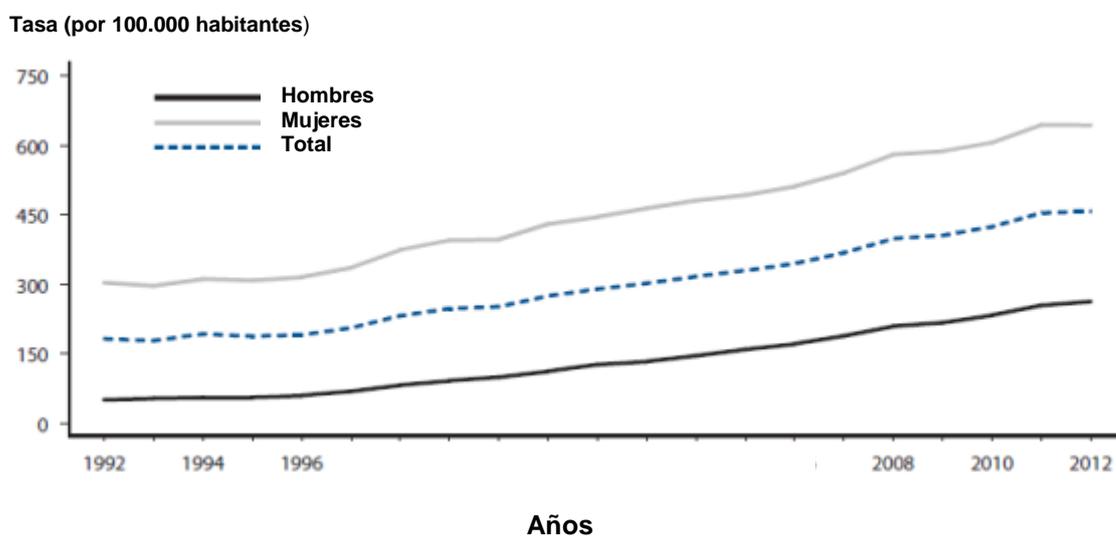


Figura 13. *C. trachomatis*, tasas de infección por sexo, EEUU, 1992-2012.

Con relación a la edad, las tasas de infección por *C. trachomatis* son más altas en los adolescentes y adultos jóvenes de 15-24 años. Entre las mujeres los mayores registros se observaron entre los 15-19 años (3.291,5 casos por 100.00 mujeres) y entre los 20-24 años (3.695,5 casos por 100.000 mujeres). Entre los varones las mayores tasas se observaron entre los 20-24 años (1.350,4 casos por 100.000 hombres) (Figura 14).

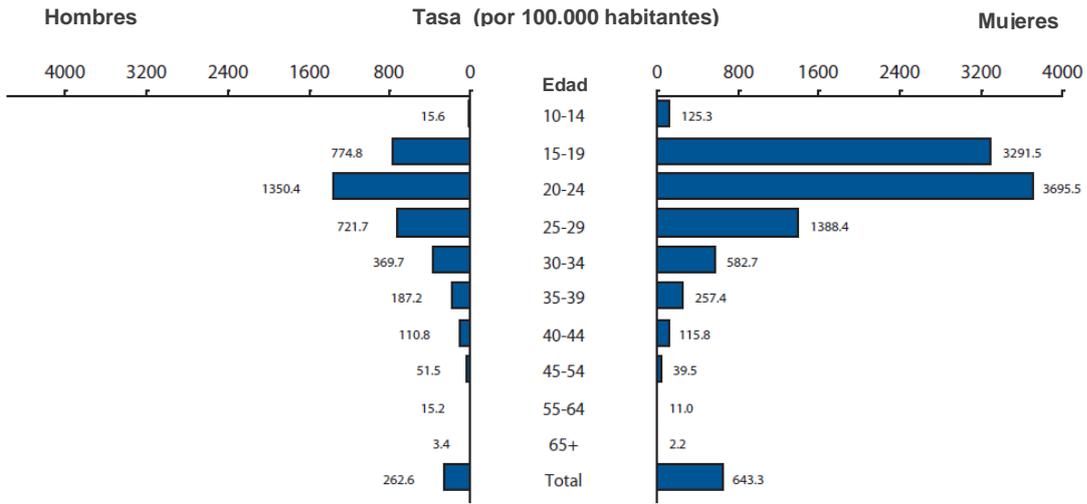
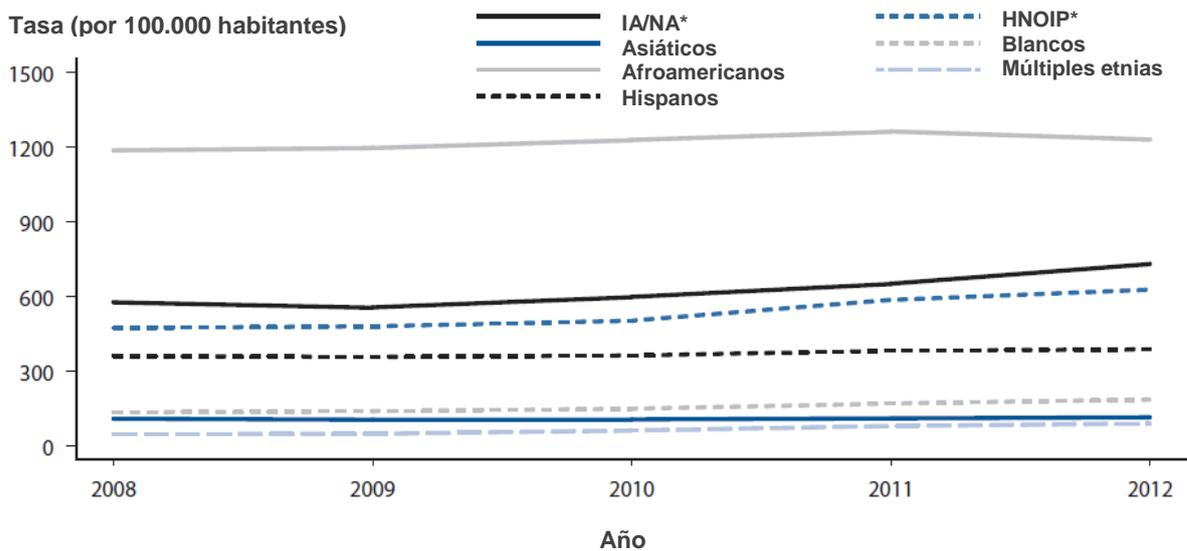


Figura 14. *C. trachomatis*, tasas por edad y sexo, EEUU, 2012.

Según las etnias, las tasas de infección por *C. trachomatis* en el 2012, muestran muchas diferencias: la tasa entre los afroamericanos fue casi siete veces la tasa entre los blancos (1.229,4 y 179,6 casos por 100.000 habitantes, respectivamente), la tasa de los indios americanos/nativos de Alaska (728,2 casos por 100.000) fue 4,1 veces la tasa entre los blancos, y la tasa entre los hispanos (380,3 casos por 100.000) fue 2,1 veces la tasa entre los blancos (Figura 15).



* IA/NA= Indios Americanos/Nativos de Alaska; HNOIP= Hawaianos Nativos/ Otros Isleños del Pacífico

Figura 15. *C. trachomatis*, tasas por grupo étnico, EEUU, 2008-2012

2.3. Situación epidemiológica en Europa

La infección por *C. trachomatis* es la ITS notificada con más frecuencia en Europa. En el año 2011 se notificaron 346.911 casos en los 25 países miembros de la Unión Europea, con una tasa global de 175 por cada 100.000 habitantes. La infección fue más frecuente en las mujeres que en los hombres, con tasas de 203 por cada 100.000 mujeres y 145 por cada 100.000 hombres (ECDC, Sexually transmitted infections in Europe, 2011).

El 86 % de todos los casos reportados en Europa, durante el año 2011, fueron aportados por cuatro países: Dinamarca, Noruega, Suecia y el Reino Unido. Tasas superiores a 200 casos por cada 100.000 habitantes fueron observadas en Islandia (657/100.000), Dinamarca (479/100.000), Noruega (458/100.000), Suecia (396/100.000), el Reino Unido (341/100.000) y Finlandia (254/100.000) (Figura 16). Tasas inferiores a 10 por cada 100.000 habitantes fueron reportados por siete países: Bulgaria, Chipre, Grecia, Luxemburgo, Polonia, Rumania y Eslovaquia.

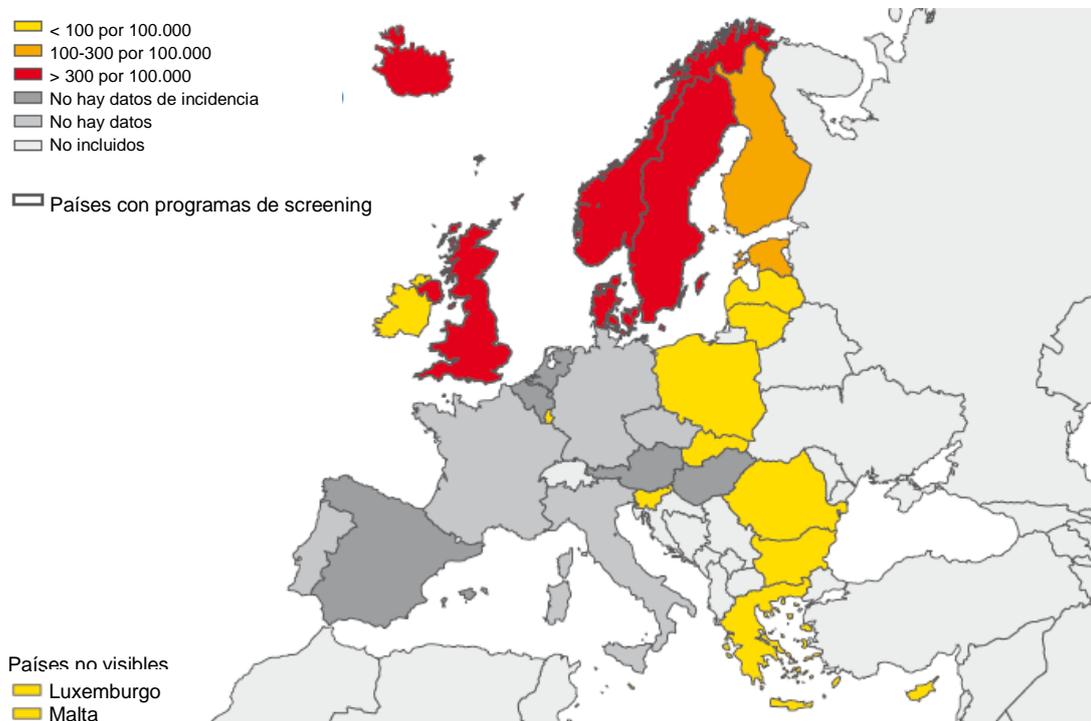


Figura 16. Número de casos de *C. trachomatis* por 100.000 habitantes, Europa, 2011

Las comparaciones entre los países de la Unión Europea son difíciles debido a las diferencias que existen en los sistemas de vigilancia, los métodos diagnósticos utilizados, la cantidad de tamizajes y la proporción de sub-registros. La disponibilidad de programas de tamizaje dirigidos específicamente a subgrupos de la población pueden afectar significativamente el número de casos informados. De allí que la verdadera incidencia y prevalencia probablemente sea mayor a la notificada (ECDC, Annual Epidemiological Report, 2013).

El 73 % de todos los casos de infecciones por *C. trachomatis* en el 2011 fue reportado en los jóvenes de entre 15 y 24 años de edad, con las tasas más altas entre las mujeres de 15 a 19 años (1.748 casos por cada 100.000) (Figura 17).

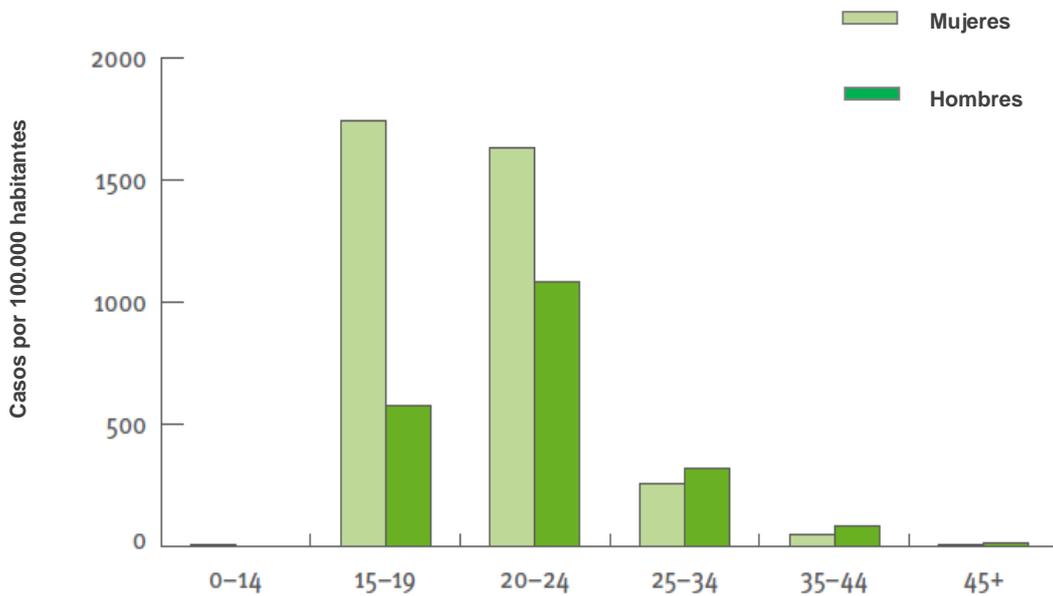


Figura 17. Edad y tasa de casos reportados de *C. trachomatis* por cada 100.000 habitantes en función de género, 2011, Unión Europea.

Los grupos de edad que han aumentado continuamente desde el año 2000 fueron el de 20 a 24 años (37 % en el 2000 y 42 % en el 2011) y el de 15 a 19 años (24 % en el 2000 y 31 % en el 2011) (Figura 18).

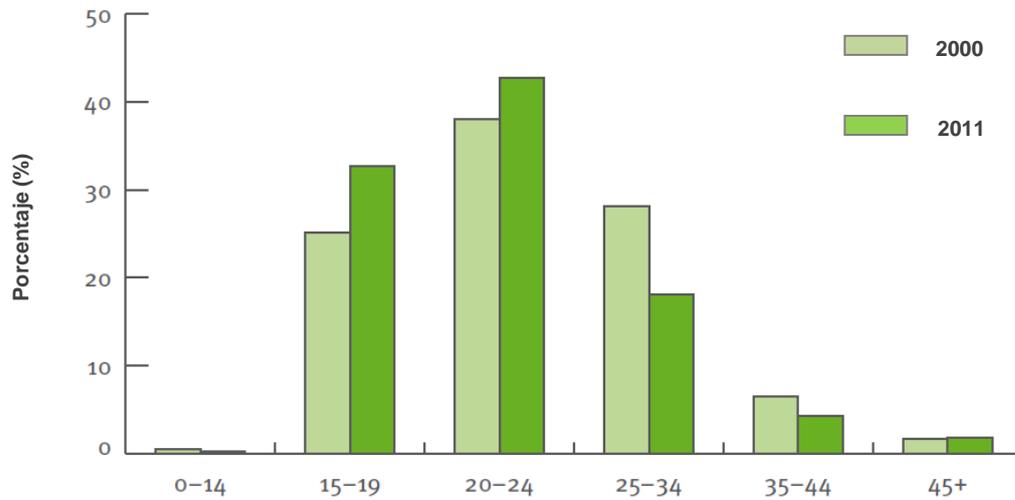


Figura 18. Casos de *C. trachomatis* por grupos de edad, 2000 y 2011, países de la Unión Europea con reportes consistentes.

2.4. Situación epidemiológica en Australia

En Australia, una revisión sistemática realizada por Vajdic y col. entre los años 1997 y 2004, informó una prevalencia media global de infección genital por *C. trachomatis* de 4,6 %. Entre los australianos nativos, el valor de prevalencia fue 7,5 % para los hombres y 8,7 % para las mujeres, mientras que entre los extranjeros las cifras fueron 1,5 % y 1,4 % respectivamente. En otros grupos las cifras fueron: 3,3 % en mujeres atendidas en clínicas de salud sexual; 5,6 % en adolescentes y adultos jóvenes; 3,3 % en trabajadores del sexo y 1,6 % en hombres que tienen sexo con hombres (Vajdic *et al.*, 2005).

Según un informe anual del Sistema de Vigilancia de Enfermedades de Notificación Nacional (NNDSS) de Australia, en el año 2010, se notificaron 74.305 casos de infección por *C. trachomatis*, lo que equivale a una tasa de 333 por 100.000 habitantes. Esto representó un aumento del 17 % en comparación con la tasa reportada en 2009 (285/100.000 habitantes). Entre los años 2005 y 2010, las tasas de infección por *C. trachomatis* aumentaron en un 64 %, de 203 a 333 por 100.000 habitantes (Australia's notifiable diseases status, 2010: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System, 2012).

En el año 2010, las tasas aumentaron en todos los territorios y estados australianos. En la figura 19 se observan las tasas y el número de casos notificados en cada estado.

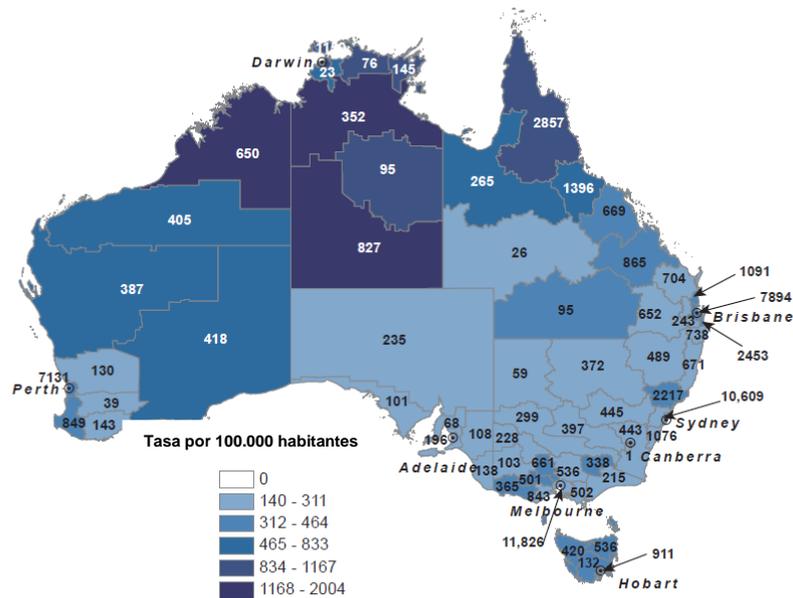


Figura 19. Tasas y número de casos notificados de infección por *C. trachomatis*, Australia, 2010.

Las tasas de infección por *C. trachomatis* en hombres y mujeres, durante el 2010, fueron 279 y 384 por cada 100.000 habitantes respectivamente. En comparación con el año 2009, se incrementaron en un 19 % en varones y 15 % en mujeres. En el grupo de edad menor a 30 años, las tasas en las mujeres superaron a las de los hombres, mientras que éstos tuvieron tasas más altas a mayor edad (Figura 20).

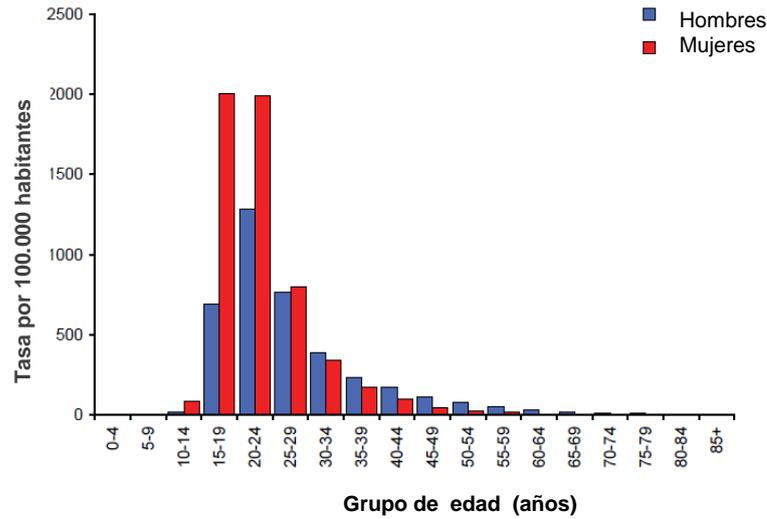


Figura 20. Tasas de infección por *C. trachomatis* según sexo

Entre los años 2005 y 2010, hubo un aumento de tendencia en las tasas de notificación de *C. trachomatis* a través de ambos sexos y en todos los grupos de edad (Figura 21). El mayor aumento, tanto en hombres como mujeres, se observó en el grupo de 15 a 19 años.

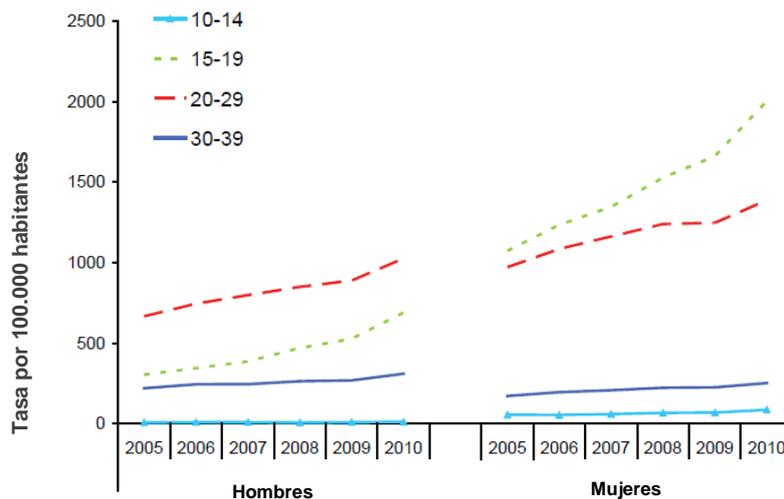


Figura 21. Tasas de infección por *C. trachomatis* en personas de 10 a 39 años de edad, según sexo, años y grupos de edad, Australia, 2010.

2.5. Situación epidemiológica en América Latina

En los países de América Latina, los datos recabados en la bibliografía científica muestran valores de prevalencia de la infección por *C. trachomatis* que oscilan entre 1,0 % y 52,8 %. La tabla 2 presenta los datos recopilados entre los años 1997 y 2013, detallándose el lugar donde se realizó el estudio, año, metodología empleada, características de la población estudiada y prevalencia encontrada.

La disparidad en las prevalencias encontradas se puede adjudicar principalmente a diferencias en el tipo de estudio realizado, la metodología diagnóstica empleada y la población analizada.

Tabla 2. Prevalencia de la infección genital por *C. trachomatis* en América Latina por país (1997-2013).

País, ciudad (cita)	Fecha	Técnica	Población	Nº	Prevalencia (%)
Brasil, Campinas (90)	2000/2003	PCR	Mujeres atendidas en un servicio de planificación familiar	230	13,5
Brasil, Manaus (245)	2003	PCR	Mujeres atendidas en servicio de ITS, Inst. de venereología e Inst. de Medicina Tropical	121	20,7
Brasil, Vitoria, Espirito Santo (17)	2003/2004	PCR	Mujeres atendidas en una Unidad Básica de Salud	299	7,4
Brasil, Fortaleza (193)	2007	LCR	Mujeres sexualmente activas del Municipio de Pacoti.	579	4,5
Brasil, Sao Pablo (16)	2008	PCR	Mujeres profesionales del sexo	102	20,5
Brasil, Campinas (208)	2008/2009	PCR	Mujeres con indicación de fertilización <i>in vitro</i> (FIV)	176	1,1
Brasil, Salvador, Bahía (152)	2008/2010	PCR	Adolescentes sexualmente activas entre 10 y 19 años	100	31,0
Brasil, Manaus (60)	2011	PCR	Mujeres infértiles	106	52,8
Brasil, Curitiba (218)	2011	PCR	Mujeres sexualmente activas entre 16 y 23 años	335	10,7

Tabla 2. Continuación

País, ciudad (cita)	Fecha	Técnica	Población	Nº	Prevalencia (%)
Chile, Santiago (163)	2003/2005	PCR	Mujeres atendidas en centros de salud públicos y privados	403	4,7
Chile, Santiago (122)	2006/2007	PCR	Mujeres jóvenes y adolescentes sexualmente activas	203	6,9
Chile, Temuco (263)	2013	PCR en tiempo real cuantitativa	Mujeres asintomáticas, asistentes a control ginecológico de rutina	87	11,5
Colombia, Bogotá (244)	2004	PCR	Mujeres sintomáticas y asintomáticas	355	5,3
Colombia, Montería (4)	2007	PCR	Trabajadoras sexuales atendidas en un Centro Médico de Urgencias	69	15,9
Colombia, Bogotá (9)	2007/2008	Pruebas rápidas y PCR	Mujeres con sintomatología de flujo vaginal o prurito.	131	6,0
Colombia, Bogotá (10)	2010	PCR	Mujeres con síntomas de infección vaginal	1.385	9,7
Costa Rica (104)	1997/2000	PCR	Trabajadoras sexuales atendidas en Dto. de control de SIDA y ETS	457	14,7
Cuba, La Habana (186)	2002	PCR	Mujeres atendidas por infertilidad o regulación menstrual	59	18,6
Cuba, La Habana (98)	2002/2003	PCR	Mujeres que asistieron a consultas de ginecología, infertilidad y terminación del embarazo	124	6,9
México, Durango (3)	1997/1998	EIA	Trabajadoras sexuales registradas	247	16,6
México, Mérida (35)	1998	EIA	Mujeres atendidas en dos clínicas de planificación familiar	1.100	6,7
México, Chiapas (128)	1998/1999	ELISA	Mujeres en edad reproductiva atendidas en hospital regional.	150	4,7
México, Región norte (80)	1999/2001	EIA	Trabajadoras sexuales registradas en tres ciudades del norte de México.	354	12,4

Tabla 2. Continuación

País, ciudad (cita)	Fecha	Técnica	Población	Nº	Prevalencia (%)
México , Estado de Morelos (75)	2002	LCR	Estudiantes de la Universidad autónoma del Estado de Morelos	385	1,0
México , Chiapas (288)	2003	Hibridación de ácido nucleico	Trabajadoras sexuales	484	14,4
México , Ciudad de México (59)	2011	PCR	Mujeres infértiles	152	15,8
Nicaragua (46)	1999/2000	PCR	Mujeres sintomáticas y asintomáticas	1.185	4,1
Nicaragua , León (24)	2007/2008	Detección directa de antígeno	Mujeres embarazadas con leucorrea	123	15,4
Paraguay (176)	2002	IFD	Pacientes entre 20 y 55 años, sintomáticos y asintomáticos	72	48,0
Paraguay (77)	2011	Detección directa de antígeno	Mujeres en edad fértil que acudieron a estudio de cuello uterino	148	4,1
Perú , Iquitos (210)	1999	LCR	Mujeres trabajadoras sexuales	100	22,0
Perú (36)	2002	PCR	Adultos jóvenes de la población general. Trabajadoras sexuales (TS)	15.261 4.485	4,2 Hombres 6,5 Mujeres 16,4 TS
Venezuela , Los Andes (50)	2000	IFD	Mujeres embarazadas con complicaciones obstétricas	60	13,3
Venezuela , Zulia (13)	2005	PCR	Mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un ambulatorio rural	105	10,4
Venezuela , Maracaibo (12)	2006	IFD PCR	Mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un ambulatorio rural	54 54	5,5 9,3
Venezuela , Maracaibo (14)	2006/2007	PCR	Mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en dos centros de Salud privados	168	7,7

De los datos registrados en Latinoamérica, se observa que en los últimos años, las técnicas de biología molecular fueron las metodologías de elección para el diagnóstico de *C. trachomatis*. También se destaca que las mayores prevalencias se observaron en las poblaciones más vulnerables como las trabajadoras sexuales.

2.6. Situación epidemiológica en la República Argentina

En nuestro país, los datos recopilados en bibliografía científica, presentaciones en congresos y talleres, comunicaciones personales y del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE), abarcan el período 1994-2013 (Tablas 3, 4 y 5). La tabla 3 presenta los estudios realizados entre los años 1994 y 2012, registrándose prevalencias de infección por *C. trachomatis* que oscilan entre 1,2 % y 24,9 %.

Tabla 3. Prevalencia de la infección genital por *C. trachomatis* en la República Argentina (1994-2012).

Lugar (cita)	Fecha	Técnica	Población	Nº	Prevalencia (%)
Bahía Blanca, Hosp. Penna (CP)	2009/2010	IFD	Hombres y mujeres sintomáticas y asintomáticas	H:20	15,0
				M:37	2,7
Buenos Aires (67)	1997/1998	Detección de Ags	Mujeres adultas sintomáticas.	400	1,8
Buenos Aires (89)	2000/2004	ELISA Cultivo/PCR	Adultos sintomáticos de ambos sexos.	3.236	1,8
Buenos Aires, Hospital de Clínicas (100)	2001/2008	PCR/Cultivo	Hombres y mujeres con síntomas genitourinarios o consultantes por infertilidad	H:848	3,4
				M:1.205	1,2

Tabla 3. Continuación

Lugar (cita)	Fecha	Técnica	Población	Nº	Prevalencia (%)
Buenos Aires, Hospital Posadas (71)	2006/2007	ELISA (confirmado por PCR)	Hombres con síntomas de uretritis, mujeres con riesgo obstétrico, infertilidad o disfunción vaginal y neonatos con síntomas de conjuntivitis	H:138	10,1
				M:1.179	4,4
				N:393	7,6
Buenos Aires (72)	2006/2007	PCR	Mujeres jóvenes y adolescentes	1.179	4,4
Buenos Aires (207)	2007/2009	PCR	Hombres que tienen sexo con hombres	98	1,7
Chaco y Corrientes (63)	2005	PCR	Mujeres con alteración cervical	154	12,9
Chaco y Corrientes (64)	2004/2005	PCR	Mujeres con alteraciones citohistológicas de cuello uterino	189	24,9
Córdoba (87)	2004/2006	PCR	Adolescentes de ambos sexos, estudiantes universitarios y no universitarios.	427	8,7
Córdoba, UNC (171)	2008	Cultivo	Pacientes con disfunción reproductiva (muestras de semen)	263	24,5
Córdoba (56)	2012	PCR	Adolescentes y jóvenes asintomáticos	427	8,7
Córdoba (173)	2012	PCR	Pacientes infértiles	660	7,27
Río Cuarto, Córdoba (204)	1994/1999	ELISA	Mujeres y hombres atendidos en el Servicio de Ginecología y Urología del Hospital Central de Río Cuarto	2.630	11,5
Buenos Aires, La Plata, Cba, Mendoza, Rosario, Sgo. del Estero, Viedma (76)	2006/2009	PCR	Hombres trabajadores sexuales	80	5,0

CP: comunicaciones personales

Tabla 4. Supuraciones genitales gonocócicas y no gonocócicas en la República Argentina, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). Casos y tasas acumuladas por 100.000 habitantes, hasta la 52° semana epidemiológica, años 2010-2012.

SINAVE	2010		2011		2012	
	Casos	Tasas	Casos	Tasas	Casos	Tasas
Supuraciones Gonocócicas	3.160	7,80	2.689	6,61	2.444	6,03
Supuraciones no Gonocócicas y sin especificar	26.578	65,59	31.415	77,53	25.550	63,06

Tabla 5. Supuraciones genitales no gonocócicas y sin especificar en la República Argentina, Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). Casos y tasas notificadas cada 100.000 habitantes, según provincia y región, hasta la 51° semana epidemiológica,

Provincia/Región	2011		2012		2013	
	Casos	Tasas	Casos	Tasas	Casos	Tasas
CABA	476	16,47	617	21,35	618	21,38
Buenos Aires	1.260	8,06	821	5,25	1.015	6,50
Córdoba	1.831	55,34	1.124	33,97	1.024	30,95
Entre Ríos	2.290	186,00	2.079	168,20	2.639	213,51
Santa Fe	1.530	47,89	1.617	50,62	1.008	31,55
Centro	7.396	28,17	6.258	23,84	6.304	24,01
Mendoza	315	18,11	218	12,54	518	29,79
San Juan	1.151	169,00	1.629	239,19	1.498	219,95
San Luis	20	4,63	8	1,85	9	2,08
Cuyo	1.486	52,09	1.855	65,03	2.025	70,99
Corrientes	272	27,40	564	56,82	754	75,96
Chaco	5.785	548,21	7.418	702,96	8.468	802,46

Tabla 5. Continuación

Provincia/Región	2011		2012		2013	
	Casos	Tasas	Casos	Tasas	Casos	Tasas
Formosa	2.098	395,73	2.181	411,38	2.015	406,67
Misiones	1.595	144,79	1.732	157,23	1.740	157,95
NEA	9.750	264,97	11.895	323,27	13.118	356,51
Catamarca	301	81,83	225	61,17	398	108,20
Jujuy	466	69,21	242	35,94	204	30,30
La Rioja	14	4,20	26	7,79	4	1,20
Salta	9.291	765,04	4.631	381,33	9.692	798,06
Santiago del Estero	418	47,83	499	57,09	307	35,13
Tucumán	476	32,87	722	49,86	2.486	171,66
NOA	10.966	223,28	6.345	129,19	13.091	266,54
Chubut	9	1,77	89	17,48	122	23,96
La Pampa	592	185,07	391	122,23	552	172,56
Neuquén	211	38,28	260	47,16	211	38,28
Río Negro	134	20,98	164	25,68	126	19,73
Santa Cruz	107	39,06	145	52,93	123	44,90
Tierra del Fuego	406	319,17	669	525,93	627	492,91
Sur	1.459	60,20	1.718	70,90	1.761	72,77
Total Argentina	31.057	77,41	28.071	69,97	36.299	90,48

De los antecedentes expuestos en la Tabla 3 se observa que los datos de prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en nuestro país son escasos y dispersos, y reflejan la situación de las diferentes poblaciones estudiadas.

De acuerdo al SINAVE, en los últimos años la incidencia de supuraciones no gonocócicas y sin especificar es más importante que de las gonocócicas, y en todas las regiones de nuestro país las tasas resultaron mayores en el 2013 respecto al año anterior.

En la ciudad de Bahía Blanca se desconoce la real dimensión de esta infección, tanto en la población general como en aquellos grupos vulnerables a las infecciones transmisibles sexualmente.

Surge así la necesidad de conocer la prevalencia de *C. trachomatis* en nuestro medio y, particularmente en poblaciones de mujeres atendidas en hospitales públicos, mujeres jóvenes y grupos particularmente vulnerables, como las trabajadoras sexuales. De igual modo, resultan necesarios los conocimientos sobre la relación entre algunos genotipos de *C. trachomatis* y determinadas poblaciones, los cambios en la microbiota habitual de tracto genital femenino durante la infección, como así también los factores de riesgo para adquirir una infección transmisible sexualmente.

En función de esta realidad es que se decidió encarar este trabajo de tesis, como un aporte al conocimiento de la situación existente en la ciudad de Bahía Blanca en lo que respecta a la infección por *C. trachomatis*. Los resultados obtenidos podrían colaborar en la implementación de políticas de salud y programas de prevención de ITS basados en datos concretos de diferentes grupos de la población de la ciudad.

3. HIPOTESIS

La infección por *C. trachomatis* está asociada a mujeres jóvenes, al número de parejas sexuales, al cambio reciente de pareja, a la falta de utilización de métodos anticonceptivos de barrera y a un desequilibrio de la microbiota habitual vaginal.

La prevalencia de infección por *C. trachomatis* en la ciudad de Bahía Blanca es mayor en trabajadoras sexuales que en jóvenes universitarias y mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público.

4. OBJETIVOS

4.1. OBJETIVO GENERAL

Avanzar en el estudio de la relación patógeno-hospedador-ecosistema de la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres de la ciudad de Bahía Blanca, para poder favorecer el desarrollo de medidas de control y prevención eficaces.

4.2. OBJETIVOS PARTICULARES

1. Determinar la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en tres grupos de mujeres: las que demandaron atención en un hospital público, trabajadoras sexuales, y jóvenes ingresantes universitarias, de la ciudad de Bahía Blanca.
2. Caracterizar a nivel molecular los genotipos de *C. trachomatis* presentes en las diferentes poblaciones estudiadas.
3. Analizar en las poblaciones estudiadas, la asociación entre la infección por *C. trachomatis* y factores de riesgo específicos como edad, inicio temprano de las relaciones sexuales, número de parejas sexuales, cambios frecuentes de pareja y la utilización de métodos anticonceptivos de barrera.
4. Evaluar la posible asociación de la infección por *C. trachomatis* con otros agentes responsables de infecciones genitales y con alteraciones de la microbiota habitual vaginal.
5. Determinar la prevalencia de *T. vaginalis*, *Candida* spp., *N. gonorrhoeae* y vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en un hospital público, y su asociación con la infección por *C. trachomatis*.
6. Determinar la prevalencia *T. vaginalis*, *N. gonorrhoeae*, HIV, sífilis y vaginosis bacteriana en mujeres trabajadoras sexuales, y su asociación con la infección por *C. trachomatis*.
7. Adaptar la tecnología apropiada para el diagnóstico de las infecciones por *C. trachomatis* al ámbito de la Universidad Nacional del Sur.
8. Elevar los resultados obtenidos a las autoridades de salud municipales.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Poblaciones estudiadas y muestras analizadas

Se realizó un estudio de corte transversal con un muestreo de mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público, trabajadoras sexuales y jóvenes de ambos sexos ingresantes a la Universidad Nacional del Sur (UNS).

Se analizaron las siguientes muestras según la población estudiada:

1. En las mujeres sintomáticas y asintomáticas que consultaron por alguna manifestación clínica genitourinaria o se controlaron en el Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero” de Bahía Blanca, se estudió una muestra endocervical y una muestra de fondo de saco.
2. En las trabajadoras sexuales que realizaron su control sanitario en el Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero”, se estudió una muestra de fondo de saco, una muestra endocervical y una muestra de sangre obtenida por punción venosa.
3. En los Ingresantes a la UNS se investigó la presencia de *C. trachomatis* en muestras de orina de primera fracción.

Las características de cada subpoblación se describirán detalladamente en el capítulo respectivo.

5.1.1. Toma de muestra de fondo de saco vaginal

Se colocó a la paciente en posición ginecológica. Se introdujo cuidadosamente el espéculo, empujando hacia el interior de la vagina sin forzarlo a ir en una dirección determinada, de manera que siguiera naturalmente la dirección del conducto vaginal. Se abrió el espéculo hasta visualizar el cuello del útero.

Luego se introdujo un hisopo estéril y se obtuvo, con movimientos rotatorios y sin presionar sobre la mucosa vaginal, material de la secreción acumulada en el

fondo de saco posterior de la vagina. Una vez tomada la primera muestra, el hisopo se introdujo en un tubo seco, para la realización de extendidos a colorear con Gram y Giemsa. Posteriormente, se realizó una segunda toma de fondo de saco que se introdujo en un tubo que contenía 0,5 ml de solución fisiológica estéril para la observación en fresco.

5.1.2. Hisopado endocervical

Con la paciente en la misma posición ginecológica y con el espéculo colocado, se procedió a limpiar el exceso de mucosidad con hisopo o torunda de algodón. Luego se introdujo un hisopo estéril de Dacrón unos 2 o 3 cm en el endocervix, se lo rotó al menos 30 segundos con el fin de recolectar células, y se lo retiró con la precaución de no contaminarlo con flujo vaginal. Se colocó el hisopo en un tubo que contenía solución fisiológica, y se agitó utilizando un vortex. Esta agitación se realizó en dos pulsos de 30 segundos cada uno, con un intervalo de al menos 1 minuto entre ambos.

Se extrajeron 150 μ l de la suspensión obtenida y se los transvasó a un tubo previamente rotulado, apto para ser colocado a baño María. Se colocó el tubo conteniendo la muestra en un baño María hirviendo durante 10 minutos. Luego, la muestra se conservó a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

5.1.3. Orina de primera fracción

Las muestras de orina fueron recogidas por el paciente, el cual colocó en un recipiente estéril 15 ml (volumen marcado previamente) de la primera fracción de orina de la mañana, o con una retención de por lo menos 3 horas.

Posteriormente, en el laboratorio, se homogeneizó la muestra recibida y se transvasaron 12 ml a un tubo cónico para centrífuga. Se procedió a centrifugar la orina a 3000 r.p.m. durante 10 minutos, a temperatura ambiente. Se descartó el sobrenadante y se resuspendió el pellet en el volumen restante. Se colocó una gota entre porta y cubreobjetos para realizar el estudio del sedimento urinario. La solución restante se transvasó a un tubo previamente rotulado y se colocó en un baño María hirviendo durante 10 minutos. Luego, la muestra se conservó a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

5.2. Detección de *Chlamydia trachomatis*

Para el análisis de *C. trachomatis* en hisopados endocervicales y muestras de orina se utilizó una técnica de amplificación génica (Reacción en Cadena de la Polimerasa, PCR) cuyo blanco molecular fue el gen *ompA*, correspondiente a la proteína principal de membrana externa (Lan *et al.*, 1993). Con el fin de evaluar la calidad de las muestras se realizó la amplificación de los genes *TNF α* y *β -globina*, también por PCR.

Para aumentar la sensibilidad y la especificidad de los resultados obtenidos, se trabajó con una técnica de amplificación génica semianidada (*heminested* PCR). Para ello, se emplearon los siguientes primers:

SERO1A (5'-ATGAAAAA ACTCTTGAAATCGG-3') y

SERO2A (5'-TTTCTAGATCTTCATTCTTGTT-3').

Para la segunda amplificación, se reemplazó el primer SERO1A por el pCTM3 (5'-TCCTTGCAAGCTCTGCCTGTGGGGAATCCT-3').

5.2.1. Procedimiento para la amplificación

Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR

A partir de los tubos conteniendo las muestras previamente hervidas, se inocularon 10 μ l de muestra hervida en 40 μ l de Mezcla de reactivos para PCR. Esta mezcla contenía, para cada tubo de reacción, 2 UI de enzima Taq DNA polimerasa, solución tamponada de reacción 1X, 0,2 mM de deoxi nucleótidos tri fosfato, 0,32 μ M de cada primer, 4% de Dimetil Sulfóxido, 1 mM de Cloruro de Magnesio, y agua ultrapura en cantidad suficiente para un volumen total de 50 μ l. Los tubos utilizados eran de tipo Eppendorf, con pared delgada.

La reacción de amplificación consistió en una desnaturalización inicial de 94°C por 7 minutos, luego 40 ciclos conformados por 1 minuto de desnaturalización a 94°C, 3 minutos de annealing a 45°C y 3 minutos de elongación a 72°C, y finalmente una elongación final de 72°C por 7 minutos.

Heminested PCR

Se cargó 1 μ l de la solución conteniendo el producto de la primera amplificación, en una mezcla de reacción exactamente igual a la anterior, utilizando los primers pCTM3- y A2, en lugar de A1 y A2. La reacción de amplificación fue idéntica a la primera en volumen final y tiempos de reacción.

5.2.2. Visualización de los resultados

Se mezclaron 10 μ l del producto de *heminested* PCR de cada muestra, con 2 μ l de solución colorante (comercial). Se sembraron 10 μ l de esta mezcla en un gel de agarosa al 1,5 % en solución tamponada Tris-borato-EDTA (TBE) 0,5X, y se añadió cantidad suficiente de solución tamponada TBE 0,5X a la cuba de electroforesis. Se realizó una corrida electroforética a voltaje constante de 80 V durante una hora.

Para teñir los geles se descartó la solución tamponada de corrida, se tomó el gel y se lo sumergió en una solución diluida de bromuro de etidio, en agua, durante 10 minutos. Se visualizó en un trans-iluminador de luz ultravioleta.

Las muestras que evidenciaron un producto de amplificación de 1000 pares de bases se consideraron positivas para la presencia de *Chlamydia trachomatis*.

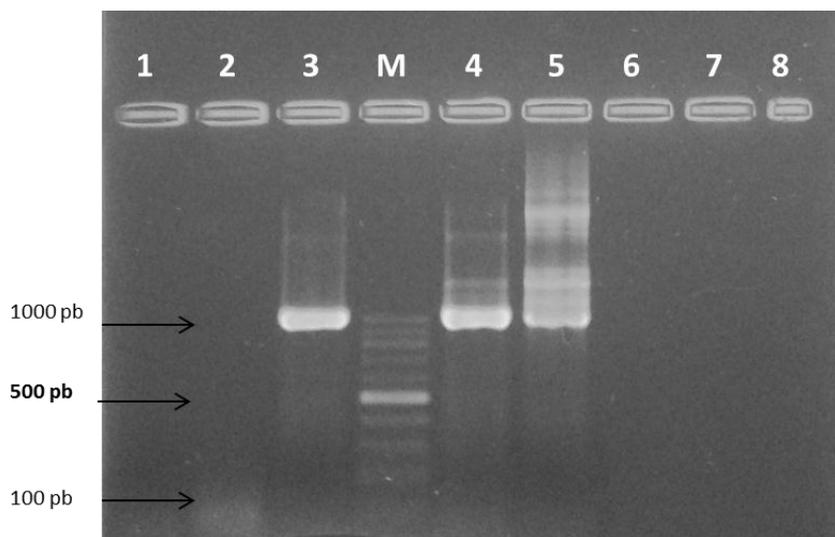


Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa 1,5 % de los productos de amplificación PCR-MOMP. M: marcador de peso molecular. Línea 5: control positivo. Línea 6: control negativo. Líneas 3 y 4: muestras positiva.

5.2.3. Genotipificación de cepas de *Chlamydia trachomatis*

Toda muestra clínica que hubiera dado un resultado positivo tras la reacción de amplificación del gen *ompA*, se sometió a un proceso de genotipificación por la técnica de detección del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, RFLP-PCR (Sayada *et al.*, 1991).

Digestión de los productos de amplificación

Se digirió el producto de amplificación del gen *ompA* de cada muestra con la enzima Alu I. Para ello se preparó una mezcla de reacción conteniendo 1 UI de la enzima, solución tamponada de reacción (comercial) 1X y agua ultrapura en cantidad suficiente para completar 5 μ l por tubo de reacción en el caso de que el producto a digerir se encontrara en baja concentración, o 10 μ l por tubo si el producto estuviera más concentrado.

Se añadió la muestra correspondiente a cada tubo de reacción (tubos tipo Eppendorf, con pared delgada), en un volumen de 10 o 15 μ l, dependiendo de la concentración del producto de amplificación del gen *ompA*. Se incubaron los tubos en estufa a 37°C durante 4 horas, y se cortó la digestión trasladándolos a -20°C luego de ese lapso.

Visualización de los Patrones de Restricción

Se preparó un gel de poliacrilamida al 12 %, empleando 4 ml de solución al 30 % de acrilamida:bisacrilamida 29:1, 4ml de agua destilada, 2 ml de solución tamponada TBE 5X, 70 μ l de persulfato de amonio al 10 % en agua, y 4 μ l de TEMED.

Una vez polimerizado correctamente el gel, se sembraron 10 μ l de la mezcla de digestión de cada muestra por calle, mezclados con 2 μ l de solución colorante (comercial), y se realizó una corrida electroforética a voltaje constante de 80 V durante 90 minutos aproximadamente.

Luego se retiró el gel de la cuba de electroforesis, y se lo sumergió para su tinción en una solución diluida de bromuro de etidio.

Los patrones de bandas resultantes para cada muestra se visualizaron en un transiluminador de luz ultravioleta.

5.3. Determinación del estado de Vaginosis Bacteriana.

El estado de Vaginosis Bacteriana se estableció mediante el estudio morfológico del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) (Guía práctica integral diagnóstico vaginosis-vaginitis, 2010), que incluyó el análisis en fresco, por tinción de Gram y culminó con un estudio por coloración de Giemsa.

El informe del BACOVA se construyó en base a dos números. Uno que refiere al estado de la microbiota vaginal (Valor Numérico de Nugent) (Nugent *et al.*, 1991) y el otro, que interpreta el estado de la reacción inflamatoria vaginal (RIV), que indica la cantidad de leucocitos presentes en el contenido vaginal.

5.3.1. Examen en fresco

Preparación

Se utilizó el hisopo, correspondiente a la muestra de fondo de saco vaginal, que se encontraba en el tubo con 0,5 ml de SF estéril. Se homogeneizó manualmente, tratando de transferir la mayor cantidad de material a la fase líquida. Se colocaron unas “gotas” de la suspensión entre porta y cubreobjetos para la observación en fresco.

Esta etapa se realizó lo antes posible, luego de obtenida la muestra, para aumentar la sensibilidad del diagnóstico de *T. vaginalis* (TV), bacterias móviles y asegurar la estabilidad de la morfología celular.

Lectura

Se realizó la lectura con aumento de 400X. Se tuvieron en cuenta los siguientes criterios:

- a) Apreciación global de la relación de lactobacilos y el resto de la microbiota habitual, generando un Valor Numérico (VN) preliminar de apreciación subjetiva, que oriente a ubicar el preparado en una de las tres categorías numéricas, de 0 a 3; 4 a 6; 7 a 10. Este resultado será verificado luego mediante el recuento relativo estandarizado en el Gram.
- b) Detección de bacterias móviles compatibles con *Mobiluncus*
- c) Presencia de levaduras.
- d) Presencia de *T. vaginalis*.

- e) Apreciación global preliminar subjetiva, de la relación de leucocitos por campo y leucocitos por célula epitelial por campo microscópico, con aumento de 400X.
- f) Detección de morfotipos bacterianos extraños.
- g) Prolija evaluación de la presencia de células guía y células “redondas” o francamente distintas de aquellas epiteliales típicas, de presencia habitual en el CV normal.
- h) Toda otra evidencia anormal que se detecte.

5.3.2. Coloración de Gram

Reactivos y preparación:

- *Violeta de Genciana fenicado*
 - Violeta de Genciana: 10 g
 - Fenol: 20 g
 - Alcohol absoluto (96°): 100 ml
 - Agua destilada / csp 1000 ml

Se disolvió el violeta de Genciana con el fenol previamente fundido a Baño María, al que se le añadió el alcohol. Se dejó hasta completa disolución aproximadamente 1 día y se completó con agua destilada. La solución quedó en reposo durante 1 mes en un frasco color caramelo. Finalmente se filtró para su uso.

- *Solución de Lugol*
 - Yodo: 5 g
 - Yoduro de potasio IK: 10 g
 - Agua destilada.: 1000 ml

En una botella color caramelo se colocó el IK, previamente disuelto en 100 ml de agua destilada. Se agregó 5 g de yodo, agitando para su disolución. Se completó el volumen a 1000 ml con agua destilada.

- *Decolorante*
 - Alcohol de 96°: 80 ml
 - Acetona: 20 ml

- *Fucsina*

Fucsina básica: 10 g

Alcohol de 96°: 100 ml

Fenol 95%: 10 ml

Agua destilada csp 1000 ml

En una botella color caramelo se colocaron la fucsina básica, 100 ml de alcohol de 96° y 10 ml de fenol. Se dejó 48 hs. en estufa a 37°C y se llevó a 1000 ml con agua destilada. Luego de decantar la solución durante 1 mes y se filtró antes de usar.

Preparación de los extendidos

Con el hisopo en tubo seco, proveniente de la muestra vaginal, se realizó el extendido en un portaobjetos desengrasado, limpio y seco, generando una capa fina. Se fijó por calor y se procedió a la tinción de Gram.

Tinción de Gram

1. Cubrir la preparación con Violeta de Genciana y dejar actuar 1 minuto.
2. Lavar con agua.
3. Cubrir con Lugol durante 1 minuto.
4. Lavar con agua.
5. Decolorar con alcohol-acetona con cuidado hasta que arrastre el colorante.
6. Lavar con agua.
7. Cubrir con fucsina diluida al décimo durante 30 segundos.
8. Lavar con agua.

Lectura

El extendido teñido con la coloración de Gram, observado con el aumento máximo y objetivo de inmersión, permitió establecer el Valor Numérico de 1 a 10 de acuerdo al estudio de los morfotipos de la microbiota habitual vaginal, y determinar la cantidad de leucocitos por campo 1000X (RIV).

En la tabla 6 se presenta el diagrama de la metodología propuesta por Nugent.

Tabla 6. Interpretación de la coloración de Gram para generar el valor numérico

Valor numérico que se otorga por campo	Lactobacilos	Bacilos cortos Gram variables	Bacilos curvos Gram negativos
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ o 2+
2	2+	2+	3+ o 4+
3	1+	3+	
4	0	4+	

El valor numérico se asignó teniendo en cuenta la proporción relativa de tres criterios morfológicos:

- ✓ Morfotipo lactobacilos, Gram positivos
- ✓ Morfotipo de bacilos pequeños Gram variables compatibles con *Gardnerella*, bacteroides y otros anaerobios.
- ✓ Morfotipo de bacilos curvos Gram negativos.

Las “cruces” (+) en cada caso se asignaron de acuerdo a la siguiente interpretación de la lectura de cada campo microscópico:

Cero (0)	Ausencia del morfotipo que se evalúa
Una (1+)	Un morfotipo o ninguno por campo
Dos (2+)	Un morfotipo a cuatro
Tres (3+)	Entre cinco a treinta morfotipos por campo
Cuatro (4+)	Treinta o más morfotipos presentes.

Posteriormente se realizó el recuento de cada morfotipo por campo, se promedió de acuerdo al número de campos observados y se obtuvo el puntaje correspondiente sumando el valor obtenido para cada morfotipo.

La detección de “células guía”, en cualquiera de los extendidos, independiente de su número significó la corrección del valor numérico básico de Nugent, sumando dos puntos cuando éste se ubica entre 0 a 6 (Lanzafame *et al.*, 2000). Valores numéricos de 7 o más son considerados de hecho indicadores de

franca alteración de la microbiota vaginal y no requieren corrección (Manual de procedimientos BACOVA, 2011)

El valor numérico de Nugent se expresó de 0 a 10 de acuerdo a la siguiente interpretación:

- de 0 a 3, **microbiota normal** (mayoría de lactobacilos),
- 4 a 6, **microbiota intermedia** (disminución de lactobacilos y aumento anormal de otras bacterias habituales del contenido vaginal)
- 7 a 10, con ausencia de RIV, **vaginosis bacteriana** (desaparición práctica de lactobacilos y crecimiento anormal de la microbiota habitual fundamentalmente anaeróbica)

5.3.3. Coloración de Giemsa

Reactivos y preparación

- Metanol
- Colorante de Giemsa: solución en alcohol metílico y glicerina, de eosina, azul de metileno y azur II.
- Agua tamponada pH 7,2(tampón fosfato 0,1M)

Se preparó con 38 g de fosfato disódico (Na_2HPO_4) y 12 g de fosfato monosódico monohidrato ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$) y 1000ml de agua destilada.

Preparación de los extendidos

Se trabajó con el mismo hisopo usado para la coloración de Gram y se realizó el extendido en un portaobjetos desengrasado, limpio y seco. Se fijó con metanol durante 3 minutos y se procedió a la tinción de Giemsa.

Tinción de Giemsa

1. Cubrir la preparación con una dilución acuosa de Giemsa en agua destilada neutra (1 gota de colorante por ml de agua destilada).
2. Dejar actuar 15 minutos.
3. Lavar con agua.
4. Secar.

Lectura

La lectura del extendido teñido por Giemsa permitió:

- a) Evaluar definitivamente la RIV, determinada como N° de leucocitos / célula epitelial / campo, en los caso de mujer embarazada y en aquellos que existan resultados previos en los límites de corte.
- b) Verificar o detectar la presencia o no de *T. vaginalis*.
- c) Verificar o detectar la presencia o no de levaduras.
- d) Confirmar o detectar células guía.
- e) Confirmar la racionalidad del VN aproximado por la lectura del fresco y determinado por el estudio en el Gram.
- f) Confirmar o detectar la presencia de células epiteliales no habituales del contenido vaginal.

5.4. Determinación de la Reacción Inflamatoria Vaginal (RIV)

Para determinar el grado de Reacción Inflamatoria Vaginal (presencia o ausencia de RIV) se estableció el número de leucocitos en el contenido vaginal. Se utilizó un valor de corte de 10 leucocitos por campo microscópico, al efectuar la lectura con 400X de aumento, en el examen en fresco y en la coloración de Giemsa de las muestras vaginales (Guía práctica integral diagnóstico vaginosis-vaginitis, 2010).

El valor de corte fue de 5 leucocitos por campo cuando la lectura se realizó con 1000X en el Gram y de 1 leucocito/célula epitelial/campo con 400X en el Giemsa.

5.5. Reconocimiento de Estados Vaginales Básicos

El diagnóstico de vaginosis utilizando sólo el valor numérico de Nugent puede llevar a confusiones ya que no se distinguen los estados reales de vaginosis y vaginitis (Romero *et al.* 2004).

El estudio Microscópico del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) permite establecer, en base a la combinación del valor numérico de Nugent (VN) y la reacción inflamatoria vaginal (RIV), cinco Estados Vaginales Básicos (EVB) (Tabla 7), a partir de los cuales se construye la base diferencial de las patologías vaginales más frecuentes, con el más alto valor predictivo (vaginosis/vaginitis) (Guía práctica integral diagnóstico vaginosis-vaginitis, 2010).

Tabla 7. Estados vaginales básicos

Estados Vaginales Básicos	VN	RIV	Interpretación
I. Microbiota Normal	0 a 3	NO	Predominio de lactobacilos
II. Microbiota Normal + RIV	0 a 3	SI	Predominio de lactobacilos, con reacción inflamatoria significativa vaginal presente
III. Microbiota Intermedia	4 a 6	NO	Equilibrio de lactobacilos y bacterias anaerobias
VI. Vaginosis Bacteriana	7 a 10	NO	Predominio de bacterias anaerobias
V. Vaginitis Microbiana Inespecífica	4 a 10	SI	Alteración de la relación lactobacilos y anaeróbicos, con reacción inflamatoria significativa presente

5.6. Determinación del pH vaginal

El pH de cada muestra se determinó con una tira de papel indicador de pH de rango 1 a 10 (Merck). El análisis se llevó a cabo introduciendo el papel de pH en el tubo con 0,5 ml de solución fisiológica estéril que contiene el hisopo con la muestra del fondo de saco vaginal. Se dejó reposar durante 6 segundos antes de

comparar la coloración con la escala colorimétrica para obtener el pH de la vagina.

5.7. Detección de *Trichomonas vaginalis*

El tubo que contenía el hisopo con la muestra de fondo de saco en solución fisiológica, se homogeneizó manualmente para transferir la mayor cantidad de material a la fase líquida. Luego se colocaron unas gotas de la suspensión entre porta y cubreobjetos para la observación microscópica en fresco. Con el fin de aumentar la sensibilidad del diagnóstico, esta lectura se realizó lo antes posible, evitando así la pérdida de la movilidad típica del parásito.

Simultáneamente se realizaron extendidos con el hisopo en seco de la muestra vaginal y, previamente fijados, se colorearon con la tinción de Giemsa. Se determinó la presencia del parásito caracterizado por su citoplasma celeste, núcleo excéntrico, axostilo longitudinal y vacuolización con aumento de 1000X.

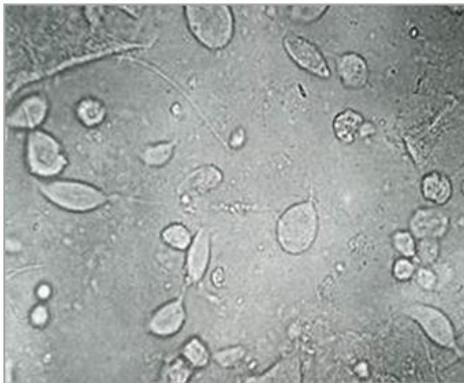


Figura 23. *Trichomonas vaginalis*: observación en fresco con solución fisiológica (400X).

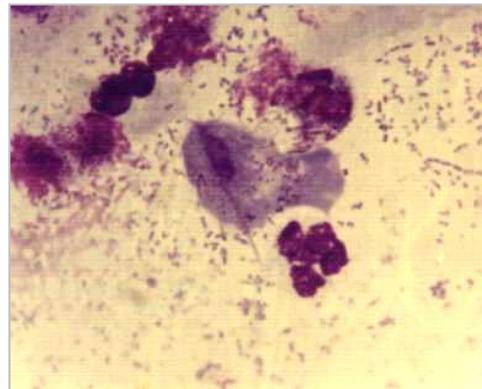


Figura 24. *Trichomonas vaginalis*: coloración de Giemsa (1000X).

5.8. Detección de *Neisseria gonorrhoeae*

Los hisopados endocervicales fueron rápidamente inoculados en medio Thayer-Martin modificado. Las placas se incubaron en 5% de CO₂ a 37°C y luego

de 24 - 48 horas se examinaron para realizar una identificación presuntiva de *N. gonorrhoeae* en base a la morfología de las colonias (pequeñas, blanco grisáceas de 1 a 3 mm), coloración de Gram (cocos Gram negativos arriñonados), prueba de la oxidasa positiva y fermentación de la glucosa.

5.9. Detección de *Candida* spp.

Los hisopados vaginales obtenidos de fondo de saco posterior se destinaron a la observación microscópica en fresco para determinar la presencia de brotes y pseudomicelios de levaduras. Posteriormente las muestras fueron inoculadas en medio Sabouraud, a 37°C durante 48 horas, y luego se les realizó pruebas rápidas de identificación. Se determinó la presencia de tubos germinativos con la prueba del suero (Factor Reynolds Braude).

Prueba del suero (Factor Reynolds Braude)

Se sembró con ansa en punta una pequeña cantidad de la colonia en 0,5 a 1 ml de suero humano o plasma y se incubó a 37°C durante 3 hs. Se observó la presencia o ausencia de tubos germinativos.

5.10. Pruebas serológicas

Todas las muestras de suero de la subpoblación de trabajadoras sexuales fueron tamizadas en búsqueda de anticuerpos contra *Treponema pallidum* mediante el test de VDRL (Wiener Laboratories, Rosario, Argentina) y aquellas muestras reactivas fueron confirmadas por la prueba de Hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA).

El diagnóstico de HIV se realizó por medio de ELISA, Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (Wiener Laboratories, Rosario, Argentina). Las muestras positivas fueron confirmadas por Western blot (WB) assay (Novapath HIV-I, Immunoblot, BioRad, CA).

5.11. Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa Epi Info versión 3.3.2 (CDC, Atlanta). Para el análisis de las variables se aplicó el test de Chi- cuadrado y el método binomial exacto. Se consideraron como estadísticamente significativos valores de $p < 0,05$ y se calculó el *Odds Ratio* (OR) con un 95% de índice de confianza como medida de asociación o efecto.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Capítulo I: Infección por *C. trachomatis* en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público

En este capítulo se determinó la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* y de otras infecciones del tracto genital, y se evaluaron los factores de riesgo asociados, en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero” de la ciudad de Bahía Blanca.

6.1.1. Introducción

El Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero (HMALL), junto con los Centros de Salud y las Unidades Sanitarias integran el Sistema de Salud Municipal de la ciudad de Bahía Blanca. El rol del HMALL en el Plan de Salud Municipal es el de brindar atención de segundo y tercer nivel tanto en pacientes ambulatorios como en internación. Mientras que en los Centros de Salud y las Unidades Sanitarias el objetivo está centrado en optimizar y fortalecer el primer nivel de asistencia de la salud y los programas de Atención Primaria de la Salud.

Durante el año 2006 el Servicio de Ginecología del HMALL recibió 6.439 consultas. Del total de mujeres que acudieron a la consulta, aproximadamente el 70 % lo hizo por síntomas genitourinarios, principalmente flujo abundante, dolor abdominal y/o sangrado anormal. El resto fueron mujeres asintomáticas que realizaron sus controles ginecológicos de rutina o de embarazo.

Las infecciones de las vías genitales representan uno de los principales motivos de consulta en mujeres en edad fértil, embarazadas o no. Su presencia puede generar un daño directo en la salud reproductiva, una pérdida sensible en la calidad de vida de la mujer y aumentar los riesgos de adquirir y transmitir la infección por HIV (OMS, 1999).

Una microbiota fisiológica del tracto genital puede proteger contra enfermedades infecciosas genitales y/o la transmisión de infecciones

transmisibles sexualmente (ITS). Este sistema microbiano local es muy dinámico y el equilibrio entre sus componentes puede ser alterado por cambios fisiológicos o no fisiológicos, mediados por el estado hormonal, el comportamiento sexual, la sangre vaginal, cuerpos extraños y/o el uso concomitante de medicamentos (Tibaldi *et al.*, 2009).

Algunas infecciones genitales son adquiridas por contacto sexual, como las causadas por *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis*, HPV y HIV entre las más frecuentes. Otras, en cambio, son producidas por una alteración de la microbiota habitual de la vagina o por el crecimiento excesivo de alguno de sus integrantes, como la vaginosis bacteriana o la infección por levaduras respectivamente.

Las infecciones por *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* en mujeres pueden ser asintomáticas hasta en el 75 % de los casos (Conejero *et al.*, 2013). Por el contrario, la vaginosis bacteriana, la trichomonosis y la candidiasis suelen asociarse con aumento de la secreción vaginal y otros síntomas genitourinarios.

La vulvovaginitis por levaduras es una causa frecuente de consulta ginecológica en mujeres, particularmente de aquellas en edad fértil. Las levaduras causantes de vaginitis forman parte del contenido microbiano habitual de los tractos gastrointestinal, genital y respiratorio, y de la piel y las mucosas del ser humano (García *et al.*, 2006).

Tanto la colonización como la infección vaginal micótica son más frecuentes en el embarazo y en mujeres que presentan otros factores predisponentes. Las infecciones suelen ser de origen endógeno por modificación del ecosistema microbiano vaginal, ya sea después de un tratamiento antibiótico o por la disminución de las defensas inmunitarias del hospedador, como en el caso de corticoterapia, las enfermedades inmunosupresoras, la diabetes no controlada, la obesidad, el estrés, el uso de anticonceptivos hormonales o la terapia de reemplazo hormonal. Otros factores que pueden contribuir a la infección son el uso de ropa interior de nylon y la utilización de duchas vaginales (Corsello *et al.*, 2003; Fidel *et al.*, 2004).

La portación asintomática de *Candida* spp., en vagina de mujeres no gestantes oscila entre 10 y 17 % y aumenta hasta un 35 % en el embarazo

(Margariti *et al.*, 1997). Se estima que hasta un 75 % de las mujeres sexualmente activas sufren candidiasis vaginal al menos una vez en la vida y entre el 5 a 10 % de ellas la padecen en forma recurrente (tres o más episodios en 1 año) (Fidel *et al.*, 2004; Reyna *et al.*, 2004).

La candidiasis vulvovaginal es causada principalmente por un crecimiento excesivo de *Candida albicans* (90 % de los estudios diagnósticos con identificación de especie), en el 10 % restante las principales especies identificadas son *C. glabrata* y *C. tropicalis* (Lassey *et al.*, 2004).

En la mujer sintomática la vulvovaginitis por levaduras se presenta con leucorrea blanca o amarillenta, grumosa, con prurito y eritema vulvovaginal, dolor, disuria, dispareunia y un pH vaginal menor ó igual a 4,5.

La infección por *Trichomonas vaginalis* es la enfermedad no viral de transmisión sexual más común en todo el mundo, con 170 a 190 millones de casos nuevos cada año (Schwebke *et al.*, 2004; Sherrard *et al.*, 2011).

El término “trichomonosis” sería la denominación correcta para la infección por *T. vaginalis*, según la recomendación del grupo de expertos designados por el Comité Ejecutivo de la *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology* (W.A.A.V.P.), la cual fue publicada en *Veterinary Parasitology* en el año 1988 (del Campillo, 2001; Náquira, 2005). El uso corriente e incluso la literatura internacional utilizan los términos tricomonosis, tricomoniosis, tricomoniasis o trichomoniasis para referirse a esta infección parasitaria.

La trichomonosis se ha asociado con uretritis, vaginitis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica e infertilidad tubárica. Además, la infección por *T. vaginalis* durante el embarazo predispone a rotura prematura de membranas, trabajo de parto pretérmino y bajo peso al nacer (Perazzi *et al.*, 2007). Investigaciones recientes sugieren que también puede ser un factor importante para la adquisición y transmisión del HIV (McClelland *et al.*, 2007).

Puede presentarse en forma asintomática en un 10 a un 50 % de los casos, de los cuales un 50 % podrían presentar síntomas de infección dentro de los 6 meses posteriores (Swygard, 2004). En general, el hombre no presenta síntomas, por lo que suele actuar como portador asintomático (Perazzi, 2007).

Los aspectos clínicos de la vaginitis por *T. vaginalis* incluyen leucorrea espumosa, amarillo-verdosa o grisácea y mal oliente, prurito, dispareunia, disuria, dolor abdominal bajo, hemorragia post coito y pH mayor a 4,5.

El aumento de la reacción inflamatoria vaginal (RIV) se produce generalmente en la vaginitis, por levaduras o por tricomonas, con o sin alteración de la microbiota habitual. En algunos casos la presencia aumentada de leucocitos en el contenido vaginal puede deberse a infección cervical (como la causada por *C. trachomatis*) o eventualmente del sistema urinario.

La vaginosis bacteriana (VB) es un síndrome clínico asociado a un cambio en el balance de la microbiota habitual del contenido vaginal, específicamente referido a una disminución en la cantidad relativa de lactobacilos y a un aumento de la microbiota anaerobia habitual (Nugent *et al.*, 1991). A pesar de ésta alteración en la carga microbiana no se observa respuesta inflamatoria vaginal (RIV) (Geisler *et al.*, 2004).

Entre los factores que intervienen en la alteración de la microbiota vaginal, observada en la VB, se encuentran los niveles de estrógenos, las conductas sexuales, los cuerpos extraños y/o el uso de medicaciones (Tibaldi *et al.*, 2009).

El estado de vaginosis, además de favorecer el crecimiento relativo de la microbiota anaeróbica habitual de la vagina, aumenta significativamente las colonizaciones bacterianas oportunistas en el contenido vaginal e incrementa simultáneamente el riesgo de adquirir infecciones transmisibles sexualmente (ITS) en aquellas mujeres sexualmente activas.

Hasta el presente no se ha demostrado una etiología infecciosa específica del estado de vaginosis (Spiegel, 1991). Es posible que bacterias habituales del contenido vaginal, como *Gardnerella vaginalis*, *Atopobium vaginae*, *Mycoplasma sp.*, *Ureaplasma sp.*, *Prevotella sp.*, *Clostridium sp.*, *Leptotrichia sp.*, y *Megasphaera sp.*, entre otras puedan ser agresivas en esta situación (Nansell *et al.*, 2006).

Ante la ausencia de un agente etiológico específico de la vaginosis bacteriana, existen muchas controversias con respecto a los criterios diagnósticos. Según Amsel, para definir la entidad clínica de vaginosis bacteriana deben estar presentes tres de los cuatro siguientes criterios: flujo vaginal

abundante y homogéneo, pH >4,5, prueba de aminas positiva y presencia de células guía (clue cells) (Amsel *et al.*, 1983).

Actualmente, la interpretación de la coloración de Gram aplicando el criterio de Nugent es considerada la prueba de oro ya que esta metodología demostró mayor sensibilidad y especificidad que los criterios clínicos de Amsel y la coloración de Papanicolau (Schwebke *et al.*, 1996; Yen *et al.*, 2003).

Nugent y colaboradores desarrollaron un criterio normativo para interpretar la coloración de Gram asignando un puntaje de 1 a 10 (Nugent *et al.*, 1991). Para ello se tiene en cuenta la presencia y cantidad de cuatro morfotipos: bacilos Gram positivos tipo *Lactobacillus* spp., bacilos Gram variables compatibles con *Gardnerella vaginalis*, pequeños bastones compatibles con *Bacteroides* spp., y bacilos Gram negativos curvos. Se considera vaginosis bacteriana puntajes de 7 a 10, microbiota intermedia de 4 a 6 y microbiota normal de 0 a 3.

Aplicando el factor de corrección propuesto por Lanzafame (Lanzafame *et al.*, 2000), que consiste en la adición de dos puntos al puntaje original de Nugent por la presencia de células guía, autores argentinos presentaron la validación del estudio del Balance del Contenido Vaginal (BACOVA) (Di Bartolomeo *et al.*, 2002). Ellos demostraron que la integración de los criterios de Nugent y Amsel, si bien no modifica el resultado en forma significativa, mejora la sensibilidad y especificidad y, además, representa un método sencillo, de bajo costo y reproducible, principalmente para los laboratorios de primer nivel de atención.

Los signos y síntomas de la VB y de las infecciones por *T. vaginalis* y *Candida* spp., en muchos casos están ausentes, o se pueden presentar individualmente o en conjunto, de manera arbitraria y no resultan patognomónicos para ningún síndrome determinado (Guía práctica integral diagnóstico vaginosis-vaginitis, 2010).

La mayoría de las infecciones causadas por *C. trachomatis* en mujeres son asintomáticas. Sin embargo, las manifestaciones clínicas incluyen cervicitis, uretritis, endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), y abscesos de las glándulas de Bartholin. Al menos un tercio de las mujeres con cervicitis presentan signos locales de infección, tales como sangrado, edema y exudado

mucopurulento endocervical, en el que se detectan leucocitos polimorfonucleares con la tinción de Gram (Roca, 2007).

6.1.2. Población y muestras

El diseño epidemiológico adoptado fue observacional y de corte transversal. Se incorporaron al estudio las muestras vaginales y endocervicales de mujeres sexualmente activas que asistieron a la consulta ginecológica en el Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero” de Bahía Blanca, entre el 16 de mayo de 2006 y el 24 de mayo de 2007. Los estudios bacteriológicos genitales solicitados se efectuaron en el Laboratorio Central del Hospital.

La población incluyó pacientes sintomáticas y asintomáticas. Se definió como población sintomática a todas las mujeres que acudieron a consulta ginecológica por alguna sintomatología genitourinaria (flujo anormal, sangrado post-coito, disuria, dispareunia, prurito, dolor abdominal, dismenorrea). La población de mujeres asintomáticas fue definida como todas las mujeres que asistieron a la consulta como rutina de control ginecológico o de embarazo, sin presentar síntomas ni signos.

Todas las participantes completaron voluntariamente un consentimiento informado y un cuestionario estándar (Anexo 1 y 2). Se recabó información relacionada con las características sociodemográficas (edad, nacionalidad, estado civil, cantidad de hijos), prácticas sexuales (número de parejas sexuales, uso de método anticonceptivo) y ocurrencia de infecciones genitales previas.

Se tomaron muestras de fondo de saco y endocervicales para la investigación de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *Candida* spp., y vaginosis bacteriana.

6.1.3. Resultados

Características de la población estudiada

Se incluyeron en el estudio 295 muestras de mujeres, con edades comprendidas entre 15 y 60 años, promedio $29,30 \pm 9,72$ años.

La presencia de sintomatología genitourinaria se registró en el 76,61 % de los casos. La mayoría de las mujeres eran de nacionalidad argentina (91,52 %), declararon un domicilio permanente (90,85 %) y tenían una pareja estable (85,42 %).

Con respecto a los datos ginecológicos y de actividad sexual, el 38,64 % no tenía hijos y el 35,25 % tenía 1 o 2. El 13,56 % estaba embarazada y el 36,48 % había perdido uno o más embarazos. La edad de inicio de las relaciones sexuales en las mujeres encuestadas osciló entre los 4 y 30 años (media de 16,66 años) y un 5,76 % comenzó su actividad sexual antes de los 14 años. El 79,66 % tenía una única pareja sexual en el último año.

Sufrieron infecciones genitales previas al estudio el 51,86 % de la población estudiada. Los métodos anticonceptivos más utilizados fueron las píldoras (40,34 %) y el preservativo (21,02 %), mientras que el 30,16 % refirió no usar anticonceptivos.

Las características de la población analizada se muestran en la tabla 8.

Tabla 8. Características de las mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistieron al HMALL de Bahía Blanca desde mayo de 2006 a mayo de 2007.

Característica (Media ± Desviación estándar)	n	Número de mujeres por grupo	%
Edad (años) (29,30 ± 9,72)	295		
≤ 16		5	1,70
17 – 26		137	46,44
27 – 36		88	29,83
37 – 46		47	15,93
> 46		18	6,10
Nacionalidad	295		
Argentina		270	91,52
Chilena		18	6,10
Boliviana		4	1,36
Uruguay		2	0,68
Paraguay		1	0,34
Domicilio permanente	295		
Si		268	90,85
No		27	9,15

Tabla 8. Continuación

Característica (Media \pm Desviación estándar)	n	Número de mujeres	%
Estado civil	295		
Soltera		153	51,86
Casada		77	26,10
En pareja		48	16,27
Divorciada		15	5,09
Viuda		2	0,68
Pareja estable	295		
Si		252	85,42
No		43	14,58
Embarazada	295		
Si		40	13,56
No		255	86,44
Embarazos perdidos (0,58 \pm 0,92)	159		
Ninguno		101	63,52
1		31	19,50
2		23	14,47
3 o más		4	2,51
Nº de hijos (1,55 \pm 1,69)	295		
Ninguno		114	38,64
1-2		104	35,25
3-4		56	18,99
5 o más		21	7,12
Nº de parejas sexuales en el último año (1,29 \pm 1,24)	295		
Ninguna		5	1,70
1		235	79,66
2		39	13,22
3		12	4,07
4 o más		4	1,35
Método anticonceptivo utilizado	295		
Píldoras		119	40,34
Preservativo		62	21,02
DIU		20	6,78
Inyecciones		5	1,70
Ninguno		89	30,16
Edad de inicio sexual (años) (16,66 \pm 2,69)	295		
≤ 13		17	5,76
14-16		132	44,75
17-19		108	36,61
≥ 20		38	12,88

Tabla 8. Continuación

Característica (Media \pm Desviación estándar)	n	Número de mujeres	%
Sintomatología urogenital	295		
Presente		226	76,61
Ausente		69	23,39
Infecciones genitales previas	295		
Si		153	51,86
No		142	48,14

Prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, otras infecciones genitales y vaginosis bacteriana

El 38,31 % (113/295) de las muestras estudiadas presentó al menos uno de los microorganismos o estados patológicos investigados. La prevalencia de infección por *C. trachomatis* fue 3,05 % (IC 95% 1,09-5,01) en el grupo total (9/295), 2,65 % (IC 95% 0,56-4,75) en las mujeres sintomáticas (6/226) y 4,35 % (IC 95% 0,00-9,16) en las mujeres asintomáticas (3/69).

La genotipificación de las muestras positivas para *C. trachomatis* demostró que el genotipo E fue el de circulación más frecuente (44,44 %), seguido por el F (33,33 %), D (11,11 %) y grupo I/J (11,11 %) (Figura 25).

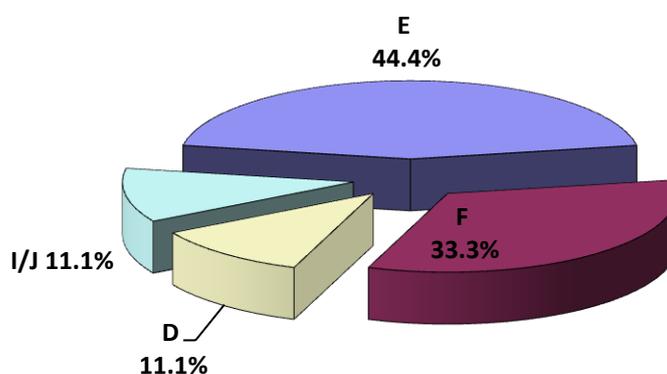


Figura 25. Distribución de genotipos de *C. trachomatis* en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca

La prevalencia de otras infecciones genitales y de vaginosis bacteriana en la población estudiada fue: *T. vaginalis* 3,73 % (IC 95% 1,57-5,89), *Candida* spp.

13,90 % (IC 95% 9,95-17,85) y vaginosis bacteriana 21,36 % (IC 95% 16,68-26,03). No se detectó infección por *N. gonorrhoeae* (Tabla 9).

Tabla 9. Prevalencia de ITS, *Candida* spp. y vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca (n = 295).

Agente patógeno o estado patológico	N° de casos	Prevalencia (%)
Infecciones Transmisibles Sexualmente		
<i>C. trachomatis</i>	9	3,05
<i>T. vaginalis</i>	11	3,73
<i>N. gonorrhoeae</i>	0	0,00
<i>Candida</i> spp.	41	13,90
Vaginosis Bacteriana	63	21,36

Sintomatología y factores asociados

El 76,61 % (226/295) de las mujeres fueron sintomáticas y el 23,39 % (93/295) asintomáticas.

Entre las 226 mujeres que presentaron síntomas clínicos urogenitales se detectó alguna infección genital o vaginosis bacteriana en 93 participantes (41,15 % de las sintomáticas), mientras que en las 133 restantes (58,85 %) no se estableció la causa de los síntomas. Por otra parte, entre las 69 mujeres asintomáticas se halló algún microorganismo o vaginosis bacteriana en 31 muestras (44,94 % de las asintomáticas) y en 38 muestras (55,07 %) no se obtuvieron resultados positivos. La tabla 10 muestra la frecuencia de infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas y asintomáticas.

Tabla 10. Frecuencia de infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.

	Total		Sintomáticas (n = 226)		Asintomáticas (n = 69)	
	n	%	n	%	n	%
<i>C. trachomatis</i>	9	3,05	6	2,65	3	4,35
<i>T. vaginalis</i>	11	3,73	5	2,21	6	8,70
<i>Candida</i> spp.	41	13,90	35	15,49	6	8,70
Vaginosis Bacteriana	63	21,36	47	20,80	16	23,19
Total	124	42,04	93	41,15	31	44,94

En la Figura 26 se observa la comparación, entre mujeres sintomáticas y asintomáticas, de las frecuencias de infecciones genitales y vaginosis bacteriana, en la población estudiada.

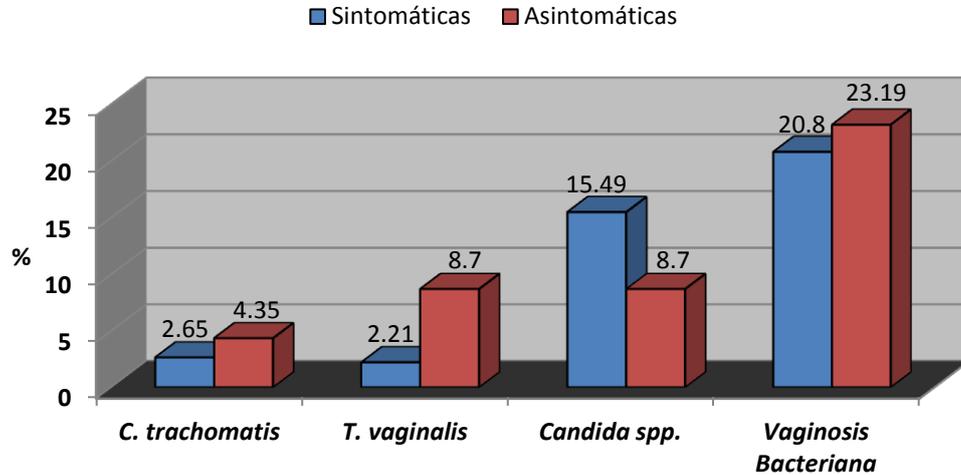


Figura 26. Frecuencia de infecciones por *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, *Candida spp.*, y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca (n=295).

La consulta por síntomas urogenitales se asoció positivamente con las mujeres que tuvieron una o ninguna pareja sexual en el último año ($p < 0,0001$; OR = 3,73; $1,96 < OR < 7,10$) y con aquellas mujeres que utilizaron anticonceptivos orales ($p < 0,01$; OR = 2,29; $1,21 < OR < 4,35$). También, la presencia de síntomas se asoció negativamente con las participantes que no utilizaron ningún método anticonceptivo ($p < 0,05$; OR = 0,50; $0,27 < OR < 0,91$) y con el embarazo ($p < 0,0001$; OR = 0,14; $0,07 < OR < 0,31$). La tabla 11 muestra los factores asociados a sintomatología urogenital.

Tabla 11. Factores asociados a sintomatología urogenital en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.

Factor asociado	Sintomáticas (n=226)	Asintomáticas (n=69)	p	OR
N° parejas sexuales				
0-1	191	41	$< 0,0001$	3,73 (1,96 < OR < 7,10)
2 o más	35	28		
Anticonceptivos orales				
Si	101	18	$< 0,05$	2,29 (1,21 < OR < 4,35)
No	125	51		

Tabla 11. Continuación

Factor asociado	Sintomáticas (n=226)	Asintomáticas (n=69)	p	OR
Método anticonceptivo				
Ninguno	60	29	< 0,01	0,50 (0,27 < OR < 0,91)
Alguno	166	40		
Embarazo				
Si	16	24	< 0,0001	0,14 (0,07 < OR < 0,31)
No	210	45		

Factores de riesgo asociados a la infección por *C. trachomatis*, otras infecciones genitales y vaginosis bacteriana

El análisis de las características de las mujeres participantes, permitió determinar los factores de riesgo relacionados con la presencia de *C. trachomatis*, otros agentes causantes de infecciones genitales o desequilibrios de la ecología vaginal. (Tabla 12).

La infección por *C. trachomatis* estuvo asociada con el grupo etario de 17 - 26 años, $p < 0,01$, OR = 9,74 (1,22 < OR < 210,23), y con haber tenido más de una pareja sexual en el último año, $p < 0,001$, OR = 9,67 (2,06 < OR < 50,81). La edad, la nacionalidad, el estado civil, el número de hijos, los embarazos pedidos y el estado de gravidez de las participantes no estuvieron asociados significativamente con la infección por *C. trachomatis*. Lo mismo sucedió con otras características analizadas como: infecciones genitales previas, edad de inicio de la actividad sexual, sintomatología genitourinaria, reacción inflamatoria vaginal y pH vaginal.

La infección por *T. vaginalis* estuvo positivamente asociada con aquellas mujeres que no utilizaban ningún método anticonceptivo, $p < 0,02$, OR = 4,31 (1,10 < OR < 18,07), con la presencia de RIV, $p < 0,0021$, OR = 9,70 (1,90 < OR < 66,42) y con la ausencia de síntomas urogenitales, $p < 0,01$, OR = 4,21 (1,09 < OR < 16,54). En la totalidad de las muestras en las que se detectó *T. vaginalis* el pH fue mayor a 4,5.

El estado de vaginosis bacteriana estuvo asociado positivamente con el uso del DIU como método anticonceptivo, $p < 0,002$, OR = 4,19 (1,52 < OR < 11,58) y

negativamente con la utilización de anticonceptivos orales, $p < 0,04$, $OR = 0,52$ ($0,27 < OR < 0,99$). La totalidad de las muestras con vaginosis presentó un pH superior a 4,5.

Tabla 12. Factores de riesgo asociados a infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.

	n	<i>C. trachomatis</i>		<i>Candida sp.</i>		<i>T. vaginalis</i>		VB	
		n	OR	n	OR	n	OR	n	OR
Edad (años)									
≤ 16	5	0	-	1	-	0	-	0	-
17-26	137	8^a	9,74	19	-	6	-	27	-
27-36	88	1	-	14	-	3	-	19	-
37-46	47	0	-	5	-	1	-	10	-
> 46	18	0	-	2	-	1	-	7	-
Parejas sexuales último año									
0 ó 1	240	3	-	33	-	7	-	51	-
Más de 1	55	6^a	9,67	8	-	4	-	12	-
Método anticonceptivo									
Píldoras	119	3	-	14	-	3	-	18^b	0,52
Ninguno	89	3	-	12	-	7^b	4,31	22	-
Preservativo	62	3	-	9	-	1	-	12	-
DIU	20	0	-	4	-	0	-	10^a	4,19
Inyecciones	5	0	-	2	-	0	-	1	-
Sintomatología									
Si	226	6	-	35	-	5	-	47	-
No	69	3	-	6	-	6^b	4,21	16	-
RIV									
Si	99	5	-	18	-	9^a	9,70	0	-
No	196	4	-	23	-	2	-	63	-
pH									
≤ 4,5	117	5	-	17	-	0	-	0	-
> 4,5	178	4	-	24	-	11	-	63	-

^a $p < 0,01$ ^b $p < 0,05$

Infecciones polimicrobianas

La presencia de infecciones mixtas se observó en 10 muestras (3,39 %). *C. trachomatis* se detectó junto a vaginosis bacteriana en dos muestras, y junto a *Candida spp.* y *T. vaginalis* en una. Las asociaciones microbianas halladas y su relación con la presencia de síntomas se observan en la tabla 13.

Tabla 13. Asociaciones microbianas y relación con la presencia de síntomas en mujeres atendidas en el HMALL de Bahía Blanca.

Asociación microbiana	Total	Sintomáticas	Asintomáticas
Vaginosis bacteriana + <i>Candida</i> spp.	5	4	1
Vaginosis bacteriana + <i>C. trachomatis</i>	2	1	1
Vaginosis bacteriana + <i>T. vaginalis</i>	2	1	1
<i>C. trachomatis</i> + <i>T. vaginalis</i> + <i>Candida</i> spp	1	0	1
Total	10	6	4

Estados Vaginales Básicos

La combinación del Valor de Nugent (VN) y la reacción inflamatoria vaginal (RIV) permitieron establecer cada uno de los cinco estados vaginales básicos (EVB), según BACOVA, en el total de la población estudiada.

El 46,44 % de las mujeres (137 casos) presentó microbiota normal y el 53,56 % (158 casos) un desplazamiento del balance de la proporción relativa de lactobacilos (disminución) y del resto de la microbiota vaginal. Entre las mujeres con microbiota normal, 104 de ellas (35,25 %) no mostraron ningún criterio morfológico de anormalidad (MN), y las otras 33 (11,19 %), si bien mantenían un balance normal de la microbiota vaginal, mostraron una RIV significativa (MN + RIV). Por otro lado, entre la mujeres con desequilibrio de la microbiota habitual, en 63 de ellas (21,36 %) se determinó vaginosis bacteriana típica (VB), en 29 (9,83 %) se observó microbiota intermedia (MI) y en 66 mujeres (22,37 %) se reconoció vaginitis microbiana inespecífica (VMI) (Tabla 14).

En el estado de VMI se registró el mayor número de casos de *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y *Candida* spp. Las frecuencias de *Candida* spp. y *T. vaginalis* resultaron significativas en VMI frente a los demás estados vaginales ($p < 0,006$; OR = 2,61; $1,22 < OR < 5,55$ y $p < 0,0004$; OR = 10,39; $2,41 < OR < 51,20$, respectivamente).

Tabla 14. Frecuencia de Estados Vaginales Básicos y detección de *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y *Candida* spp.

EVB	VN	RIV	n	%	<i>C. trachomatis</i>	<i>T. vaginalis</i>	<i>Candida</i>
MN	0 a 3	No	104	35,25	2	0	9
MN + RIV	0 a 3	Si	33	11,19	1	1	2
MI	4 a 6	No	29	9,83	0	0	9
VB	7 a 10	No	63	21,36	2	2	5
VMI	4 a 10	Si	66	22,37	4	8^a	16^b
Total			295	100,0	9	11	41

^a $p < 0,0004$; OR = 10,39 (2,41 < OR < 51,20)

^b $p < 0,006$, OR = 2,61 (1,22 < OR < 5,55)

VN: Valor de Nugent - MN: Microbiota Normal - RIV: Reacción Inflamatoria Vaginal MI: Microbiota Intermedia - VB: Vaginosis Bacteriana -VMI: Vaginitis Microbiana Inespecífica

Al comparar las distribución de los EVBs entre las mujeres sintomáticas (n = 226) y asintomáticas (n = 69), se observó que en el grupo de sintomáticas el 56,20 % presentó microbiota alterada (MI, VB y VMI) y el 23,45 % se correspondió con VMI. Por su parte, en el grupo de mujeres asintomáticas el porcentaje de casos con desequilibrio descendió a 44,93 % y el estado VMI se observó en el 18,84 % de los casos. En ambos grupos, la frecuencia de VB resultó similar, siendo levemente mayor en asintomáticas (23,19 % vs. 20,80 %). Estos resultados pueden observarse en la Tabla 15.

Tabla 15. Estados Vaginales Básicos y detección de *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y *Candida* spp., según la presencia de síntomas.

EVB	Sintomáticas (n = 226)								Asintomáticas (n = 69)											
	n		%		Ct		Tv		Csp		n		%		Ct		Tv		Csp	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
MN	77	34,07	1	0,44	0	0	8	3,54	27	39,13	1	1,45	0	0	1	1,45				
MN+RIV	22	9,73	1	0,44	0	0	2	0,89	11	15,94	0	0	1	1,45	0	0				
MI	27	11,95	0	0	0	0	8	3,54	2	2,90	0	0	0	0	0	0				
VB	47	20,80	1	0,44	1	0,44	4	1,77	16	23,19	1	1,45	1	1,45	2	2,90				
VMI	53	23,45	3	1,33	4	1,77	13	5,75	13	18,84	1	1,45	4	5,80	3	4,35				
Total	226	100	6	2,65	5	2,21	35	15,49	69	100	3	4,35	6	8,70	6	8,70				

EVB: estados vaginales básicos - VN: valor de Nugent - RIV: reacción inflamatoria vaginal
Ct: *Chlamydia trachomatis* - Tv: *Trichomonas vaginalis* - Csp: *Candida* spp.

6.1.4. Discusión

La prevalencia de infección por *C. trachomatis* (3,05 %) hallada en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el HMALL resultó inferior a los valores informados por otros autores latinoamericanos, en poblaciones similares y utilizando técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. En Brasil, un estudio que incluyó 299 mujeres atendidas en una unidad básica de salud, informó una prevalencia de 7,4 % (Barcelos *et al.*, 2008). En Colombia, Sánchez observó una prevalencia de 5,35 % en 355 mujeres sintomáticas y asintomáticas (Sánchez *et al.*, 2006). Por su parte, Arráiz, en Venezuela en tres estudios diferentes realizados en poblaciones de mujeres atendidas en centros de atención primaria de la salud registró valores de 9,26 %, 10,4 % y 7,7 % (Arráiz *et al.* 2006; 2007; 2008). En Chile, Martínez encontró una prevalencia de 4,7 % en 403 mujeres atendidas por consulta ginecológica (Martínez *et al.*, 2008). Otros trabajos registraron prevalencias aún mayores. Santos en Brasil, observó 20,7 %, aunque sobre una población de 121 mujeres que asistieron a la consulta a un Servicio de Enfermedades de Transmisión Sexual, lo que podría haber seleccionado una población de mayor riesgo (Santos *et al.*, 2003).

En Argentina, los estudios sobre prevalencia de *C. trachomatis* son escasos y la mayoría de los datos se reportan en la ciudad de Buenos Aires. Los resultados varían según la población estudiada y aun aquellos trabajos que se refieren a mujeres sintomáticas y/o asintomáticas, analizan grupos etarios diferentes. Di Bartolomeo, observó prevalencias de 1,76 % en mujeres adultas sintomáticas y 4,41 % en mujeres jóvenes menores de 20 años que consultaron en el Hospital Nacional "Prof. Dr. A. Posadas" (Di Bartolomeo *et al.*, 2002; 2011). Gallo Vaulet, reportó una prevalencia de 1,16 % en 1.205 mujeres adultas que consultaron por síntomas genitourinarios e infertilidad, en su mayoría asintomáticas, en el Hospital de Clínicas "José de San Martín" de la ciudad de Buenos Aires. También en el área metropolitana, Rodríguez Fermepin informó una prevalencia de infección de 1,01 % en 2.376 mujeres adultas sintomáticas atendidas en el Hospital Nacional "Prof. Dr. A. Posadas" y en Hospital de Clínicas "José de San Martín" (Fermepin *et al.*, 2007).

Por su parte, Farinati, en una investigación realizada en la ciudad de Córdoba, halló una prevalencia de infección por *C. trachomatis* de 13,7 %, en 205 mujeres asintomáticas, en edades comprendidas entre 18 y 24 años (Farinati *et al.*, 2008).

En la ciudad de Bahía Blanca, los únicos antecedentes son los resultados preliminares de este trabajo, donde se informó un valor de 2,1 % en mujeres con y sin síntomas atendidas en el HMALL (Occhionero *et al.*, 2008).

En varias publicaciones se describen como factores de riesgo para la infección por *C. trachomatis* la edad menor a 20 años, el inicio temprano de las relaciones sexuales y el mayor número de parejas sexuales (Santos *et al.*, 2003; Arráiz *et al.*, 2006; Noccolai *et al.*, 2007; Farinati *et al.*, 2008; Huneus *et al.*, 2009). En el presente trabajo el mayor número de casos se detectó en el grupo etario de 17 a 26 años, $p < 0,01$, OR = 9,74 (1,22 < OR < 210,23), declinó en pacientes entre 27 a 36 años y no se observó infección en pacientes mayores de 37 años, en concordancia con los trabajos de Arráiz en Venezuela (Arráiz *et al.*, 2007; 2008). También se observó que la posibilidad de infección por *C. trachomatis* en mujeres que han tenido más de una pareja sexual en el último año fue casi 10 veces mayor que en aquellas que tuvieron una o ninguna pareja, $p < 0,001$, OR = 9,67 (2,06 < OR < 50,81). La edad de inicio de las relaciones sexuales no se asoció significativamente en la población estudiada.

La prevalencia de la infección por *C. trachomatis* fue mayor en mujeres asintomáticas (4,35 %) que en las sintomáticas (2,65 %). Similar situación se halló en las infecciones por *T. vaginalis* (8,70 % en asintomáticas y 2,21 % en sintomáticas) y vaginosis bacteriana (23,19 % en asintomáticas y 20,80 % en sintomáticas). En un estudio sobre 224 mujeres cubanas en edad reproductiva, Frontela Noda, en La Habana, reportó frecuencias de infección por *C. trachomatis* de 14,0 % en mujeres asintomáticas y 4,8 % en sintomáticas (Frontela Noda *et al.*, 2006). Esta inconsistencia de la sintomatología, unida a los riesgos asociados a estas infecciones, refuerza la necesidad de un tamizaje periódico a las mujeres jóvenes, sexualmente activas, con técnicas sensibles y específicas de laboratorio para garantizar el diagnóstico y tratamiento oportuno (Arráiz *et al.*, 2006; Huneus *et al.*, 2009).

Los genotipos más frecuentes de *C. trachomatis* detectados en mujeres sintomáticas y asintomáticas fueron el E (44,44 %) y el F (33,33 %). Esta distribución de genotipos fue similar a la reportada Gallo Vaulet y Cuffini en nuestro país, y por Machado en Brasil (Gallo Vaulet *et al.*, 2010; Machado *et al.*, 2011; Cuffini *et al.*, 2012). En otras investigaciones los genotipos D o F resultaron los más prevalentes (Singh *et al.*, 2003; De Haro *et al.*, 2011).

La presencia de vaginosis bacteriana fue la situación hallada con mayor frecuencia (21,36 %). Este valor resultó superior al 13,5 % hallado por Fosch en mujeres de edades comprendidas entre 15 a 55 años y menor al 23,8 % reportado por Di Bartolomeo en mujeres adultas, ambos estudios realizados en nuestro país mediante el balance del contenido vaginal (BACOVA) (Di Bartolomeo *et al.*, 2002; Fosch *et al.*, 2006). La literatura internacional revela prevalencias que varían entre 9 % y 32 % (Bahlla *et al.*, 2007; Araújo Oliveira *et al.*, 2007; Madhivanan *et al.*, 2008; Numanovic *et al.*, 2008; Barcelos *et al.*, 2008; Tibaldi *et al.*, 2009). Esta amplia variación podría ser atribuida a varias razones, tales como diferencias en el nivel económico, social y educativo, la población estudiada y el método utilizado para el diagnóstico.

Entre las asociaciones con los factores seleccionados se observó que la utilización de dispositivos intrauterinos (DIU) estuvo relacionada con mayor riesgo de vaginosis bacteriana, reafirmando lo expuesto por otros autores (Fosch *et al.*, 2006; Cordero Ruiz *et al.*, 2007; Tibaldi *et al.*, 2009; Venegas *et al.*, 2011). Por el contrario, Shoubnikova en Suecia y Flores Escamilla en México observaron que no había diferencia significativa entre el uso del DIU en mujeres con y sin vaginosis (Shoubnikova *et al.*, 1997; Flores Escamilla *et al.*, 2003). En el mismo sentido, resulta importante el hallazgo realizado por Madden y colaboradores, quienes llevaron a cabo un estudio longitudinal prospectivo de adquisición de VB en mujeres que iniciaban la utilización del DIU. En el mismo se concluyó que la asociación entre el uso del DIU y la VB podría ser mediada por un sangrado vaginal irregular, ya que las usuarias de DIU con sangrado irregular tenían casi el doble de probabilidades de desarrollar vaginosis bacteriana (Madden *et al.*, 2012).

El uso de anticonceptivos orales podría ejercer un efecto protector contra el estado de vaginosis y en la población estudiada se asoció con un menor riesgo de vaginosis bacteriana. Esta influencia del factor endócrino fue observada por varios

autores y puede atribuirse a un aumento en el glucógeno epitelial por la presencia de estrógenos, lo que elevaría la producción de ácido láctico, disminuyendo así el pH vaginal (Shoubnikova *et al.*, 1997; Gupta *et al.*, 2000; Holzman *et al.*, 2001; Schwebke *et al.*, 2004; Koumans *et al.*, 2007; Riggs *et al.*, 2007; Van de Wijgert *et al.*, 2013).

El pH mayor a 4,5 hallado en la totalidad de las muestras vaginales que presentaron vaginosis bacteriana, refuerza la idea de que un pH normal prácticamente descarta una VB, como propone Tilli en su estudio sobre sensibilidad, especificidad y valores predictivos del pH vaginal para el diagnóstico de VB (Tilli *et al.*, 2005). Si bien la determinación del pH posee una elevada sensibilidad (98,26 %), su especificidad es muy baja, pues el incremento del pH puede deberse a otras causas, como infecciones por *T. vaginalis*, colonización por *S. agalactiae*, moco cervical periovulatorio o semen (Fosch *et al.*, 2006).

La edad y la actividad sexual no estuvieron asociadas con vaginosis bacteriana, en concordancia con los resultados obtenidos por Lillo en Chile (Lillo *et al.*, 2010). Sin embargo, algunos estudios mostraron diferencia estadísticamente significativa en mujeres con vaginosis y más de una pareja sexual (Flores Escamilla *et al.*, 2003), y una mayor frecuencia de VB en edades mayores a 25 años (Moi *et al.*, 1990; Sewankambo *et al.*, 1997) o en el grupo etario de 20 a 35 años (Ortiz *et al.*, 2000).

El diagnóstico de la vulvovaginitis por levaduras es uno de los problemas de mayor dificultad en el diagnóstico de laboratorio basado en microscopía, debido a que las levaduras son integrantes de la microbiota vaginal habitual. En la literatura latinoamericana la frecuencia de vulvovaginitis por *Candida* spp. en poblaciones similares oscila entre 6,5 % y 25,0 % (Medina *et al.*, 1999; Barcelos *et al.*, 2008; Alemán Mondeja *et al.*, 2010; Salas *et al.*, 2010; Morales *et al.*, 2012). En nuestro país, Fosch obtuvo una prevalencia de candidiasis vaginal de 12,5 %, Di Bartolomeo por su parte, un 17,8 %, y Pájaro 21,3 % (Pájaro *et al.*, 2001; Di Bartolomeo *et al.*, 2002; Fosch *et al.* 2006).

Es frecuente la comunicación de datos “totales” de presencia de levaduras (por microscopía y/o cultivo), siendo “inciertas” las cifras de vulvovaginitis reales. El diagnóstico de candidiasis vaginal resultaría más confiable si a la presencia de levaduras se le asocia una reacción inflamatoria significativa. En este estudio se

detectó una cifra neta de casos con presencia de levaduras que alcanzó un 13,90 %, valor que coincide con la literatura citada. Tomando en cuenta la RIV se detectaron 18 casos positivos de *Candida* spp., lo que significó un 6,10 % del total de la población estudiada. Este valor se aproximaría mejor a la prevalencia real de candidiasis. Los otros casos de detección de levaduras se deberían a las colonizaciones habituales del epitelio vaginal. Este criterio diagnóstico fue reportado por Di Bartolomeo en nuestro país, aunque utilizando una reacción inflamatoria de más de 21 leucocitos por campo y un valor de Nugent de 0 a 3 (Di Bartolomeo *et al.*, 2007).

La trichomonosis fue la ITS más prevalente de las evaluadas en este estudio. La frecuencia observada de 3,73 % para la infección por *T. vaginalis* fue superior a las informadas en poblaciones similares por Tibaldi (1,6 %) en Italia, Barcelos (2 %) en Brasil, Fosch (2,8 %) y Di Bartolomeo (2,4 %) en Argentina (Di Bartolomeo *et al.*, 2002; Fosch *et al.*, 2006; Barcelos *et al.*, 2008; Tibaldi *et al.*, 2009). El valor real de prevalencia puede estimarse aún mayor debido a la técnica de detección empleada en este estudio. El examen microscópico en fresco para observar la movilidad del parásito, a pesar de ser la metodología más comúnmente empleada, presenta baja sensibilidad (35 - 80 %), depende de la experiencia del observador y de la rapidez en el transporte y procesamiento de la muestra. El cultivo en medio líquido de *T. vaginalis* es considerado el método de referencia con una sensibilidad del 71 al 100 %. Sin embargo, es una metodología raramente usada en laboratorios de rutina por los largos períodos de incubación y el costo de los medios de cultivo. (Patel *et al.*, 2000; Radonjic *et al.*, 2006; Perazzi *et al.*, 2007). Estudios comparativos han evidenciado resultados similares de sensibilidad y especificidad entre cultivo y las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAANs) para el diagnóstico de trichomonosis vaginal (Ryu *et al.*, 1999; Kaydos *et al.*, 2002). No obstante los valiosos resultados que se han obtenido con la aplicación de PCR, este método probablemente no reemplazará inmediatamente los métodos actuales que se utilizan para el diagnóstico de rutina de esta enfermedad en países en vías de desarrollo, por el costo que presenta (Maciques Rodriguez *et al.*, 2002).

Resulta llamativo, a pesar de la gran divulgación sobre el uso del preservativo como método eficaz de prevención de las ITS, que sólo el 21,02 %

de las mujeres encuestadas lo utiliza. Este bajo porcentaje de utilización del condón constituye una práctica cotidiana entre la población sexualmente activa, influyendo en la ocurrencia de infecciones transmisibles sexualmente (Crespo Suri *et al.*, 2012). Probablemente hayan influido en la decisión de utilizar otro método anticonceptivo no de barrera o directamente ninguno, cuestiones de confianza y estabilidad conyugal, ya que el 85,42 % de la población estudiada estaba con una pareja estable y el 79,66 % tuvo una sola pareja sexual en el último año. La asociación hallada en este trabajo entre *T. vaginalis* y el grupo de mujeres que no utilizaban ningún método anticonceptivo, $p < 0,02$, OR = 4,31 (1,10 < OR < 18,07), reafirma el efecto protector que ejercen los anticonceptivos de barrera sobre las infecciones transmisibles sexualmente (Sweet *et al.*, 2010; Duarte *et al.* 2011).

En la literatura internacional se describe un rango de entre 10 y 50 % de casos de mujeres con trichomonosis asintomática (Swygard *et al.*, 2004; Perazzi *et al.*, 2007). Sin embargo, en este estudio se observó un porcentaje aún mayor de casos sin síntomas clínicos (54,55 %) y una asociación significativa entre infección por *T. vaginalis* y la ausencia de síntomas urogenitales, $p < 0,01$, OR = 4,21 (1,09 < OR < 16,54).

Considerando su relevancia epidemiológica, las infecciones “sintomáticas” podrían definirse como las que causan la conciencia subjetiva de la enfermedad en el individuo infectado, mientras que las “asintomáticas” son aquellas infecciones donde los síntomas están ausentes o bien no son suficientemente preocupantes para movilizar al individuo a buscar atención médica. Por consiguiente, la tasa de enfermedad asintomática puede estar influenciada por las expectativas imperantes sobre el estado de salud en la población en estudio (Bowden *et al.*, 2000). En una revisión realizada por Poole sobre epidemiología mundial de *T. vaginalis*, se reportó que en las mujeres, más del 80 % de estas infecciones serían asintomáticas y podrían persistir durante varios meses (Poole *et al.*, 2013).

La asociación hallada entre *T. vaginalis* y la respuesta inflamatoria vaginal, $p < 0,001$, OR = 14,91 (1,93 < OR < 315,60), evidencia la reacción a un estado agresivo inducido por los factores de virulencia del parásito. El origen de la respuesta inflamatoria puede ser, como en este caso, por acción directa de agresión sobre el epitelio vaginal (vaginitis real) y/o provenir de un estado de

agresión infecciosa localizado en endocérvix u otras regiones del aparato genital y/o eventualmente urinario.

Según la revisión realizada por Laffita Batista, en un alto porcentaje de los casos en que se detecta *T. vaginalis* el pH es elevado (Laffita Batista *et al.*, 2005). Si bien en este estudio todas las muestras vaginales en la que se detectó el parásito presentaron un pH mayor a 4,5, la elevación del pH no es patognomónica y el pH normal no elimina la presencia eventual de *T. vaginalis* en el contenido vaginal (Guía práctica integral de diagnóstico de vaginosis-vaginitis, 2010).

Si bien no se halló un valor significativo al relacionar con los diferentes grupos etarios, en el rango de edad entre 17 a 26 años se observó la mayor tasa de infección por *T. vaginalis*, con 4,38 % (6/137) de las mujeres de esas edades. La incidencia de trichomonosis disminuyó gradualmente con el avance en edad, como se observa entre las mujeres de 27 - 36 años, con 3,41 % (3/88), y de 37 - 46 años, con 2,13 % (1/47). Esto podría indicar la instalación de una respuesta inmune específica, o más probablemente, que el avance en la edad conduce a la disminución en la actividad sexual, lo que contribuye a la disminución de la infección por tricomonas entre estos grupos de edad, situación que también fue reportada por Okoko entre mujeres sexualmente activas de Nigeria (Okoko, 2011).

Del total de mujeres sintomáticas, solamente en el 41,15 % (93/226) se determinó el factor causal. Esto podría deberse a varios factores, entre ellos: la utilización de técnicas con baja sensibilidad en la detección de algunos microorganismos (*T. vaginalis*), la presencia de otros agentes causantes de infección ginecológica no investigados (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma genitalium*, *Herpes simplex tipo 2*, entre otros), o porque muchas veces las pacientes no saben diferenciar entre el flujo fisiológico del patológico y refieren cantidades excesivas de secreción tipo mucoso o epitelial que pueden ser normales (Medina *et al.*, 1999; Alemán Mondeja *et al.*, 2010). Otros autores sugieren que los síntomas genitales pueden ser debidos a una higiene deficiente, irritantes químicos y/o falta de estrógenos. (Piippo *et al.*, 2000; Schwebke *et al.*, 2004; Tibaldi *et al.*, 2009). Por consiguiente, un diagnóstico presuntivo basado solamente en la sintomatología, o el tamizaje solo de las poblaciones sintomáticas, pueden llevar a resultados erróneos.

La presencia de síntomas urogenitales se asoció significativamente con aquellas mujeres que utilizaron anticonceptivos orales ($p < 0,05$; OR = 2,29; 1,21 < OR < 4,35). Vidal Borrás y col. en un estudio sobre “síndrome de flujo vaginal” realizado en Venezuela, encontraron como factor predisponente más importante en la aparición de flujo vaginal el uso de anticonceptivos orales (Vidal Borrás *et al.*, 2010). Es sabido que las condiciones de hiperestrogenemia, fisiológicas y farmacológicas, se asocian a mayor colonización por levaduras en vagina (Fosch *et al.*, 2011). En el grupo de mujeres estudiadas también se observó un mayor empleo de contraceptivos hormonales en las que se detectó la presencia de *Candida* spp., pudiendo ser ésta una de las causas de la aparición de síntomas.

Del mismo modo, la presencia de sintomatología se asoció con las participantes que tuvieron entre 0 - 1 pareja sexual en el último año ($p < 0,0001$; OR = 3,73; 1,96 < OR < 7,10). Esta relación con el bajo número de parejas sexuales resulta difícil de explicar, aunque coincide con la descripción realizada por Medina y col. en mujeres con flujo anormal y candidiasis vaginal (Medina *et al.*, 1999).

Por otro lado, el embarazo y la no utilización de métodos anticonceptivos se presentan en este trabajo como factores protectores de sintomatología genitourinaria. En las embarazadas, esta reducción del riesgo podría adjudicarse a que en su mayoría eran mujeres asintomáticas que asistieron a su control prenatal. En cambio, en el grupo de mujeres que no utilizaba ningún método anticonceptivo el efecto protector se podría relacionar con la ausencia de diversos factores: el psicológico, generado por el empleo de cualquier método anticonceptivo (Fosch *et al.*, 2011), el uso del DIU, cuya presencia modifica el ambiente vaginal (Cordero Ruiz *et al.*, 2007) y el empleo del preservativo, asociado frecuentemente con dermatitis vaginales, vulvovaginitis alérgicas y estados inflamatorios (Schreiber *et al.*, 2006).

La distribución de EVBs en este grupo de mujeres muestra una dimensión de 53,56 % de mujeres con un estado anormal de la función vaginal (56,20 % en sintomáticas y 44,93 % en asintomáticas). Este valor resultó similar al 47,8 % hallado por Fosch en 400 mujeres sintomáticas y asintomáticas de la provincia de Santa Fé (Fosch *et al.*, 2006). Sin embargo, la prevalencia de disfunción vaginal en mujeres asintomáticas fue sensiblemente inferior a los reportados por otros

autores en distintas regiones de nuestro país: Fosch, 65% en 210 mujeres asintomáticas de Sa Pereira y San Mariano, provincia de Santa Fe (Fosch *et al.*, 2011); Bologno, 57 % en 100 mujeres asintomáticas de Comodoro Rivadavia, provincia de Chubut (Bologno *et al.*, 2008) y Morales, 53 % en mujeres asintomáticas de Lomas de Zamora, provincia de Buenos Aires (Morales *et al.*, 2008).

El 31,19 % de la población estudiada correspondió a mujeres en las cuales se encuadra el concepto de vaginosis, incluyendo MI (9,83 %) y VB (21,36 %), lo que está indicando que un tercio de las mujeres manifestó una disfunción vaginal primaria típica (sin RIV). A este grupo se debe agregar un 22,37 % de mujeres con el estado de VMI, en las cuales a la disfunción primaria se ha agregado una respuesta inflamatoria significativa, que indica en un altísimo porcentaje un estado infeccioso vaginal y/o del tracto genital (cervical y/o superior). Las elevadas frecuencias de *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y *Candida* spp., obtenidas en este estado vaginal (VMI) confirman esta apreciación.

En conclusión, se encontró una moderada prevalencia de *C. trachomatis* en la población estudiada, inferior a la descripta en la literatura latinoamericana, aunque superior a los registros existentes en nuestro país. La prevalencia global de infecciones transmisibles sexualmente resultó elevada, 6,78 % (3,73 % para *T. vaginalis* y 3,05 % para *C. trachomatis*), sobre todo, en una población que en su mayoría (79,66 %) reportó una única pareja sexual en el último año. Las ITS estuvieron asociadas a mujeres jóvenes, con más de una pareja sexual en el último año y/o a la no utilización de métodos anticonceptivos. La frecuencia de vaginosis bacteriana y *Candida* spp., fue semejante a la observada en poblaciones similares. El estado de vaginosis bacteriana se asoció con el uso del DIU, mientras que los anticonceptivos orales mostraron un efecto protector sobre este síndrome.

El estudio morfológico del balance del contenido vaginal (BACOVA) resultó un procedimiento económico, simple y de alto valor predictivo, que podría incorporarse a la rutina de los laboratorios para realizar un diagnóstico diferencial inmediato entre las principales disfunciones vaginales.

Los resultados obtenidos, en especial los relacionados con la sintomatología urogenital, muestran la necesidad de profundizar el estudio de las

infecciones genitales en mujeres jóvenes, sexualmente activas, independientemente de su condición sintomática o asintomática, y la necesidad de encarar programas de prevención de infecciones transmisibles sexualmente.

6.2. Capítulo II: Infección por *C. trachomatis* en trabajadoras sexuales

En este segundo capítulo se determinó la prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, otras ITS y vaginosis bacteriana, y se analizaron los factores de riesgo asociados, en un grupo de trabajadoras sexuales de la ciudad de Bahía Blanca.

Este estudio pudo llevarse a cabo por la excelente respuesta de las trabajadoras sexuales que asistieron a la realización de su control semestral y que accedieron a participar del proyecto, prestando su consentimiento informado fehacientemente.

6.2.1. Introducción

Las infecciones transmisibles sexualmente (ITS) representan un importante problema de salud pública, sobre todo en poblaciones vulnerables como las trabajadoras sexuales (Alvis *et al.*, 2007).

Los programas para la prevención y el control de las ITS que convoquen con éxito a las poblaciones más vulnerables tendrán un impacto positivo sobre esas poblaciones y en el resto de la comunidad. Sin embargo, la prevención y el control de las ITS en las trabajadoras sexuales no resulta sencillo debido a lo dificultoso de su acceso al sistema de salud, así como a las condiciones sociales adversas que reducen la posibilidad de exigir medidas de prevención como el uso de preservativos.

La Organización Mundial de la Salud ha propuesto el desarrollo de estrategias nacionales, adecuadas a la situación epidemiológica local, encaminadas a aumentar la información y la atención de las ITS en poblaciones vulnerables, incluidas las trabajadoras sexuales (OMS, 2006).

Existen varios estudios en América Latina que analizan la prevalencia de ITS entre las trabajadoras sexuales (Levine *et al.*, 1998; Paris *et al.*, 1999; Esquivel *et al.*, 2000; 2003; Camejo *et al.*, 2003; Uribe-Salas *et al.*, 2003; 2007; Pasos *et al.*, 2004; Gutierrez *et al.*, 2006; Alvis *et al.*, 2007; Barrientos *et al.*, 2007; Ángel-Müeller *et al.*, 210; Rodrigues Baldín *et al.*, 2011). En Argentina, los datos

sobre prevalencia de ITS y desequilibrios de la microbiota habitual vaginal en este grupo vulnerable son todavía escasos (Pando, *et al.*, 2006; 2011; Occhionero *et al.*, 2007; Bolgno *et al.*, 2011; Salomón *et al.*, 2011).

En nuestro país desde 1936 rige la Ley 12.331, que establece que el trabajo sexual en forma individual e independiente no constituye delito, sí castiga la conducta de quienes sostengan, administren o regenteen el trabajo sexual ajeno, conocidos como "proxenetas". También se prohíbe promover o facilitar el trabajo sexual de menores de edad.

La Asociación de Mujeres Meretrices de Argentina (AMMAR) es la organización sindical que tiene como objetivo apoyar y fortalecer a las organizaciones de mujeres trabajadoras sexuales en la defensa y promoción de sus derechos humanos. Desde 1997 integra la Red de Trabajadoras Sexuales de Latinoamérica y el Caribe (RedTraSex), compuesta por 15 países: Argentina, Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicaragua, Panamá, Paraguay, Perú, República Dominicana y Uruguay.

Las modalidades en que está estructurado el trabajo sexual son muy diversas: hay mujeres que contactan a sus clientes en la calle; otras que trabajan en departamentos privados (también llamados "saunas" y sin ningún tipo de cartel a la calle) donde van los clientes; en tanto hay otras que trabajan en cabarets o "boliches", que sí son identificables a simple vista. Existe también una moderna modalidad de publicidad a través de diversos sitios web, donde el cliente sólo debe elegir según sus preferencias y concretar la cita.

Según el informe "Migración, prostitución y trata de mujeres dominicanas en la Argentina", de la Organización Internacional para las Migraciones (OIM), la ciudad de Bahía Blanca, en la Provincia de Buenos Aires, es un importante centro de tráfico y redes de prostitución. Desde ella parten trabajadoras sexuales hacia otras localidades de la Provincia de Buenos Aires, como Punta Alta e Ingeniero White, ambas muy cercanas a Bahía Blanca. También desde Bahía Blanca se inicia la circulación hacia el Alto Valle de la Provincia de Río Negro, siendo General Roca, Cipolletti y Choele-Choel las principales localidades de la zona. Desde allí se continúa con la ciudad de Neuquén, capital de la Provincia y, siguiendo este mismo circuito, las mujeres llegan también a Santa Rosa en la Provincia de La Pampa (Organización Internacional para las Migraciones, 2003).

En el año 1992 la Municipalidad de Bahía Blanca creó, a través de la Ordenanza Municipal N° 7198, la Oficina de Control, Promoción y Prevención Sanitaria dependiente de la Secretaría de Salud y Acción Social (Anexo 3). La misma tiene como función elaborar, suministrar y controlar el Documento de Salud Laboral, denominado anteriormente Libreta Sanitaria, que deberá ser tramitado en forma personal. Por su parte, la Ordenanza Municipal N° 9802, del año 1997, establece que el Documento de Salud Laboral será provisto por el Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero" y tendrá carácter obligatorio para toda persona que por su profesión, arte u oficio, mantenga contacto directo o indirecto, con terceros, ya sea por sí o a través de los objetos que elabora o manipula (Anexo 4). Este certificado contiene un resumen de la historia clínica del trabajador, su estado de salud actual, resultados de estudios médicos y análisis de laboratorio, algunos particularizados al tipo de actividad que el titular del documento realice. También registra el tipo de establecimiento, características, complejidad y grado de afectación, si lo hubiere, sobre la salud humana, del lugar donde el trabajador se desempeña.

El gobierno municipal de Bahía Blanca, a través del Documento de Salud Laboral, lleva un registro de las trabajadoras sexuales y las habilita para trabajar en establecimientos de esparcimiento nocturno. Si una infección transmisible sexualmente se descubre durante los dos controles obligatorios anuales, este permiso puede revocarse hasta que se complete un tratamiento eficaz. Sin embargo, el seguimiento de estos casos se ve complicado por la constante movilidad de una zona o ciudad a otra, que realizan las mujeres que trabajan en locales nocturnos.

Desde el punto de vista del trabajo de campo son varios los factores que dificultan la recolección de información en las trabajadoras sexuales. La primera dificultad radica en el acceso a las mujeres que realizan comercio sexual. El temor, la humillación, la vergüenza y el dolor suelen volverlas discretas y reticentes a la indagación institucional y académica. Sus respuestas en ocasiones son elusivas y deben leerse entre líneas, siendo de gran importancia el rol del encuestador (OIM, 2003).

6.2.2. Población y muestras

Entre los meses de mayo del 2006 y mayo del 2007, se invitaron a participar del estudio a todas las trabajadoras sexuales que concurrieron a su control sanitario semestral en el Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero", de la ciudad de Bahía Blanca.

Se realizaron entrevistas confidenciales y anónimas, en el lugar, a cargo de profesionales de la salud. Durante estos encuentros, se les explicó los alcances del estudio y se las invitó a participar voluntariamente. Se incorporaron únicamente aquellas mujeres que estuvieron de acuerdo en participar y proporcionaron su consentimiento informado por escrito. La encuesta estandarizada contenía información respecto a las características sociodemográficas (edad, lugar de residencia, nacionalidad), gineco-obstétricas (embarazos perdidos y a término, métodos anticonceptivos, historia previa de ITS) y sobre el ejercicio del trabajo sexual (números de contactos sexuales, uso de preservativo, prácticas sexuales, antigüedad como trabajadora sexual) (Anexo 5).

Todas las participantes fueron citadas para volver en el lapso de una semana para recibir el resultado de las pruebas.

Se obtuvieron muestras de hisopados vaginales y endocervicales para la investigación de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, y vaginosis bacteriana. También se recolectaron 5 ml de sangre venosa para determinar el status serológico para HIV y sífilis.

6.2.3. Resultados

Entre el 1 de mayo de 2006 y el 31 de mayo de 2007 se presentaron a realizar su control 147 trabajadoras sexuales. El 97 % accedió a participar del estudio. Se determinó que 10 mujeres realizaron dos veces el control, pero por el tiempo transcurrido entre ambas tomas de muestra se las consideró participantes diferentes.

Prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, otras ITS y vaginosis bacteriana

De las 143 muestras analizadas, 70 (48,95 %) fueron positivas para uno o más de los estudios realizados. La prevalencia de la infección por *C. trachomatis* fue de 6,29 %, sin embargo la infección transmisible sexualmente más prevalente fue *T. vaginalis* con una prevalencia de 6,99 %. Se hallaron dos casos de sífilis (1,40 %). El estado de vaginosis bacteriana resultó ser más prevalente que las ITS investigadas, se lo detectó en el 42,66 % de las muestras examinadas. No se detectaron casos de infección por *N. gonorrhoeae* ni serología positiva para HIV en la población estudiada.

En la Figura 27 se puede observar la prevalencia de las ITS detectadas en la población de trabajadoras sexuales analizadas.

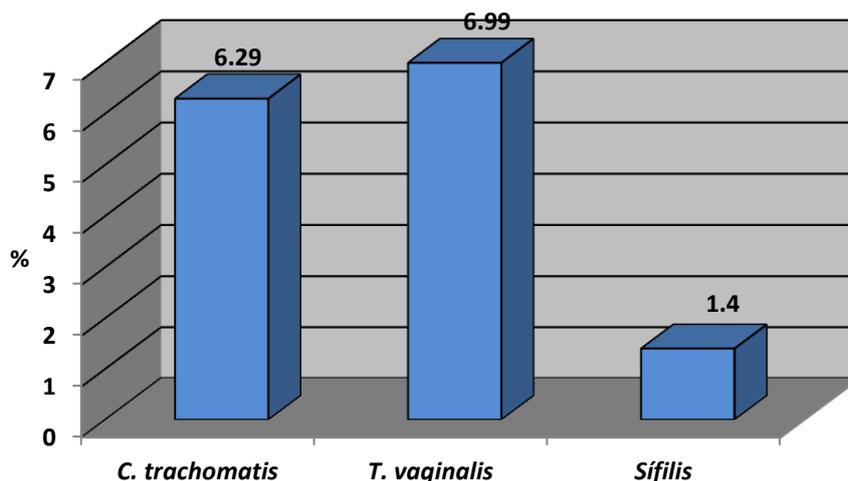


Figura 27. Prevalencia de *C. trachomatis*, *T. vaginalis* y sífilis en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca.

En la Figura 28 se muestra la prevalencia de vaginosis bacteriana en comparación con las ITS estudiadas.

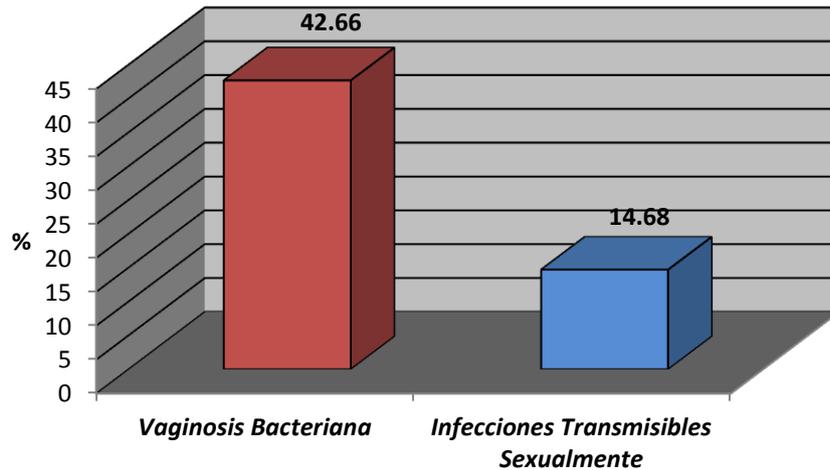


Figura 28. Prevalencia de ITS y Vaginosis Bacteriana en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca.

El registro de la cantidad de muestras recolectadas por mes, durante los 13 meses que abarcó el estudio, reveló que el 39,16 % de las muestras se obtuvieron entre la segunda quincena del mes mayo y todo el mes de junio del año 2006. Así mismo, 7 de las 9 muestras positivas para *C. trachomatis* correspondieron a las muestras obtenidas en la misma segunda quincena de mayo del 2006. En la Figura 29 se observa la cantidad de muestras recolectadas y las que resultaron positivas para *C. trachomatis* en función de los meses que duró el estudio.

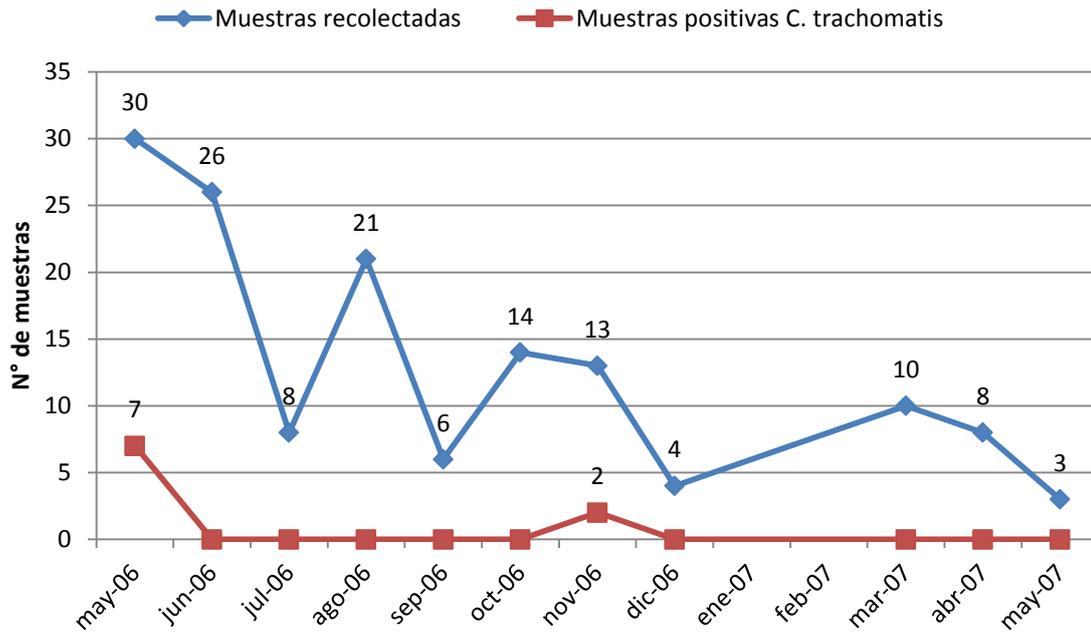


Figura 29. Cantidad de muestras recolectadas y muestras positivas para *C. trachomatis*, según los meses de estudio

La identificación y distribución de genotipos entre las 9 muestras positivas para *C. trachomatis* halladas en las trabajadoras sexuales fue la siguiente: E (44,44 %), D (33,33 %), H (11,11 %) e I/J (11,11 %) (Figura 30).

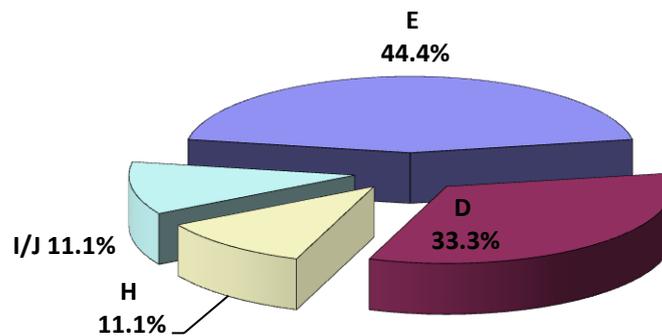


Figura 30. Distribución de genotipos de *C. trachomatis* en trabajadoras sexuales de Bahía Blanca

Características sociodemográficas de la población estudiada

a) Edad

El rango de edad de las participantes fue de 18 a 53 años, con un promedio de $26,72 \pm 6,14$ años. Las infecciones por *C. trachomatis* y el estado de vaginosis bacteriana se asociaron significativamente al grupo etario de 18 a 21 años, con $p < 0,03$, OR = 4,73 (1,01 < OR < 22,84) y $p < 0,02$, OR = 2,59 (1,09 < OR < 6,21) respectivamente. La tabla 16 muestra la relación entre la edad de las trabajadoras sexuales y la presencia de las ITS investigadas y vaginosis bacteriana.

Tabla 16. Relación entre la edad de las trabajadoras sexuales y la presencia de *C. trachomatis*, vaginosis bacteriana y *T. vaginalis*.

Edad (años)	n	<i>C. trachomatis</i>	Vaginosis bacteriana	<i>T. vaginalis</i>
18 – 21	33	5 ^a	20 ^a	1
22 – 25	33	0	11	0
26 – 29	33	1	10	5
≥ 30	44	3	20	4

^a $p < 0,05$ al comparar con los otros grupos (Chi-cuadrado)

b) Nacionalidad

El 58,04 % de las trabajadoras sexuales eran de nacionalidad argentina, el resto eran oriundas de Paraguay (21,68 %), República Dominicana (13,99 %), Brasil (5,59 %), y Perú (0,70 %).

c) Residencia en la ciudad de Bahía Blanca

El 65,03 % de las encuestadas informó tener domicilio temporario y el 34,97 % restante, domicilio permanente. El 35,92 % declaró residir en Bahía Blanca desde hace menos de un mes, el 21,36 % menos de 1 año y el 42,72 % más de 1 año.

La tabla 17 muestra las características sociodemográficas de las trabajadoras sexuales estudiadas.

Tabla 17. Características sociodemográficas de las trabajadoras sexuales controladas en el HMALL de Bahía Blanca

Características sociodemográficas (Media ± Desviación estándar)	n	Mujeres por grupo	%
Edad (años)	143		
(26,72 ± 6,14)			
18 – 21		33	23,08
22 – 25		33	23,08
26 – 29		33	23,08
≥ 30		44	30,76
Domicilio	143		
Permanente		50	34,97
Temporario		93	65,03
Nacionalidad	143		
Argentina		83	58,04
Brasil		8	5,59
República Dominicana		20	13,99
Paraguay		31	21,68
Perú		1	0,70
Tiempo de residencia en B. Blanca	103		
Menos de 1 mes		37	35,92
Entre 1 mes y 1 año		22	21,36
Más de 1 año		44	42,72

Características gineco-obstétricas

a) Métodos anticonceptivos

El uso de preservativo reportado por este grupo de trabajadoras sexuales fue de 88,11 %, ya sea solo (53,85 %) o combinado con anticonceptivos orales (14,68 %) o inyectables (13,29 %). El 11,89 % declaró no utilizar preservativo durante sus contactos sexuales. No se halló diferencias significativas entre ambos grupos en lo que respecta a *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, sífilis y vaginosis bacteriana.

b) Cantidad de hijos y embarazos perdidos

El promedio de la cantidad de hijos entre las trabajadoras sexuales encuestadas fue de $1,81 \pm 1,49$, con un rango entre 0 y 7. El 31,69 % perdió uno o más embarazos.

c) Infecciones genitales previas y sintomatología genitourinaria

La encuesta reveló también que el 29,37 % de las participantes sufrió una infección genital previa al presente estudio, siendo candidiasis la más frecuente (15,38 %), seguida por trichomonosis (4,20 %), sífilis (3,50 %), y en menor porcentaje gonorrea, herpes y HPV. Todas las trabajadoras sexuales eran asintomáticas al momento del estudio.

d) Edad de inicio de las relaciones sexuales

La edad promedio de la primera relación sexual entre las participantes del estudio fue $15,43 \pm 2,00$ años. El 79,72 % inició su actividad sexual entre los 14 y 18 años.

La tabla 18 presenta las características gineco-obstétricas de las trabajadoras sexuales estudiadas.

Tabla 18. Características gineco-obstétricas de las trabajadoras sexuales controladas en el HMALL de Bahía Blanca

Características gineco-obstétricas (Media ± Desviación estándar)	n	Mujeres por grupos	%
Edad 1° relación sexual (años) (15,43 ± 2,00)	143		
8 - 13		22	15,38
14 - 18		114	79,72
19 - 21		7	4,90
Uso de preservativo	143		
Si		126	88,11
No		17	11,89
Método anticonceptivo	143		
Sólo preservativo		77	53,85
Preservativo y DIU		9	6,29
Preservativo e inyecciones		19	13,29
Preservativo y píldoras		21	14,68
Sólo inyecciones		2	1,40
Sólo píldoras		4	2,80
Ninguno		11	7,69
Cantidad de hijos (1,81 ± 1,49)	143		
0		27	18,88
1 - 2		78	54,54
3 - 4		31	21,68
5 ó más		7	4,90
Pérdida de embarazos	142		
Ninguno		97	68,31
Uno o más		45	31,69
Infecciones genitales previas	143		
Si		42	29,37
No		101	70,63

Características relacionadas con el trabajo sexual

a) Tiempo de ejercicio de la actividad

Del total de mujeres encuestadas, el 69,93 % (100/143) respondió a la pregunta relacionada con su antigüedad como trabajadora sexual. El 42,0 % de las que contestaron tenía un año o menos en la actividad.

b) Número de clientes por semana

Se observó una gran variabilidad en el número de contactos sexuales por semana entre las trabajadoras sexuales. El rango varió de 1 a 70 contactos semanales, con un promedio de $14,19 \pm 12,45$. El 13,22 % de las participantes informó más de 20 contactos sexuales semanales. Este factor de riesgo no se asoció a las ITS investigadas.

c) Prácticas sexuales

Sólo el 64,34 % de las participantes (92/143) respondieron a la pregunta sobre el tipo de práctica sexual realizada. La combinación de relaciones vaginales y orales fue la más frecuentemente informada (41,30 %).

Tabla 19. Características relacionadas con el trabajo sexual de las mujeres controladas en el HMALL de Bahía Blanca

Características relacionadas con el trabajo sexual (Media \pm Desviación estándar)	n	Mujeres por grupos	%
Tiempo que desarrolla la actividad	100		
1 año o menos		42	42,0
Más de 1 año		58	58,0
Nº de clientes por semana (14,19 \pm 12,45)	121		
De 0 a 10		49	40,50
De 11 a 20		56	46,28
Más de 20		16	13,22

Tabla 19. Continuación.

Características relacionadas con el trabajo sexual (Media \pm Desviación estándar)	n	Mujeres por grupos	%
Parejas estables en el último año	131		
No tiene		28	21,38
Una		60	45,80
Dos		27	20,61
Tres o más		16	12,21
Prácticas sexuales	92		
Vaginal		27	29,35
Vaginal y oral		38	41,30
Vaginal, oral y anal		27	29,35

Estados vaginales básicos

La combinación del Valor de Nugent (VN) y la reacción inflamatoria vaginal (RIV) permitió establecer cada uno de los cinco estados vaginales básicos (EVB) según BACOVA. La distribución en EVB de las 143 muestras fue la siguiente:

- ❖ Microbiota Normal: 33 mujeres (23,08 %)
- ❖ Microbiota Normal con Reacción Inflamatoria: 2 mujeres (1,40 %)
- ❖ Microbiota Intermedia: 22 mujeres (15,38 %)
- ❖ Vaginosis Bacteriana: 61 mujeres (42,66 %)
- ❖ Vaginitis Microbiana Inespecífica: 25 mujeres (17,48 %)

El estado de Vaginitis Microbiana Inespecífica se asoció significativamente con la infección por *C. trachomatis*, $p < 0,009$, OR = 7,13 (1,49 < OR < 35,38) y, con la infección por *T. vaginalis*, $p < 0,002$, OR = 9,00 (1,99 < OR < 42,82), como muestra la tabla 20.

Tabla 20. Estados Vaginales Básicos en trabajadoras sexuales de B. Blanca y su relación con las infecciones por *C. trachomatis* y *T. vaginalis*.

ESTADOS VAGNALES BASICOS	VN	RIV	N	<i>C. trachomatis</i>	<i>T. vaginalis</i>
Microbiota Normal	0 a 3	No	33	1	0
Microbiota Normal + RIV	0 a 3	Si	2	0	0
Microbiota Intermedia	4 a 6	No	22	0	1
Vaginosis Bacteriana	7 a 10	No	61	3	3
Vaginitis Microbiana Inespecífica	4 a 10	Si	25	5 ^a	6 ^b

^a $p < 0,009$, OR = 7,13 (1,49 < OR < 35,38)

^b $p < 0,002$, OR = 9,00 (1,99 < OR < 42,82)

Reacción inflamatoria vaginal (RIV)

Se observó también asociación estadística entre la respuesta inflamatoria vaginal (RIV), definida por la presencia de más de 10 leucocitos por campo de 400X en el examen microscópico en fresco de los hisopados, y la presencia de *C. trachomatis* y *T. Vaginalis* (Tabla 21).

Tabla 21. Relación entre la reacción inflamatoria vaginal (RIV) y la presencia

RIV	n	<i>C. trachomatis</i>	OR	<i>T. vaginalis</i>	OR
Con RIV	27	5 ^a	6,36 (1,34<OR<31,31)	5 ^a	5,05 (1,14<OR<22,49)
Sin RIV	116	4		5	

^a $p < 0,05$

Determinación del pH vaginal

El pH de las muestras vaginales resultó mayor a 4,5 en la mayoría de las mujeres estudiadas (95,10 %). Particularmente, el pH vaginal elevado se observó en el 88,89 % de las muestras en las que se detectó *C. trachomatis* y en la totalidad de las que se halló *T. vaginalis*.

Infecciones polimicrobianas

Las asociaciones microbianas más comunes encontradas fueron *C. trachomatis* con vaginosis bacteriana (2,10 %) y *T. vaginalis* con vaginosis bacteriana (2,10 %), sin diferencias significativas.

6.2.4. Discusión

En este estudio se observó que una de cada siete trabajadoras sexuales presentó una infección transmisible sexualmente. La más prevalente fue la trichomonosis, seguida por *C. trachomatis* y sífilis.

La prevalencia de *C. trachomatis* en la población estudiada de trabajadoras sexuales fue de 6,29 % y resultó similar a la reportada en otros países: 4,1% en Singapur (Chan *et al.*, 2005); 5,3% en Grecia (Papadogeorgaki *et al.*, 2006); 6,6% en Hungría (Petrovay *et al.*, 2009); 7,0% en Madagascar (Harijaona *et al.*, 2009) y 7,4% en Bélgica (Mak *et al.*, 2005). Sin embargo, en Latinoamérica y en otras regiones del mundo varios trabajos informan prevalencias mayores que oscilan entre 12 % y 28 % (Paris *et al.*, 1999; Alvarado Esquivel *et al.*, 2000; 2003; Rahman *et al.*, 2000; Sturm-Ramirez *et al.*, 2000; Uribe-Salas *et al.*, 2003; Matteelli *et al.*, 2003; Nessa *et al.*, 2005; García *et al.*, 2005; Thuong *et al.*, 2005; Alvis *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2007; Rodríguez Baldín *et al.*, 2011; Ángel-Müller *et al.*, 2012). En Bangladesh, en una población de 400 trabajadoras sexuales, se halló una prevalencia de 43,5% (Nessa *et al.*, 2004), y en China de 58,6% sobre 505 trabajadoras sexuales encuestadas (Chen *et al.*, 2005). Estas variaciones podrían deberse al grado de utilización regular del preservativo y a diferencias en las poblaciones estudiadas. En este sentido, resulta relevante si las trabajadoras sexuales están registradas, si reciben controles médicos periódicos y si desarrollan su actividad en la calle o en locales nocturnos.

En Argentina, los únicos antecedentes son los resultados preliminares de este trabajo, donde se informó una prevalencia de 8,2 % en 85 trabajadoras sexuales estudiadas en la ciudad de Bahía Blanca (Occhionero *et al.*, 2007).

En este estudio se analizaron únicamente muestras de origen endocervical, por lo que la prevalencia general de infección podría ser mayor, ya que es

abundante la bibliografía que señala la infección faríngea y/o anal por *C. trachomatis*. (Ota *et al.*, 2009; Peters *et al.*, 2011; Ding *et al.*, 2013; Solomon *et al.*, 2013).

Los genotipos de *C. trachomatis* detectados más frecuentemente fueron el E (44,4%) seguido por el D (33,3%). Estos genotipos serían los de mayor circulación en nuestro medio (Gallo Vaulet *et al.*, 2010; Cuffini *et al.*, 2012). Autores de otros países, como Senegal, Corea y China, también informaron la mayor prevalencia del genotipo E en trabajadoras sexuales; aunque en segundo lugar observaron el genotipo F, ausente en la población estudiada (Sturm-Ramirez *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2010). Otros estudios realizados en trabajadoras sexuales de Japón y Hungría informan como genotipos más frecuentes al D y al F respectivamente (Yamazaki *et al.*, 2005; Petrovay *et al.*, 2009).

La edad resultó un factor de riesgo importante para la infección por *C. trachomatis* en trabajadoras sexuales. La mayor frecuencia se encontró en las mujeres menores de 22 años ($p < 0,03$; OR = 4,73; $1,01 < OR < 22,84$). Esta asociación con las trabajadoras sexuales jóvenes ya ha sido reportada en varios estudios (Nelson *et al.*, 2001; Rietmeijer *et al.*, 2002; Matteelli *et al.*, 2003; Papadogeorgaki *et al.*, 2006; Petrovay *et al.*, 2009). Posiblemente, la mayor actividad sexual y/o el uso irregular del preservativo en estas edades, podrían explicar esta relación.

La frecuencia de infección por *T. vaginalis* (6,99 %) resultó semejante al 7,6 % hallado en la provincia de Mendoza, Argentina, en un estudio realizado entre 687 mujeres trabajadoras sexuales y utilizando igual metodología (Salomón *et al.*, 2011). En Latinoamérica, varios autores reportan prevalencias menores en poblaciones similares, variando entre 0,6 % y 5 % (Alvis *et al.*, 2007; Amaral *et al.*, 2007; De Sousa *et al.*, 2007; Rodríguez Baldín *et al.*, 2011; Ángel-Müller *et al.*, 2012). Por otra parte, valores mayores que oscilan entre 11,9 % y 46,0 %, son informados en trabajadoras sexuales de países asiáticos y africanos (Ndoye *et al.*, 1998; Rahaman *et al.*, 2000; Fonck *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2007; Harijaona *et al.*, 2009). Al igual que en el capítulo anterior, el valor de prevalencia hallado en este trabajo podría ser aún mayor debido a la técnica empleada para investigar el parásito. Se expuso también que aunque el cultivo

tiene una mayor sensibilidad que la observación microscópica en fresco, raramente se usa de rutina como prueba de laboratorio para el diagnóstico de trichomonosis. Al respecto, un estudio realizado en nuestro país, por Costamagana, reveló una sensibilidad similar entre el cultivo y el examen en fresco inmediato (80,7%), sobre una población estudiada cuya prevalencia de enfermedad fue del 29,21% (Costamagna *et al.*, 2001). Actualmente, la sensibilidad de los métodos para el diagnóstico de *T. vaginalis* se ha mejorado notablemente con el uso de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAANs) (Patel *et al.*, 2000; Schwebke *et al.*, 2005; Wendel *et al.*, 2002).

Resultó llamativo que las mujeres con infección por *T. vaginalis* no presentaron descarga vaginal en el momento de la consulta, al igual que el resto de las trabajadoras sexuales estudiadas. Esto podría deberse a la aplicación de duchas vaginales antes del examen, lo cual también pudo haber influido en otros resultados de este estudio. Las duchas vaginales se describen en varias publicaciones como un hábito muy común entre las trabajadoras del sexo (Fonk *et al.*, 2001; Reed *et al.*, 2001; Wang *et al.*, 2005; 2007).

En la ciudad de Bahía Blanca, semestralmente las trabajadoras sexuales son examinadas para determinar la presencia de anticuerpos contra *T. pallidum* mediante el test de VDRL. Posteriormente, las muestras reactivas son confirmadas por la prueba de TPHA (Hemaglutinación de *T. pallidum*). Si en este control se diagnostica la presencia de sífilis su libreta de salud es retenida e inmediatamente se administra el tratamiento antibiótico adecuado. Recién cuando las pruebas séricas resulten negativas se le devuelve su carnet de salud. Este procedimiento podría explicar la baja prevalencia de sífilis en este grupo de estudio (1,40 %), similar al hallado por Camejo en Venezuela (2,4 %) en trabajadoras sexuales que reciben el mismo control (Camejo *et al.*, 2003). Por el contrario, prevalencias mayores de sífilis (45,7 % y 22,4 %) fueron observadas por Pando en dos estudios sobre trabajadoras sexuales de Argentina, las que no recibieron controles periódicos y fueron contactadas en las calles, baños, bares y cabarets (Pando *et al.*, 2006; 2011). También se reportan cifras mayores en otros países como México, 9,4 % (Uríbe-Salas *et al.*, 2003); Vietnam, 10,7 % (Thuong *et al.*, 2005); Grecia, 18,1 % (Papadogeorfaki *et al.*, 2005); Madagascar, 18,4 % (Xueref *et al.*, 2003) y Bangladesh, 32,6 % (Rahman *et al.*, 2000).

En la población estudiada no se presentaron casos de mujeres infectadas por HIV, probablemente porque el grupo de trabajadoras sexuales que asiste a control sanitario es muy seleccionado, pudiendo existir otros grupos con mayor incidencia que no consultan o bien se establezcan en ciudades donde no hay controles. También podría haber influido en este resultado la circulación entre diferentes ciudades de las trabajadoras sexuales, las cuales comienzan su actividad en Bahía Blanca y rápidamente migran a otras localidades (Organización Internacional para la Migraciones, 2003). En los países de América Latina la prevalencia de HIV en trabajadoras sexuales no es muy elevada, como lo demuestran los estudios realizados en Venezuela, Argentina, Chile, Brasil y Colombia, donde los valores oscilan entre 0 % y 3,2 % (Camejo *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2006; Pando *et al.*, 2006; 2011; Barrientos *et al.*, 2007; Rodríguez Baldín *et al.*, 2011; Ángel-Müller *et al.*, 2012).

Si bien la frecuencia reportada sobre el uso del preservativo fue elevada (88,11 %), la prevalencia hallada de ITS fue alta (14,68 %). Estos datos advierten sobre la dificultad de producir estadísticas fiables sobre la utilización del preservativo entre las trabajadoras del sexo y que, si bien ellas señalan un elevado uso, probablemente éste no sea consistente, situación que también ha sido observada por otros autores (Gutiérrez *et al.*, 2006; Pando *et al.*, 2006). Al respecto, es importante destacar que las trabajadoras sexuales representan una población altamente vulnerable, sin asistencia social ni servicios médicos y con un estado laboral irregular pero a la vez consentido por el Estado, que las coloca en situaciones psicológicas contradictorias. Por ello es muy probable que en las encuestas declaren el uso regular del preservativo para renovar sin problemas su documento de salud, evitando así la estigmatización y la discriminación. Un estudio realizado en Corea, reveló que de 999 trabajadoras sexuales sólo el 23,7 % de ellas usaban siempre condones (Lee *et al.*, 2010), valor que contrasta notablemente con el 88,11 % hallado en este trabajo.

Una mención aparte merece la utilización del preservativo por parte de las trabajadoras sexuales con sus parejas estables, lo que también ha sido analizado en la literatura internacional (Zachariah *et al.*, 2003; Soares *et al.*, 2003; Wong *et al.*, 2003; Cohen *et al.*, 2006; Alvis *et al.*, 2007). Se debe tener en cuenta la posibilidad de que aún aquellas mujeres que utilizan preservativo regularmente en

su actividad laboral, no se protejan con su compañero estable. En un contexto de confianza mutua y estabilidad de pareja, podría no ser un hecho de esencial atención. Pero en los casos de múltiples parejas estables, como el 12,21 % de las mujeres que en el presente trabajo informaron tener 3 o más parejas estables en el último año, sería un factor adicional a tener en cuenta en la transmisión de las ITS.

La prevalencia de vaginosis bacteriana en la población analizada fue de 42,66 %, tasa comparable con las observadas por Nessa en Bangladesh (59,5 %), Amaral en Brasil (51,0 %) y Ángel-Müller en Colombia (44,3 %) (Nessa *et al.*, 2004; Amaral *et al.*, 2007; Ángel-Müller *et al.*, 2012). La frecuencia de vaginosis bacteriana varía dependiendo de la población estudiada, pero es más alta en mujeres trabajadoras sexuales (Venegas *et al.*, 2011; Ángel-Müller *et al.*, 2012). Esta alteración de la microbiota vaginal en las trabajadoras sexuales probablemente se deba al contacto sexual con nuevas o múltiples parejas sexuales, a la frecuencia de duchas vaginales y/o a las relaciones sexuales sin preservativo.

En este trabajo, se encontró una asociación significativa entre vaginosis bacteriana y el grupo etario de 18 - 21 años ($p < 0,02$, OR = 2,59) que no es fácil de explicar. Al respecto, Sewankambo y Moi observaron la asociación entre vaginosis bacteriana y mujeres mayores de 25 años (Moi *et al.*, 1990; Sewankambo *et al.*, 1997). Por el contrario, Bhalla y cols. no hallaron diferencias significativas de prevalencia entre las mujeres de 15 a 24 años y las mayores de 25 (Bhalla *et al.*, 2007). Estas variaciones entre los estudios podrían ser atribuidas a una variedad de factores asociados a la presencia de VB, como el consumo de tabaco, las malas condiciones sanitarias o el nivel socioeconómico precario (Venegas *et al.*, 2011).

La distribución de EVBs en este grupo de trabajadoras sexuales muestra una dimensión de 75,52 % de mujeres con un desplazamiento del balance de la proporción relativa de lactobacilos (disminución) y el resto de la microbiota vaginal. Entre este porcentaje de mujeres con un estado anormal de la función vaginal, el 42,66 % correspondió a VB típica, el 15,38 % a MI y el 17,48 % a VMI.

En un estudio con similar metodología (BACOVA) realizado por Bologno, en trabajadoras sexuales de Comodoro Rivadavia, Argentina, el 64,6 % de las

mujeres presentó desequilibrio de la ecología vaginal, con 23,1 % de VB y 15,7 % de MI. En el mismo trabajo se observó un desplazamiento de la MN hacia los estados de VB y MI al cotejar los datos con los de mujeres no trabajadoras sexuales de Comodoro Rivadavia (Bologno *et al.*, 2011). De manera coincidente, al comparar esta serie con la de mujeres no trabajadoras sexuales del capítulo anterior, la disminución de la MN (de 46,44 % en no trabajadoras sexuales a 24,48 % en trabajadoras sexuales) se refleja en el aumento relativo de los casos de VB (de 21,36 % a 42,66 %) y de MI (de 9,83 % a 15,38 %). Estos porcentajes muestran un considerable riesgo en el grupo de mujeres trabajadoras sexuales.

En el 17,48 % de las trabajadoras sexuales estudiadas se determinó un estado de vaginitis microbiana inespecífica (VMI), caracterizado por una alteración de la relación de lactobacilos y el resto de la microbiota habitual vaginal (VN = 4 a 10), acompañado por una RIV significativa. Como se expuso anteriormente, la reacción inflamatoria detectada puede tener origen en el epitelio vaginal o responder a infecciones en otros niveles del tracto genital o urinario por agentes diferentes a los investigados. Si bien en estos casos resulta difícil atribuir una condición etiológica, en este trabajo se hallaron asociaciones significativas entre el estado de VMI y la presencia de *T. vaginalis* y *C. trachomatis*, OR = 9,00 (1,99 < OR < 42,82) y OR = 7,13 (1,49 < OR < 35,38) respectivamente.

Las trabajadoras sexuales con respuesta inflamatoria vaginal (RIV) tuvieron aproximadamente 6 veces más probabilidad de infección por *C. trachomatis* ($p < 0,01$, OR = 5,89) y 5 veces más probabilidad de infección por *T. vaginalis* ($p < 0,03$, OR = 4,73). En la vaginitis por *T. vaginalis* la RIV se origina por la acción directa de agresión sobre el epitelio vaginal, mientras que en la infección por *C. trachomatis* el estado de agresión está localizado en el endocervix y los leucocitos son detectados en el contenido vaginal. Por otro lado, hay una proporción de mujeres (17/143) que tuvieron RIV y no se determinó el factor causal. Estos casos podrían deberse a la presencia de *T. vaginalis* no detectadas por la metodología diagnóstica, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* u otros agentes causantes de infección ginecológica.

El análisis de la cantidad de muestras recolectadas mensualmente evidenció una mayor concurrencia de trabajadoras sexuales, a realizar sus controles de salud, en los dos primeros meses, para luego declinar

paulatinamente en los meses siguientes del estudio. De igual modo, en los primeros quince días de muestreo se detectaron la mayoría de los casos positivos de *C. trachomatis*. La primera situación podría sugerir una mayor reticencia, por parte de las trabajadoras sexuales, a realizar sus controles en el Hospital Municipal, a partir del conocimiento de la realización de análisis más específicos, lo que pondría en riesgo su continuidad laboral en caso de detectarse una ITS. La disminución en la frecuencia de infecciones por *C. trachomatis* luego de varios casos detectados, podría deberse a una posible automedicación de antibióticos por recomendación de aquellas trabajadoras sexuales que hayan sido diagnosticadas y tratadas para dicha infección.

Entre las limitaciones del presente estudio, una de las más importantes es la representatividad de la muestra. Los datos obtenidos sólo reflejan la situación de las trabajadoras sexuales que tramitaron su documento de salud en el Hospital Municipal por trabajar en un local nocturno habilitado. Este trabajo no representa la situación de aquellas que trabajan en forma independiente en la calle, departamentos privados o lugares no habilitados.

El estudio sistemático de esta población vulnerable y la organización de programas educativos y de prevención que incluyan a las trabajadoras sexuales que no tienen fácil acceso al sistema de salud es un área que los gobiernos deben hacer un esfuerzo serio para desarrollar. Estos programas deben incluir la distribución gratuita de preservativos, el estudio de *C. trachomatis* y otros agentes responsables de ITS, tratamientos adecuados y actividades educativas. Así mismo, puede tener un alto impacto en la prevención de las ITS la implementación de un seguro temporal por incapacidad para aquellas trabajadoras sexuales que contraigan una ITS, evitando de esta manera que el retiro de su permiso sanitario las obligue a pasar a la clandestinidad, con el riesgo que ello implica para su salud y la de sus parejas sexuales. Por otro lado, los organismos de salud pública deberían articular estrategias con las organizaciones sindicales que agrupan a las trabajadoras sexuales, como AMMAR en la Argentina, las que realizan valiosas acciones de prevención en salud desde la movilización entre pares.

El trabajo sexual en la mira

Estamos cansadas.

Estamos cansadas de la discriminación social.

En las calles de la ciudad hay todo tipo de personas, hay delincuentes, borrachos, drogadictos, timadores, agresivos, violentos, ruidosos, sucios.

Pero eso no inquieta a los vecinos no molesta a la policía

no preocupa a los ayuntamientos

Legislan y actúan para terminar con las prostitutas callejeras

Que no están cometiendo ningún delito que no se emborrachan ni se drogan que no engañan ni estafan a nadie que no son violentas, ni ruidosas ni tienen aspecto desagradable ni ofensivo.

Estamos cansadas de la hipocresía social.

Los trabajos que se reservan a las mujeres son pesados y mal pagados, sin contratos laborales ni seguridad social.

Pero eso no preocupa a los políticos no angustia a algunos sectores del feminismo

no quita el sueño a los organismos internacionales.

Sin preocuparse de modificar el mercado laboral, hacen propuestas para abolir el trabajo más rentable del que disponen muchas mujeres pobres y sin papeles en orden.

En lugar de ofrecerles mejores condiciones laborales

las acosan policialmente

las minusvaloran

las ignoran en tanto que agentes sociales

Estamos cansadas del doble patrón de moralidad

Que admite que haya prostitución, pero no quiere que se vea

Que habla de la esclavitud sexual femenina, pero nunca habla de la esclavitud sexual masculina cuando habla de hombres que hacen exactamente el mismo trabajo

Que favorece el negocio de los empresarios del sector, pero hostiga a las prostitutas autónomas

Que oculta sus estrategias especuladoras financieras, detrás de campañas moralistas de "limpieza de la ciudad"

Por todo ello, las persona y organizaciones que apoyamos el pleno reconocimiento de derechos humanos a las trabajadoras del sexo, nos hacemos eco de sus demandas cuando dicen

No queremos que nos salven, queremos que nos escuchen

[No nos rotulen, conozcannos]

No hablen por nosotras, dejemos hablar.

Dolores Juliano

6.3. Capítulo III: Infección por *C. trachomatis* en ingresantes universitarios

En este capítulo se estudió la prevalencia de de la infección por *C. trachomatis* y los factores de riesgo para la adquisición de ITS en alumnos ingresantes a la Universidad Nacional del Sur (UNS), Bahía Blanca, Argentina.

6.3.1. Introducción

Las infecciones transmisibles sexualmente (ITS) constituyen un importante problema de salud pública a nivel mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que anualmente unos 500 millones de personas contraen una ITS curable (OMS, 2008).

Las ITS son un grupo de enfermedades que se adquieren fundamentalmente por contacto sexual y afectan a personas de cualquier edad, aunque son los adolescentes y jóvenes adultos los grupos poblacionales más afectados.

En el documento *La salud de los jóvenes un desafío para la sociedad*, la OMS propuso una escala de edades para la estratificación de la adolescencia y la juventud (OMS, 1986). La propuesta fue que el término “jóvenes” se refiera, en general, al período global de 10 a 24 años de edad, aunque en la práctica los vocablos “adolescentes”, “jóvenes” y “juventud” son intercambiables. De esta forma, la consideración genérica en períodos de 5 años abarca: 10 a 14 años (pubertad, adolescencia inicial o temprana, juventud inicial), 15 a 19 años (adolescencia media o tardía, juventud media) y 20 a 24 años (juventud plena). Esta etapa de adolescencia y juventud es crucial, porque en ella se producen profundos cambios físicos, psicológicos y sociales que impactan en el resto de la vida de los seres humanos.

Los adolescentes y los jóvenes son más vulnerables a las ITS, probablemente porque se encuentran dentro del rango de edad de mayor actividad sexual y establecen patrones de comportamiento sexual de alto riesgo. Además, en las mujeres jóvenes existe una mayor susceptibilidad de su epitelio endocervical, debido a un proceso fisiológico común denominado ectopia cervical.

Este proceso consiste en la sustitución del epitelio escamoso de varias capas, que normalmente se encuentra en la vagina y exocérnix, por el epitelio columnar de una sola capa, característico del endocérnix. La exposición de este epitelio glandular favorecería la infección por algunos patógenos de transmisión sexual como *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* (Machado Junior *et al.*, 2008).

La mayor prevalencia de ITS entre adolescentes y jóvenes también podría reflejar las dificultades para acceder a los servicios de prevención de ITS, incluyendo falta de obra social o capacidad de pago, servicios diseñados para adultos y preocupaciones sobre confidencialidad.

La infección genital por *C. trachomatis* es considerada en la actualidad una de las causas más frecuentes de ITS a nivel mundial (CDC, 2007; 2011). En Estados Unidos de Norte América, durante el año 2011, fueron reportados 1.412.791 casos de infecciones por *C. trachomatis*, siendo más frecuente en la población de jóvenes menores de 25 años y mujeres en edad reproductiva (CDC, 2012). En América Latina, la información epidemiológica sobre la magnitud del problema de las ITS, y en particular de la infección por *C. trachomatis* en adolescentes y adultos jóvenes, está limitada a un pequeño número de estudios y a datos oficiales incompletos de los países de la región (Sánchez *et al.*, 2006; Huneeus *et al.*, 2009; Di Bartolomeo *et al.*, 2011; Cuffini *et al.*, 2012; Machado *et al.*, 2012).

Las mujeres infectadas por *C. trachomatis* son asintomáticas en el 70-75 % de los casos y pueden desarrollar enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), causando dolor pélvico crónico, embarazos ectópicos e infertilidad. Como en otras ITS, esta infección incrementa el riesgo de transmitir y de infectarse por el HIV (International AIDS Society-USA, 2004). Además, las embarazadas infectadas pueden transmitir la infección a sus bebés durante el parto y ocasionar cuadros de conjuntivitis o neumonía (Di Bartolomeo *et al.*, 2001; 2005; Rodríguez Fermepin *et al.*, 2006; Ghosh *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2012).

Varios países, como Estados Unidos, Inglaterra y Suecia, han implementado con éxito rigurosos programas de prevención y control con tamizajes, al menos una vez por año, para la detección de la infección por *C. trachomatis* en todas las mujeres sexualmente activas, asintomáticas y

menores de 25 años (OMS, Estrategia Mundial de Prevención y Control de las ITS 2006-2015, 2007; Corbeto *et al.*, 2011).

Los estudiantes universitarios representan una muestra por conveniencia para estudiar la epidemiología de la infección por *C. trachomatis* en la población de jóvenes que, por las razones expuestas, resultan más vulnerables a las ITS.

Estudios europeos de estudiantes que asisten a la educación superior han encontrado prevalencias de infección por *C. trachomatis* que van del 0 % al 12 % (Berry *et al.*, 1995; Pierpoint *et al.*, 2000; Rogstad *et al.*, 2001; Stock *et al.*, 2001; Powell *et al.*, 2004; Hay *et al.*, 2004; Street *et al.*, 2004; O'Connell *et al.*, 2009).

En América del Norte, las tasas de prevalencia halladas, también en estudiantes universitarios, van desde 2,3 % hasta 10 % (Sellors *et al.*, 1992; Sheahan *et al.*, 1994; Cook *et al.*, 1999; Richardson *et al.*, 2003; Sipkin *et al.*, 2003; James *et al.*, 2008).

Los estudios sobre poblaciones de estudiantes universitarios o educación terciaria en Argentina son escasos, y las prevalencias informadas de infección por *C. trachomatis* oscilan entre 0 % y 4,5 % (Rodríguez Fermepín *et al.*, 2002; Entrocassi *et al.*, 2005; Farinati *et al.*, 2008).

6.3.2. Población y muestras

Se realizó un estudio transversal en alumnos ingresantes a la UNS, desde el mes de junio a noviembre de 2010. Con el objetivo de concientizar a los estudiantes se brindaron charlas informativas y talleres sobre ITS en general, y aquellas producidas por *C. trachomatis* en particular, donde además se presentó el estudio y los alcances del mismo. Posteriormente, cuando los alumnos asistieron al Departamento de Sanidad de la UNS para realizar su control médico de ingreso, se los invitó a participar del estudio.

Se le entregó a cada estudiante que accedió a intervenir un recipiente estéril para la recolección de la orina, un formulario de consentimiento informado (Anexo 6), una encuesta anónima (Anexo 7) y una hoja con las explicaciones y el resumen del proyecto. Todo este material, excepto el consentimiento informado, se encontraba identificado con un número de 4 cifras al azar de manera de

garantizar el anonimato del estudio y de la encuesta. La posibilidad de indicar una dirección de correo electrónico en la encuesta permitió comunicar los resultados a los participantes.

En las encuestas que acompañaron la entrega de las orinas se indagó sobre los datos sociodemográficos, las conductas de riesgo para adquirir una ITS y sobre la presencia de síntomas y/o patologías del tracto urogenital previas o actuales.

Todos los participantes recolectaron una muestra de primera fracción de orina (no más de 15 ml de la primera micción de la mañana) en los recipientes estériles numerados. A cada muestra de orina remitida se le realizó un examen microscópico del sedimento antes de ser fraccionadas y almacenadas a -20°C hasta su procesamiento.

Para la detección de *C. trachomatis* se utilizó una técnica de amplificación génica (*heminested* PCR) cuyo blanco molecular es el gen *ompA* (Lan *et al.*, 1993). Como control positivo se utilizó una cepa de *C. trachomatis* LGV II agregada a una orina y procesada como muestra para alcanzar una concentración final de 3×10^3 unidades formadoras de inclusión por mililitro. Para la realización de esta técnica, a cada una de las fracciones de orina se le realizó previamente la extracción de ADN mediante un equipo comercial (Quick-ADNg™ MiniPrep - Quick - Zymo Research Corporation). La calidad de la muestra y presencia de ADN celular se evaluó mediante la amplificación de los genes humanos TNF- α y β -globina.

Las muestras que resultaron positivas tras la reacción de amplificación del gen *ompA*, se sometieron a un proceso de genotipificación por la técnica de detección del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción, RFLP-PCR (Sayada *et al.*, 1991).

6.3.3. Resultados

Se recibieron 204 orinas de estudiantes que realizaron sus controles médicos en el período que abarcó el estudio, firmaron su consentimiento y contestaron la encuesta anónima. Fueron consideradas válidas 114, debido a que

90 muestras (37 femeninas y 53 masculinas) resultaron negativas para la amplificación de los genes humanos TNF α y β -globina.

Características sociodemográficas y de actividad sexual

La distribución según el sexo de los 114 participantes correspondió a 51 mujeres (44,74 %) y 63 varones (55,26 %).

Las características sociodemográficas y de actividad sexual según el género se describen en la Tabla 22. El rango de edad fue de 18 a 39 años, con un promedio de $19,3 \pm 3,1$ años. La mayoría de los participantes eran solteros (97,37 %), cinco participantes tenían hijos y ninguna mujer estaba embarazada. Al momento del estudio el 62,75 % de las mujeres y el 38,10 % de los varones se encontraban en pareja.

La edad de inicio de las relaciones sexuales (IRS) en el grupo estudiado fue de $16,5 \pm 1,1$ años, con un rango de 14 a 19 años. El 38,10 % de los varones y el 52,94 % de las mujeres iniciaron sus relaciones sexuales antes de los 17 años.

Respecto al número de parejas sexuales desde el IRS, el 76,47 % de las mujeres y el 68,25 % de los varones tuvieron menos de 4 parejas sexuales hasta el momento del estudio. El número de parejas sexuales en el último año presentó diferencias entre ambos sexos, el 82,35 % de las mujeres refirió una única pareja sexual en los últimos doce meses y lo mismo sucedió 66,66 % de los varones. Cuatro mujeres (7,84 %) relataron haber tenido una infección urinaria previa. Los varones no informaron antecedentes de infecciones genitourinarias.

Las encuestas revelaron que 9 participantes (7,89 %), 8 mujeres y 1 varón, manifestaron haber tenido síntomas o molestias genitales. Las mujeres detallaron ardor al orinar y picazón; el varón refirió dolor testicular.

En relación a la pregunta cuando fue su última visita al ginecólogo, 32 mujeres (62,74 %) manifestaron haber concurrido entre los últimos doce meses, 10 (19,61 %) que había pasado más de un año desde su última consulta y 9 (17,65 %) no contestaron la pregunta.

Los estudiantes que manifestaron haber tenido una nueva pareja sexual en los últimos cuatro meses fueron 13 varones (20,63 %) y 10 mujeres (19,60 %). Ninguno informó relaciones sexuales con personas del mismo sexo.

Tabla 22. Características demográficas y de actividad sexual en alumnos ingresantes a la UNS, según género.

Característica	Varones (n = 63)		Mujeres (n = 51)	
	n	%	n	%
Edad (años)				
18	37	58,73	27	52,94
19-20	16	25,4	19	37,26
> 20	10	15,87	5	9,80
Estado civil				
Soletero/a	62	98,41	49	96,08
Casado/a	1	1,59	2	3,92
Hijos				
Si	0	0	5	9,80
No	63	100	46	90,20
En pareja actualmente				
Si	24	38,10	32	62,75
No	39	61,90	19	37,25
Edad de IRS (años)				
13-14	3	4,76	1	1,96
15-16	21	33,33	26	50,98
17-18	38	60,32	23	45,10
> 18	1	1,59	1	1,96
N° parejas desde IRS				
1-3	43	68,25	39	76,47
4-6	14	22,22	9	17,65
7-10	4	6,35	3	5,88
> 10	2	3,18	0	0
N° parejas último año				
0-1	42	66,66	42	82,35
2-3	16	25,4	8	15,69
> 3	5	7,94	1	1,96
Infecciones genitales previas				
Si	0	0	4	7,84
No	63	100	47	92,16
Síntomas o molestias genitales				
Si	1	1,59	8	15,69
No	62	98,41	43	84,31

Tabla 22. Continuación

Característica	Varones (n = 63)		Mujeres (n = 51)	
	n	%	n	%
Última visita al ginecólogo				
Últimos 12 meses	-	-	32	62,74
Más de 1 año	-	-	10	19,61
No contesta	-	-	9	17,65
Relaciones sexuales con personas del mismo sexo				
Si	0	0	0	0
No	63	100	51	100
Nueva pareja sexual (últimos 4 meses)				
Si	13	20,63	10	19,6
No	50	79,37	41	80,4

Características de las muestras de orina

El análisis de las orinas recibidas mostró que el 80,95 % de las muestras masculinas y el 76,47 % de las femeninas presentó un pH entre 5 y 6. En el estudio del sedimento urinario, se detectaron tres participantes (2 mujeres y 1 varón) con reacción inflamatoria, definida como más de 10 leucocitos por campo de 400X. También, cinco estudiantes (1 mujer y 4 varones) presentaron más de 4 hematíes por campo de 400X. Los otros parámetros observados: células, mucus, cristales y cilindros fueron normales.

Características de la última relación sexual

Los resultados de la encuestas, referidos a la descripción de la última relación sexual en cuanto a prácticas realizadas y utilización del preservativo, según el género, se presentan en la Tabla 23. En ella se puede observar que, tanto en las mujeres como en los hombres, las relaciones sexuales vaginales son las prácticas más frecuentes (96,08 % y 95,24 % respectivamente), seguido por relaciones sexuales orales (19,61 % y 39,68 %) y anales (7,84 % y 4,76 %). El sexo oral aparece como la práctica sexual donde es mayor la proporción de participantes que no se protegen con preservativo.

Tabla 23. Descripción de la última relación sexual en cuanto a: prácticas realizadas y utilización del preservativo en ingresantes a la UNS, según género

Práctica sexual	Mujeres			Varones		
	%	Con preservativo (%)	Sin preservativo (%)	%	Con preservativo (%)	Sin preservativo (%)
Relación sexual vaginal	96,08 (49/51)	61,22 (30/49)	38,78 (19/49)	95,24 (60/63)	80,00 (48/60)	20,00 (12/60)
Relación sexual oral	19,61 (10/51)	30,00 (3/10)	70,00 (7/10)	39,68 (25/63)	28,00 (7/25)	72,00 (18/25)
Relación sexual anal	7,84 (4/51)	75,00 (3/4)	25,00 (1/4)	4,76 (3/63)	33,33 (1/3)	66,66 (2/3)

Factores de riesgo para la adquisición de ITS

El 65,08 % (41/63) de los varones presentó al menos un factor de riesgo para la adquisición de ITS, principalmente la edad de inicio de las relaciones sexuales menor a 17 años (38,10 %), la no utilización de preservativo en la última relación sexual (36,51 %) y una nueva pareja sexual dentro de los cuatro meses previos al estudio (20,63 %). En menor frecuencia aparece la promiscuidad, definida como cuatro o más parejas sexuales en los últimos doce meses (7,94 %) (Tabla 24).

Entre las mujeres, el 82,35 % (42/51) presentó al menos un factor de riesgo. En primer lugar la edad de inicio de las relaciones sexuales antes de los 17 años (52,94 %). Luego se destacan la falta de utilización de preservativo en la última relación sexual (47,06 %) y una nueva pareja sexual dentro de los cuatro meses previos al estudio (19,61 %). Con baja frecuencia aparecen las infecciones genitales previas (7,84 %) y la promiscuidad (1,96 %) (Tabla 24).

Tabla 24. Factores de riesgo para la adquisición de ITS en ingresantes universitarios, según género

Factor de riesgo	Varones (n=63)		Mujeres (n=51)	
	Nº	%	Nº	%
Edad de inicio de las relaciones sexuales (≤ 16 años)	24	38,10	27	52,94
No utilización de preservativo en la última relación sexual (vaginal, oral o anal)	23	36,51	24	47,06
Nueva pareja sexual (cuatro meses previos al estudio)	13	20,63	10	19,61
Promiscuidad (cuatro o más parejas sexuales en los últimos doce meses)	5	7,94	1	1,96
Infecciones genitales previas	0	0	4	7,84

Prevalencia de la infección por *C. trachomatis*

Entre los 114 estudiantes se detectaron cuatro casos de infección por *C. trachomatis*, con una prevalencia de 3,51 % (IC95% 0,13 % - 6,89 %). Entre las mujeres, la prevalencia fue de 5,88 % (IC95% 0,00 % - 12,34 %) y entre los hombres 1,59 % (IC95% 0,0 % - 4,67 %), sin diferencias significativas ($p = 0,194$). Tampoco se observaron diferencias significativas en la edad de los participantes, la presencia de síntomas genitales, el número de parejas sexuales en el último año, las infecciones genitales previas, el uso de preservativo, ni en las prácticas sexuales realizadas. En ninguno de los participantes sintomáticos se detectó *C. trachomatis*.

Con respecto a la edad de inicio de las relaciones sexuales, se consideró a los 16 años o menos como inicio precoz, y aunque se observó una mayor frecuencia en el grupo que inició su vida sexual antes de los 17 años (3 de 50) frente a los que tuvieron un inicio posterior (1 de 64), no fue estadísticamente significativo (Tabla 25).

Los genotipos de *C. trachomatis* de las 4 muestras positivas halladas en los ingresantes universitarios resultaron: una del genotipo D, otra del I y las dos muestras restantes no se pudieron resolver debido a la baja carga de ADN de *C. trachomatis*.

Factores de riesgo asociados a la infección por *C. trachomatis*

La prevalencia de infección por *C. trachomatis* en los estudiantes que informaron haber tenido 7 o más parejas sexuales desde el inicio de su vida sexual (2 de 9) fue significativamente mayor al de aquellos que tuvieron 1 a 6 parejas sexuales (2 de 105), ($p < 0,03$; OR = 14,71; $1,23 < OR < 183,31$) (Tabla 25).

Otro factor de riesgo significativamente asociado a la presencia de *C. trachomatis* fue tener una nueva pareja sexual en los últimos 4 meses previos al estudio ($p < 0,03$; OR = 12,71; $1,09 < OR < 334,56$) (Tabla 25).

Tabla 25. Factores de riesgo relacionados con la infección por *C. trachomatis* en ingresantes a la UNS

Factor de riesgo	Total población	% Positivos (n)	OR
Sexo			
Femenino	51	5,88 (3)	-----
Masculino	63	1,59 (1)	
Edad			
< 20 años	88	3,41 (3)	-----
≥ 20 años	26	3,85 (1)	
Edad de inicio de relaciones sexuales (IRS)			
≤ 16 años	50	6,00 (3)	-----
> 16 años	64	1,56 (1)	
Número de parejas sexuales desde el IRS			
1 a 6	105	1,90 (2)	
7 o más	9	22,22 (2) ^a	14,71 (1,23 < OR < 183,31)
Síntomas o molestias genitales			
Si	9	0,00 (0)	-----
No	105	3,81 (4)	
Número de parejas sexuales en el último año			
0 a 3	108	3,70 (4)	-----
4 o más	6	0,00 (0)	
Infecciones genitales previas			
Si	4	0,00 (0)	-----
No	110	3,64 (4)	

Tabla 25. Continuación

Factor de riesgo	Total población	% Positivos (n)	OR
Práctica realizada en última relación sexual			
Sexo oral	35	5,71 (2)	
Si	79	2,53 (2)	-----
No			
Sexo vaginal	109	3,67 (4)	
Si	5	0,00 (0)	-----
No			
Sexo anal	7	0,00 (0)	
Si	107	3,74 (4)	-----
No			
Uso de preservativo en última relación sexual (sexo vaginal)			
Si	83	1,20 (1)	
No	31	9,68 (3)	-----
Última visita al ginecólogo (solo mujeres)			
Últimos doce meses	33	9,09 (3)	-----
Más de 1 año o no contesta	18	5,55 (1)	
Nueva pareja sexual en últimos 4 meses			
Si	24	12,50 (3) ^a	12,71 (1,09 < OR < 334,56)
No	90	1,11 (1)	

^aEstadísticamente significativo ($p < 0,05$) **OR:** Odds ratio

6.3.4. Discusión

La prevalencia de infección por *C. trachomatis* de 3,51 % obtenida en alumnos ingresantes a la UNS resultó similar a los valores hallados por otros autores y en poblaciones similares. En nuestro país, Rodríguez Fermepín reportó 0,89 % y Entrocassi 0 %, ambos en estudiantes de la Universidad de Buenos Aires (Rodríguez Fermepín *et al.*, 2002; Entrocassi *et al.*, 2005). Por su parte, Farinati observó un 4,5 % en alumnos de la Universidad de Córdoba (Farinati *et al.*, 2008). En México, Dorantes Peña informó 1,04 % en estudiantes de la Universidad Autónoma de Morelos (Dorantes Peña *et al.*, 2011). En la literatura se observan prevalencias mayores, sin embargo las mismas se obtuvieron en estudios realizados entre adolescentes y jóvenes de la población general (Farinati *et al.*, 2008; Huneus *et al.*, 2009; Corbeto *et al.*, 2011; Di Bartolomeo *et al.*, 2011; Cuffini *et al.*, 2012). Estos resultados situarían a los estudiantes universitarios

como un grupo con menor prevalencia, posiblemente por comportamientos sexuales de menor riesgo.

En las mujeres estudiantes universitarias la prevalencia de *C. trachomatis* fue considerablemente mayor a la de los varones (5,88 % y 1,59 % respectivamente), aunque esta diferencia no resultó significativa. En la literatura es frecuente esta mayor incidencia en mujeres, en un estudio realizado entre 427 jóvenes asintomáticos de la ciudad de Córdoba, Argentina, Cuffini observó una prevalencia de *C. trachomatis* significativamente mayor en mujeres (13,7 %) que en varones (4,1 %) (Cuffini *et al.*, 2012). Esta mayor prevalencia podría deberse a que en las relaciones sexuales la mujer es receptiva por lo que, en ausencia de métodos protectivos de barrera, el contacto con las secreciones de la pareja es más prolongado.

Un alto porcentaje de las muestras recibidas no pudo ser incorporado al estudio, ya que resultaron negativas para la amplificación de los genes humanos TNF α y β -globina. Estos resultados negativos podrían ser consecuencia de una cantidad insuficiente de ADN (por falta de retención urinaria o recolección de volumen de orina mayor al requerido) o por causas inherentes a la técnica de detección.

Los factores de riesgo asociados a la infección por *C. trachomatis* encontrados en este estudio fueron un historial de 7 o más parejas sexuales desde el comienzo de las relaciones sexuales y el contacto con una nueva pareja sexual en los últimos 4 meses.

A los efectos de la encuesta, el término pareja no implicó la existencia de una relación afectiva. Por pareja, es decir pareja sexual, se entendió aquella persona con la que se mantuvo al menos una relación sexual.

Se ha demostrado que existe una fuerte asociación entre el número de parejas sexuales y el riesgo de adquirir alguna ITS. Joffe encontró que haber tenido cinco o más parejas incrementa 8 veces el riesgo de infectarse, a diferencia de quien sólo ha tenido una pareja (Joffe *et al.*, 1992; Dorantes Peña *et al.*, 2011). En la población estudiada de ingresantes universitarios los estudiantes con 7 o más parejas tuvieron 15 veces más probabilidad de infección por *C. trachomatis* (OR = 14,71; 1,23 < OR < 183,31).

Por otro lado, la significativa asociación como factor de riesgo de tener una nueva pareja sexual en los últimos 4 meses ($OR = 12,71$; $1,09 < OR < 334,56$), fue observada en estudios similares (Belza *et al.* 2003, Corbeto *et al.* 2011) y reafirma las conclusiones de las guías publicadas por el *Centers for Disease Control and Prevention* y el *European Centre for Disease Prevention and Control* (CDC, 2007; ECDC, 2008).

El control ginecológico es fundamental para la prevención de distintas patologías, en especial aquellas relacionadas con el cuello de útero. Es recomendable realizarlo una vez al año, e involucra el Papanicolau (PAP), la colposcopia, y el examen mamario (Engel, 2013). Un relevamiento realizado por el Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, en enero del año 2013 en la ciudad de Mar del Plata, detectó que más del 50 % de las 1.000 mujeres encuestadas se había realizado un control ginecológico en los últimos dos años (Ministerio de Salud Provincia de Buenos Aires, 2013).

En este trabajo, la consulta sobre la última visita al ginecólogo reveló que el 62,74 % de las mujeres participantes concurren en los últimos 12 meses, sin embargo el 19,61 % lo hizo hace más de un año y el 17,65 % no contestó la pregunta. Este último porcentaje de mujeres, representa un grupo de riesgo que debería recibir mayor información sobre la necesidad del control ginecológico, no sólo para detectar en etapas tempranas enfermedades como el cáncer de cuello uterino o de mama, sino también, y dado su inicio de la vida sexual, para el diagnóstico y tratamiento oportuno de infecciones transmisibles sexualmente, o para resolver dudas sobre su desarrollo y sexualidad.

En varias publicaciones aparecen como factores de riesgo asociados a la infección por *C. trachomatis* las infecciones genitales previas y un inicio más temprano a la vida sexual (Farinati *et al.*, 2008; Infante Tavío *et al.*, 2012). En este caso, estos factores no resultaron asociados, como tampoco lo fueron el tipo de práctica sexual, la edad del inicio sexual, el número de parejas, ni el uso irregular del preservativo. La falta de relación con las infecciones genitales previas puede deberse al bajo número de participantes que refirieron haber tenido una patología genital previa (3,51 %). Por otro lado y con respecto al inicio temprano a la vida sexual, se debe considerar que la media de la edad de inicio de relaciones sexuales fue 16,5 años, y que la diferencia entre esta edad y la que tenían al

momento de participar en el estudio fue de casi tres años, con lo cual los participantes se encontraban relativamente lejos de la edad de inicio de las relaciones sexuales.

Es evidente que estos hallazgos tienen un sesgo relacionado con las características sociodemográficas de los estudiantes de las UNS respecto a la población joven en general. Estudios previos han determinado que el alumno ingresante a la UNS es un estudiante de entre 17 y 19 años, que comienza sus estudios de nivel superior al concluir la escuela media y su lugar de procedencia es la ciudad de Bahía Blanca y su zona de influencia. Desde una perspectiva socio económica y cultural, es un alumno/a que no trabaja, cuyos padres están relacionados con actividades propias de la zona como es la agricultura, la ganadería y el área de servicios (Aiello *et al.*, 2007).

La muestra estudiada se compone de adolescentes que completaron la escuela secundaria, por lo que no se está considerando a otros que pudieran estar en riesgo como por ejemplo, aquellos que han abandonado los estudios o que presentan un alto ausentismo escolar. De igual modo, la relación familiar y el nivel socio económico son factores que seleccionan la población estudiada e influyen en los conocimientos, actitudes y prácticas relacionados con las ITS, como ha sido reportado por otros autores (Gómez *et al.*, 2008; Teva *et al.*, 2009; Trejo Ortiz *et al.*, 2013).

La prevalencia de infección por *C. trachomatis* refleja una baja circulación de este microorganismo en la población estudiada, sobre todo comparada con los universitarios de Estados Unidos de Norteamérica y Europa (Richardson *et al.*, 2003; Powell *et al.*, 2004; James *et al.*, 2008; O'Connell *et al.*, 2009).

La moderada promiscuidad y los escasos antecedentes de infecciones genitales en este grupo de ingresantes universitarios podrían sugerir una población de bajo riesgo para la adquisición de ITS. Sin embargo, el inicio temprano de las relaciones sexuales, la baja utilización de métodos anticonceptivos de barrera y la falta de consulta a los profesionales especializados alertan sobre la necesidad de incrementar la vigilancia y desarrollar acciones de concientización y prevención en esta población.

Una adecuada información destinada a los adolescentes y jóvenes sobre temas sexuales sigue siendo la mejor forma de prevención de las ITS. En este sentido los padres, el sistema sanitario y la escuela ocupan un lugar destacado entre las principales fuentes de información.

Los padres deben implicarse más y cobrar mayor protagonismo en la educación sexual de los adolescentes y jóvenes. La comunicación clara y a edades tempranas entre los padres y sus hijos sobre sexualidad es un paso importante para ayudar a los adolescentes a adoptar y mantener comportamientos sexuales saludables y satisfactorios.

Los centros de salud deben mejorar el acceso de los jóvenes, adecuándose a sus preferencias y sus necesidades, de forma que se eliminen las barreras entre ellos y los profesionales, favoreciendo un clima de confianza. Los programas de salud sexual y reproductiva deben asegurar la intimidad y el anonimato de los usuarios y deben estar compuestos por un equipo multidisciplinar de profesionales que estén formados, entrenados y sensibilizados en las características y necesidades de los adolescentes.

La prevención de las ITS en la escuela debe estar enmarcada dentro del contexto de la promoción y la educación para la salud sexual y estar presente en todas las etapas del proceso educativo.

Finalmente, es indispensable fomentar la participación de los jóvenes en temas relacionados con la sexualidad, incorporándolos como mediadores en las actividades de prevención. A través de la educación entre pares se consigue una mayor aceptación del mensaje por parte de la población juvenil, favoreciendo así las intervenciones dirigidas a mejorar los conocimientos, modificar actitudes y entrenar en la adquisición de habilidades para el desarrollo de conductas sexuales saludables. De esta forma los propios jóvenes se sienten más comprometidos, involucrados, estimulados y asumen un sentido de responsabilidad más duradero.

7. CONCLUSIONES

El presente trabajo de tesis permitió profundizar los conocimientos sobre la infección por *C. trachomatis* en diferentes poblaciones de mujeres de la ciudad de Bahía Blanca, donde no había antecedentes locales. Determinar la real dimensión de esta infección y establecer los factores asociados permitirá implementar políticas de salud y programas de prevención de ITS basados en datos concretos de poblaciones específicas de la ciudad.

La mayor prevalencia de *C. trachomatis* se obtuvo en las trabajadoras sexuales (6,29 %), evidenciando la vulnerabilidad y susceptibilidad de esta población a las infecciones transmisibles sexualmente. La discriminación y estigmatización sufrida por este grupo de mujeres las lleva a una situación de exclusión social que dificulta el acceso a los servicios de salud. El estudio sistemático de *C. trachomatis* en las trabajadoras sexuales, junto con la implementación de programas educativos y de prevención específicamente diseñados, son medidas que podrían disminuir las tasas de infección.

La prevalencia obtenida en mujeres jóvenes ingresantes universitarias (5,88 %), si bien resultó inferior a la de trabajadoras sexuales, fue alta. En general, las infecciones transmisibles sexualmente en los adolescentes y jóvenes constituyen un serio problema de salud pública, fundamentalmente porque establecen comportamientos sexuales de mayor riesgo y carecen de la información adecuada para la prevención. Algunas características observadas de esta población como el inicio temprano de las relaciones sexuales, la baja utilización de métodos anticonceptivos de barrera y la falta de consulta a los profesionales especializados alertan sobre la necesidad de incrementar la vigilancia y desarrollar acciones de concientización y prevención.

En las mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en el Hospital Municipal de Agudos Dr. Leónidas Lucero de Bahía Blanca, la prevalencia de 3,05 % fue superior a los datos registrados en poblaciones similares de nuestro país. Se determinó una mayor frecuencia de infección por *C. trachomatis* en las mujeres asintomáticas que en las sintomáticas, lo que refuerza la necesidad de un tamizaje periódico a las mujeres jóvenes, sexualmente activas,

independientemente de la presencia de síntomas, para lograr un diagnóstico precoz y un tratamiento oportuno.

Entre las muestras positivas para *C. trachomatis* el genotipo predominante fue el E, que es el de mayor circulación en Argentina.

Los factores significativamente asociados a la infección por *C. trachomatis* en las diferentes poblaciones estudiadas fueron:

- La edad entre 17 - 26 años y haber tenido más de una pareja sexual en el último año, en mujeres sintomáticas y asintomáticas atendidas en un hospital público.
- La edad menor a 22 años, la alteración de la microbiota habitual y la reacción inflamatoria vaginal, en mujeres trabajadoras sexuales.
- Un historial de 7 o más parejas sexuales desde el comienzo de las relaciones sexuales y el contacto con una nueva pareja sexual en los últimos 4 meses, en estudiantes universitarias.

Estos factores de riesgo para la adquisición de la infección por *C. trachomatis* representan datos claves que permitirán encarar campañas de prevención diseñadas específicamente para alcanzar cada subpoblación.

Con respecto al ecosistema vaginal, los estados de vaginitis microbiana inespecífica y vaginosis bacteriana se relacionaron frecuentemente con la presencia de *C. trachomatis*. Este hecho pone de manifiesto que la alteración de la microbiota habitual vaginal, con o sin reacción inflamatoria, aumentaría la posibilidad de colonizaciones bacterianas oportunistas en el contenido vaginal y elevaría significativamente el riesgo de adquirir una ITS. No se halló asociación significativa de la infección por *C. trachomatis* con otros agentes responsables de infecciones genitales

Finalmente, este trabajo permitió transferir e instalar una metodología diagnóstica precisa de las infecciones por *C. trachomatis* en el ámbito de la Universidad Nacional del Sur, con la colaboración de la “Unidad de Estudios de *Chlamydia* y otras infecciones del tracto genital” de la Universidad de Buenos Aires.

8. PRODUCCION CIENTÍFICA DERIVADA DE ESTA TESIS

Presentaciones en Congresos

1. Prevalencia de infecciones genitales y de transmisión sexual en un grupo de alto riesgo en Bahía Blanca, Buenos Aires.
XI Congreso Argentino de Microbiología. Córdoba, República Argentina, 10 al 12 de octubre de 2007. *Rev Argent Microbiol.* 2007; 39(1):72.
2. Infecciones genitales y de transmisión sexual en un grupo vulnerable de Bahía Blanca, Buenos Aires.
Congreso Nacional de SIDA. Paraná, Entre Ríos, 5 al 8 de septiembre de 2007. *Actual SIDA.* 2007; 15(1):58.
3. Infecciones transmitidas sexualmente y vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales en Bahía Blanca, Argentina.
V Taller Internacional de Infecciones por *Chlamydia trachomatis* en Humanos y Animales. Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, 27 al 29 de noviembre de 2008.
4. Infecciones transmitidas sexualmente (ITS) y vaginosis bacteriana (VB) en mujeres que realizan comercio sexual en Bahía Blanca, Argentina.
I Jornadas de Posgrado del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS. Bahía Blanca, 16 y 17 de diciembre de 2009.
5. Disfunción vaginal en edad fértil: un problema de atención primaria.
3º Congreso Provincial de Atención Primaria de la Salud. 1º Encuentro Nacional de A.P.S. Mar del Plata, 28 al 30 de abril de 2010.
6. Infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas de Bahía Blanca: prevalencia y factores de riesgo.
XII Congreso Argentino de Microbiología, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 17 al 20 de octubre de 2010. *Rev Argent Microbiol.* 2010; 2(1):179.

7. Red Sudamericana para la cooperación en la investigación de infecciones por clamidias. Instantáneas de epidemiología molecular de la infección por *Chlamydia trachomatis*.
XII Congreso Argentino de Microbiología, Ciudad autónoma de Buenos Aires, 17 al 20 de octubre de 2010. *Rev Argent Microbiol.* 2010; 2(1):181.
8. Infecciones genitales y vaginosis bacteriana en mujeres sintomáticas de Bahía Blanca: prevalencia y factores de riesgo.
Segundas Jornadas de Posgrado del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS. Bahía Blanca, 16 y 17 de diciembre del 2010.
9. Prevalencia de *Trichomonas vaginalis* en mujeres de Bahía Blanca: estudio hospitalario, retrospectivo.
VI Congreso Argentino de Parasitología. II Jornada Bioquímica del Sudoeste Bonaerense, Bahía Blanca, Buenos Aires, 17,18 y 19 de octubre de 2012. *Rev Arg Parasitol.* 2012; 1(I):318.
10. Factores de riesgo asociados a Infecciones Transmisibles Sexualmente en ingresantes universitarios.
III Jornadas del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS. Bahía Blanca, 25 y 26 de octubre del 2012.
11. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y factores asociados a infecciones transmisibles sexualmente en estudiantes universitarios.
XIII Congreso Argentino de Microbiología 2013, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 23 al 26 de septiembre de 2013. *Rev Argent Microbiol.* 2013; 45(1):178.
12. Utilización de un ensayo de microarray de ADN para la genotipificación de *Chlamydia trachomatis* en muestras clínicas.
XIII Congreso Argentino de Microbiología 2013, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 23 al 26 de septiembre de 2013. *Rev Argent Microbiol.* 2013; 45(1):10.

Publicaciones

1. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres de la ciudad de Bahía Blanca. Provincia de Buenos Aires. Argentina.

Occhionero M, Gallo Vaulet ML, Paniccia L, Pedersen D, Rossi G, Costamagna SR, Fernández D, Carrica A, Mazzucchini H, Rodríguez Fermepin M. Rev Asoc Méd Bahía Blanca. 2007; 17(1):10-4.

Trabajos terminados y enviados para su publicación

1. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y factores asociados a infecciones transmisibles sexualmente en estudiantes universitarios.

Occhionero M, Paniccia L, Pedersen D, Rossi G, Mazzucchini H, Entrocassi A, Gallo Vaulet L, Gualtieri V, Rodríguez Fermepin M.

Enviado *Rev Argent Microbiol.* En corrección. Ref. RAM-D-14-00037R2.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aiello B, Martín M, Monetti E, Real L, Vázquez A, Vico L. Una aproximación al perfil socio económico cultural de los ingresantes universitarios. I Jornadas Nacionales de Investigación Educativa. Mendoza, Argentina: Universidad de Cuyo. 2007.
2. Alemán Mondeja LD, Almanza Martínez C, Fernández Limia O. Diagnóstico y prevalencia de infecciones vaginales. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 2010; 36(2):62-103.
3. Alvarado-Esquivel C, García-Villanueva A, Castruita-Limonés DE, Cardoso-Nevárez FJ, Ruiz-Astorga R. Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en prostitutas registradas de la ciudad de Durango, México. *Salud Publica Mex* 2000; 42:43-47.
4. Alvis N, Mattar S, García J, Conde E, Díaz A. Infecciones de transmisión sexual en un grupo de alto riesgo de la ciudad de Montería, Colombia. *Rev salud pública (Bogotá).* 2007; 9:86-96.
5. Amann R, Springer N, Schönhuber W, Ludwig W, Schmid E, Müller K, Michel R. Obligate intracellular bacterial parasites of *Acanthamoebae* related to *Chlamydia* spp. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63:115-21.
6. Amaral R, Giraldo PC, Gonçalves AK, Junior JE, Santos-Pereira S, Linhares I, Passos MR. Evaluation of hygienic douching on the vaginal microflora of female sex workers. *Int J STD AIDS.* 2007; 18:770-3.
7. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschembach D, Holmes KK. Non specific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiological associations. *Am J Med.* 1983; 74:14-22.
8. Andrews WW, Goldenberg RL, Mercer B, Iams J, P Meis, Moawad A, Das A, Vandorsten JP, Caritis SN, Thurnau T, Miodovnik M, J Roberts, McNellis D. The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 183:662-8.
9. Ángel-Müller E, González MP, Nuñez L, Pacheco J, Tolosa J, Díaz LA, Osorio E, Ruiz-Parra A, Gaitán-Duarte H. Frecuencia de infecciones del tracto genital femenino en mujeres sintomáticas y uso de pruebas rápidas para su diagnóstico en dos poblaciones de Bogotá (Colombia) 2008. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2010; 61:220-30.

10. Ángel-Müller E, Rodríguez A, Núñez-Forero LM, Moyano LF, González P, Osorio E, Díaz LA, Rodríguez-Malagón N, Ruiz-Parra AI, Tolosa JE, Gaitán-Duarte H. Prevalencia y factores asociados a la infección por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *C. albicans*, sífilis, VIH y vaginosis bacteriana en mujeres con síntomas de infección vaginal en tres sitios de atención de Bogotá, Colombia, 2010. *Rev Colomb Obstet Ginecol* [online]. 2012; 63(1):14-24.
11. Arango I, Máttar S, Visbal J. *Chlamydia trachomatis*: Aspectos Microbiológicos, Clínicos y Epidemiológicos. *Revista MVZ Córdoba, Montería, Colombia*. 2001; 6(2):87-96.
12. Arráiz R, Ginestre P, Castellano G, Perozo M, Urdaneta V. Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de hisopado endocervical por inmunofluorescencia directa y reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Soc Ven Micobiol*. 2006; 26(1):14-8.
13. Arráiz R, Ginestre P, Perozo M, Castellano M, Urdaneta B, García G. Diagnóstico molecular y prevalencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en pacientes sintomáticas y asintomáticas de una población del estado de Zulia, Venezuela. *Rev Chil Infect*. 2007; 24(1):48-52.
14. Arráiz N, Marcucci R, Colina S, Reyes F, Rondón N, Bermúdez V, Reyna N. Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres consultantes en Maracaibo, Venezuela. *Rev salud públic*. 2008; 10(4):615-24.
15. Australia's notifiable diseases status, 2010: Annual report of the National Notifiable Diseases Surveillance System. Department of Health. Australian Government. Communicable Diseases Intelligence (CDI). 2012; 36(1).
16. Baldin-Dal Pogetto MR, Silva MG, Parada CMGL. Prevalencia de enfermedades sexualmente transmisibles en mujeres profesionales del sexo en un municipio del interior del estado de Sao Paulo, Brasil. *Rev LatAm Enfermagem*. 2011; 19(3):493-9.
17. Barcelos MR, Vargas PR, Baroni C, Miranda AE. Genital infections in women attending a Primary Unit of Health: prevalence and risk behaviors. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2008; 30(7):349-54.
18. Bariantos JE, Bozon M, Ortiz E, Arredondo A. HIV prevalence, AIDS knowledge, and condom use among female sex workers in Santiago, Chile. *Cad Saude Publica* 2007; 23:1777-84.
19. Barnes RC. Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2:119-36.
20. Basualdo JA, Huarte L, Bautista E, Niedfeld G, Alfonso G, Rosso N, Geronés M, Galeppi I. Conjuntivitis folicular debida a *Chlamydia trachomatis*. *MEDICINA (B Aires, en línea)*. 2001; 61:397-400.

21. Baud D, Thomas V, Arafa A, Regan L, Greub G. *Waddia chondrophila*, a Potential agente of Human Fetal Death. *Emerg Infect Dis.* 2007; 13(8).
22. Bébéar C, De Barbeyrac B. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Infec.* 2009; 15(1):4-10.
23. Belza MJ, Koerting A, Suárez M. Informe FIPSE: Jóvenes, relaciones sexuales y riesgo de infección por VIH. Encuesta de salud y hábitos sexuales. España, 2003. Madrid: Fundación para la Investigación y la Prevención del SIDA en España; 2006.
24. Benavides MD, Téllez A, Matus G, Baltodano Martínez YS, Centeno Cárdenas NM. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* como agente causal de leucorrea único o en asociación con otros agentes en mujeres embarazadas. *Universitas, UNAN-León, Editorial Universitaria*, 2008; 1(2):43-50.
25. Berry J, Crowley T, Horner P, Clifford J, Paul I, Caul E. Screening for asymptomatic *Chlamydia trachomatis* infection in male students by examination of first catch urine. *Genitour Med.* 1995; 71(5):329-31.
26. Bhalla P, Chawla R, Garg S, Singh MM, Raina U, Bhalla R, Sodhanit P. Prevalence of bacterial vaginosis among women in Delhi, India. *Indian J Med Res.* 2007; 125:167-72.
27. Birtles RJ, Rowbotham TJ, Storey C, Marrie TJ, Raoult D. *Chlamydia*-like obligate parasite of free living amoebae. *Lancet.* 1997; 349:925-6.
28. Black, CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1997; 10:160-84.
29. Bologno R, Díaz Y, Giraudo M, Fernandez R, Menendez V, Brizuela JC, Gallardo AA, Alvarez L, Belchior ES. Estudio de la microbiota vaginal en mujeres de la ciudad de Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina. En: Taller Balance del Contenido Vaginal BACOVA XIII Jornadas Argentinas de Microbiología; Octubre 2008, Rosario, Argentina.
30. Bologno R, Díaz YM, Giraudo MC, Fernández R, Menéndez V, Brizuela JC, Gallardo AA, Álvarez LA, Belchior SE. Importancia del estudio del balance del contenido vaginal (BACOVA) en el control preventivo de las trabajadoras sexuales. *Rev Argent Microbiol.* 2011; 43:246-50.
31. Bowden FJ, Garnett GP. *Trichomonas vaginalis* epidemiology: parameterising and analyzing a model of treatment interventions. *Sex Transm Infect.* 2000; 76:248-56.
32. Brunham RC, Peeling RW. *C. trachomatis* antigens: role in immunity and pathogenesis. *Infect Agents Dis.* 1994; 3:218-33.
33. Bush RM, Everett KD. Molecular evolution of the *Chlamydiaceae*. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2001; 51:203-20.

34. Camejo M, Mata G y Díaz M. Prevalencia de hepatitis B, hepatitis C y sífilis en trabajadoras sexuales de Venezuela. *Rev Saúde Pública*. 2003; 37(3):339-44.
35. Canto-de Cetina T, Polanco-Reyes L, Fernández-González V, Ruiz-García S. Infección por *Chlamydia trachomatis* en usuarias de dos clínicas de planificación familiar. *Salud Publica Mex*. 2003; 45(5):657-61.
36. Cárcamo CP, Campos PE, García PJ, Hughes JP, Garnett GP, Holmes KK. Prevalences of sexually transmitted infections in young adults and female sex workers in Peru: a national population-based survey. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12(10):765-73.
37. Centers for Disease Control and Prevention. Guiderlines for treatment of sexually transmitted disease. *Morbidity and Mortaly Weekly reports* 1998; 42:1-102.
38. Center for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. 2007.
39. Center for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2010. Atlanta, USA. 2010.
40. Center for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. 2011.
41. Centers for Disease Control and Prevention. CDC Grand Rounds: Chlamydia prevention: challenges and strategies for reducing disease burden and sequelae. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60(12):370-3.
42. Center for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2011. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. 2012.
43. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2012. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services. 2014.
44. Chacko MR, Wiemann CM, Kozinetz CA, Diclemente RJ, Smith PB, Velásquez MM. New sexual partners and readiness to seek screening for chlamydia and gonorrhea: predictors among minority young women. *Sex Transm Infect*. 2006; 82:75-9.
45. Chen XS, Yin YP, Liang GJ, Gong XD, Li SA, Poumerol G, Thuy N, Shi MQ, Yu YH. Sexually transmitted infections among female sex workers in Yunnan, China. *AIDS Patient Care STDs*. 2005; 19:853-60.
46. Claeys P, González C, González M, L Van Renterghem, Temmerman M. Prevalencia y factores de riesgo de las infecciones de transmisión sexual y el cáncer cervicouterino en las clínicas de salud de la mujer en Nicaragua. *Sex Transm Infect*. 2002;78(3):204-7.

47. Claman P, Toye B, Peeling RW, Jessamine O, Belcher J. Serologic evidence of *Chlamydia trachomatis* infection and risk of preterm birth. *CMAJ*. 1995; 153(3):259-62.
43. Clyde WA, Kenny GE, Schachter J. Laboratory Diagnosis of Chlamydia and Mycoplasmal Infections. Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology (CUMITECH) ASM Press, Washington D.C., USA. 1984.
44. Cohen DA, Farley TA, Mason K, Ridgeway G. The collectivity of sexual behavior. *Int. J STD AIDS*. 2006; 17:151-6.
45. Collier LH. Chlamydia. In: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and Immunity. 8th. Edition. Published Edward Arnold, London, 1990, p. 629-46.
46. Conejero C, Cannoni G, Merino PM, Bollmann J, Hidalgo C, Castro M, Schulm-Zeuthen C. Experiencia con un método de autotoma de muestra vaginal para la detección de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en mujeres jóvenes. *Rev chil infectol*. 2013; 30(5):489-93.
47. Cook RL, St George K, Lassak M, Tran N, Anhalat JP, Rinaldo CR. Screening for *Chlamydia trachomatis* infection in college women with a polymerase chain reaction assay. *Clin Infect Dis*. 1999; 28(5):1002-7.
48. Corbeto E, Lugo R, Martró E, Falguera G, Ros R, Avecilla A, Coll C, Saludes V, Casabona J. Prevalencia de la infección por *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* y determinantes para su adquisición en jóvenes y adultos-jóvenes en Cataluña. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29(2):96-101.
49. Cordero Ruiz DM, Silva García K, Fuste Pedroso W, Rey Sánchez ML, Visconti Marin C. Síndrome de flujo vaginal: ¿Un problema de salud? *Rev Ciencias.com. Argentina: Edit. Científica*; 2007.
50. Corrales H, Nieves B, Sánchez K, Vegas L, Santos M. Infección por *Chlamydia trachomatis* en embarazadas con complicaciones obstétricas. *Rev Fac Farm Univ Cent Venez*. 2003; 45(2):27-31.
51. Corsaro D, Greub G. Pathogenic potential of novel *Chlamydiae* and diagnostic approaches to infections due to these obligate intracellular bacteria. *Clin Microbiol Rev*. 2006; 19(2):283-97.
52. Corsello S, Spinillo A, Osnengo G, Penna C, Guaschino S, Beltrame A, Blasi N, Festa A. An epidemiological survey of vulvovaginal candidiasis in Italy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003; 110:66-72.
53. Costa J. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) a tiempo real. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22(5):299-305.

54. Costamagna SR, Prado Figueroa M. Validación del examen en fresco, coloraciones de May Grunwald-Giemsa y Gram y medios de cultivo para el diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. *Parasitol día*. 2001; 25(1-2):60-4.
55. Crespo Suri M, Triana Casado I, Fernández Karell E, Cabrera Cantelar N. Caracterización de la vaginosis bacteriana en mujeres haitianas. *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 2012; 38(4):538-48. .
56. Cuffini C, Bottiglieri M, Kiguen X, Alonso CE, Valdes Deimundo R, Isa MB, Cannistraci R, Gonzalez S, Farinati A. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic adolescent-young people. *J Microbiol Research*. 2012; 2(4):114-7.
57. Dal Conte I, Mistrangelo M, Cariti C, Chiriotto M, Lucchini A, Vigna M, Morino M, Di Perri G. Lymphogranuloma venereum: an old, forgotten re-emerging systemic disease. *Panminerva Med*. 2014. [Epub ahead of print].
58. Datta SD, Sternberg, M, Johnson R, Papp J, Maquillan G. Prevalence of chlamydia and gonorrhea in the United States among persons aged 14-39 years, 1999-2000. Program and abstracts of the 15th Annual Meeting of the International Society of Sexually Transmitted Disease Research; 2003 July 27-30; Ottawa, Ontario, Canada. Abstract 349.
59. De Haro-Cruz MJ, Deleón-Rodríguez I, Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Ortiz-Ibarra FJ, Guerra-Infante FM. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011; 29(2):102-8.
60. de Lima Freitas NS, Borborema-Santos CM, Barroso Serrao das Neves D, Costa de Olivera CM, Dutra Ferreira JR, Astolfi-Filho S. High prevalence detection of *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction in endocervical samples of infertile women attending University Hospital in Manaus-Amazonas, Brazil. *Gynecol Obstet Invest*. 2011; 72(4):220-6.
61. De Sousa A, Mata G, Camejo MI. Citología cervical de trabajadoras sexuales y mujeres del servicio de planificación familiar de la Unidad Sanitaria de Los Teques. *Rev Obstet Ginecol Venez*. 2007; 67(4):238-45.
62. del Campillo MC, Martínez Fernández AR. Problemas de nomenclatura en parasitología. *Panace@*. 2001; 2(6):94-7.
63. Deluca GD, Alonso JM, Marín HM, Schelover E, Vicente L. Epidemiología molecular de *Chlamydia trachomatis* en las provincias de Chaco y Corrientes. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas 2005, Universidad Nacional del Nordeste, Resumen: M-016.

64. Deluca GD, Marin HM, Schelover E, Chamorro EM, Vicente L, Albhom M, Alonso JM. Infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Papilomavirus* en mujeres con alteraciones citohistológicas de cuello uterino. *MEDICINA (B Aires, en línea)*. 2006; 66: 303-6.
65. Demaio J, Boyd RS, Rensi R, Clark A. False-positive Chlamydiazyme results during urine sediment analysis due to bacterial urinary tract infections. *J Clin Microbiol*. 1991; 29:1436-8.
66. Di Bartolomeo S, Mirta DH, Janer M, Rodríguez Fermepin M, Sauka D, Magariños F, de Torres RA. Incidence of *Chlamydia trachomatis* and other potential pathogens in neonatal conjunctivitis. *Int J Infect Dis*. 2001;5:139-43.
67. Di Bartolomeo S, Offner G, Ojeda M, Valle S, Leonino A, de Torres RA. Balance del Contenido Vaginal: (BACOVA) valor de la expresión numérica en el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana (VB). *Obstet Ginecol Latinoam*. 2002; 60:175-83.
68. Di Bartolomeo S, Rodríguez Fermepin M, Sauka D, de Torres RA. Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina. *Rev Saúde Pública*. 2002; 36(5):545-52.
69. Di Bartolomeo S, Higa M, Janer M, Pennisi A, Balbin G, Priore G. Conjuntivitis neonatal en un hospital de Gran Buenos Aires. Situación de los últimos 5 años. *Rev Argent Microbiol*. 2005; 37:139-41.
70. Di Bartolomeo S, Leonino A, Rodríguez Fermepin M, de Torres RA. Balance del contenido vaginal en el diagnóstico diferencial de vaginosis-vaginitis. Reacción inflamatoria vaginal en embarazadas sintomáticas. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2007; 41(2):247-58.
71. Di Bartolomeo S, Montenegro G, Zapata A, Domínguez P, Leonino P, Rodríguez Femepin M. Ecología de la infección por *Chlamydia trachomatis* en el ámbito del Hospital Nacional Prof. Dr. A. Posadas, 2006-2007. V Taller Internacional de Infecciones por *Chlamydia* en Humanos y Animales. Buenos Aires. 2008.
72. Di Bartolomeo S, Entrocassi AC, Gallo Vaulet ML, Montenegro G, Rodríguez Fermepin M. Elevada frecuencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres jóvenes y adolescentes. *Rev Soc Arg Ginecol Inf Juv*. 2011; 18(2).
73. Ding A, Challenor R. Rectal *Chlamydia* in heterosexual women: more questions than answers. *Int J STD AIDS*. 2013; 25(8):587-92.
74. Donders GG, Vereeken A, Bosman E, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG*. 2002; 109(1):34-43.
75. Dorantes Peña HG, Uribe Salas FJ, García Cisneros S, Olamendi Portugal ML, Conde González CJ, Sánchez Alemán MA. Prevalencia y factores asociados a las

- infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en estudiantes de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos. *Enf Inf Microbiol.* 2011; 31(2):46-51.
76. dos Ramos Farías MS, Garcia MN, Reynaga E, Romero M, Gallo Vaulet ML, Fermepin MR, Toscano MF, Rey J, Marone R, Squiquera L, González JV, Basiletti J, Picconi MA, Pando MA, Avila MM. First report on sexually transmitted infections among trans (male to female transvestites, transsexuals, or transgender) and male sex workers in Argentina: high HIV, HPV, HBV, and syphilis prevalence. *Int J Infect Dis.* 2011; 15(9):635-40.
77. Duarte C, Soilán AM. Detección de *Chlamydia trachomatis*, esporos micóticos y *Trichomonas vaginalis* en mujeres en edad fértil que acuden a los Hospitales San Pablo y Regional de San Lorenzo. *Rev Nac (Itauguá).* 2011;3(2):36-42.
78. Engel MA. Controles Ginecológicos. Una herramienta fundamental para la prevención. Portal Salud, Hospital Alemán, Servicio de Ginecología. 2013. Disp <http://www.hospitalaleman.org.ar/mujeres>
79. Entrocassi AC, Lerea MA, Domínguez VL, Sauka DH, Scigliano PM, Livellara B, Famiglietti AR, Casco R, Rodríguez Fermepin M. Perfil de riesgos para infecciones genitales en estudiantes universitarios. *Rev enferm infecc emergentes.* 2005; 3(1):13-17 (versión electrónica).
80. Esquivel CA, Briones Ezcarzaga ML, Castruita Limones DE, Lazalde Ramos BP, Salas EV, Gutierrez AA, Medrano JC, Castellanos S. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in registered female sex workers in northern Mexico. *SexTransm Dis.* 2003; 30(3):195-8.
81. Essig A, Heinemann M, Simnacher U, Marre R. Infection of *Acanthamoeba castellanii* by *Chlamydia pneumoniae*. *Appl Environ Microbiol.* 1997; 63:1396-9.
82. European Centre for Disease Prevention and Control. Review of Chlamydia control activities in EU countries. Technical report, Stockholm: ECDC; 2008.
83. European Centre for Disease Prevention and Control. Sexually transmitted infections in Europe 2011. Stockholm: ECDC; 2013.
84. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report 2013. Reporting on 2011 surveillance data and 2012 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2013.
85. Everett KDE. *Chlamydia* and *Chlamydiales*: more than meets the eye. *Vet Microbiol.* 2000; 75:109-26.
86. Everett KDE, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family

- Chlamydiaceae*, including a new genus and five species, and standards for the identification of organisms. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49:415-40.
87. Farinati A, Zitto T, Botiglieri M, Gastaldello R, Cuffini C, Cannistraci R, Gonzalez S, Tossoroni D, Isa MB, Pavan J, Lopez H. Infecciones asintomáticas por *Chlamydia trachomatis*: un problema controlable en la población adolescente. *Rev Panam Infectol.* 2008; 10(1):8-12.
88. Feldblum PJ, Hatzell T, Van Damme K, Nasution M, Rasamindrakotroka A, Grey TW. Results of a randomised trial of male condom promotion among Madagascar sex workers. *Sex Transm Infect.* 2005; 81(2):166-73.
89. Fermepin MR, Entrocassi AC, Sauka DH, Vaulet ML, Corominas AL. *Chlamydia trachomatis* serovars in Buenos Aires, Argentina: predominance of serovar E in ophthalmia neonatorum. *Sex Transm Dis.* 2007; 34:1041.
90. Fernandes AM, Daher G, Nuzzi RX, Petta CA. Infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* em mulheres atendidas em serviço de planejamento familiar. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2009; 31(5):235-40.
91. Fidel PL, Barousse M, Espinosa T, Ficarra M, Sturtevant J, Martin DH, Quayle AJ, Dunlap K. An intravaginal live *Candida* challenge in humans leads to new hypothesis for the immuno-pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. *Infect Immun.* 2004; 72:2939-46.
92. Flores-Escamilla R, Martinez-Villarreal RT, Llica-Diaz JM. Prevalencia de vaginosis bacteriana en una clínica universitaria. *Rev Salud Pub y Nutricion.* 2003; 4(1). Disp <http://www.respyn.uanl.mx/iv/1/articulos/vaginosis.html>
93. Fonck K, Kaul R, Keli F, Bwayo JJ, Nququi EN, Moses S, Temmerman M. Sexually transmitted infections and vaginal douching in a population of female sex workers in Nairobi, Kenya. *Sex Transm Infect.* 2001; 77:271-5.
94. Fosch S, Fogolín N, Azzaroni E, Pairetti L, D'Ana H, Minacordi H, Tita I, Redona M, Gribaudo G. Vulvovaginitis: correlación con factores predisponentes, aspectos clínicos y estudios microbiológicos. *Rev Argent Microbiol.* 2006; 38:202-5.
95. Fosch SE, Yones C, Trossero M, Grosso O. Influencia del método anticonceptivo en el perfil de la función vaginal en un microambiente social. *Acta bioquím clín latinoam.* 2011; 45(4):763-72 .
96. Fritsche TR, Gautom RK, Seyedirashti S, Bergeron DI, Linnquist TD. Occurrence of bacterial endosymbionts in *Acanthamoeba* spp. isolated from corneal and environmental specimens and contact lenses. *J Clin Microbiol.* 1993; 31:1122-6.
97. Fritsche TR, Horn M, Wagner M, Herwig RP, Schleifer K-H, Gautom RK. Phylogenetic diversity among geographically dispersed *Chlamydiales* endosymbionts recovered

- from clinical and environmental *Acanthamoeba* spp. *Appl Environ Microbiol.* 2000; 66(6):2613-9.
- 98.** Frontela Noda M, Rodríguez Marín Y, Verdejas Varela OL, Valdés Martínez FJ. Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres cubanas en edad reproductiva. *Rev Cubana Endocrinol.* 2006;17(2).
- 99.** Fukushi H, Hirai K. Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. For *Chlamydia* strains derived from ruminants. *Int J Syst Bacteriol.* 1992; 42:306-8.
- 100.** Gallo Vaulet ML, Entrocassi AC, Perazzi B, Famiglietti AMR; Rodríguez Fermepin M. Ecología de la infección genital por *Chlamydia trachomatis* en pacientes que demandan atención en el Hospital de Clínicas "José de San Martín. V Taller Internacional de Infecciones por Chlamydia en Humanos y Animales. Buenos Aires. 2008.
- 101.** Gallo Vaulet L, Entrocassi C, Corominas AI, Rodríguez Fermepin M. Distribution study of *Chlamydia trachomatis* genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires, Argentina: association between genotype E and neonatal conjunctivitis. *BMC Res Notes.* 2010; 3:34.
- 102.** Gao X, Chen XS, Yin YP, Zong MY, Shi MQ, Wei WH, Chen Q, Peeling RW, Mabey D. Distribution study of *Chlamydia trachomatis* serovars among high-risk women in China performed using PCR-Restriction fragment length polymorphism genotyping. *J Clin Microbiol* 2007; 45:1185-89.
- 103.** García Heredia M, García SD, Copolillo EF, Cora Eliseth M, Barata AD, Vay CA, de Torres RA, Tiraboschi N, Famiglietti AMR. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas: Identificación de levaduras y sensibilidad a los antifúngicos. *Rev argent microbiol.* 2006; 38(1):9-12.
- 104.** García Z, Araúz P, Taylor L, Moraga M, Herrera G. Infección por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de alto riesgo, trabajadoras del sexo en Costa Rica. *Rev costarric cienc méd.* 2005; 26(3-4):15-29.
- 105.** Geisler WM, Wang C, Morrison SG, Black CM, Bandea CI, Hook EW 3rd. The natural history of untreated *Chlamydia trachomatis* infection in the interval between screening and returning for treatment. *Sex Transm Dis.* 2008;35:119–23
- 106.** Gertiser ML, Giagante E, Sgattoni E, Basabe N, Rivero F, Lujan H, Occhionero M, Paniccia L, Visciarelli E, Costamagna SR. Queratitis por *Acanthamoeba* sp.: primer caso confirmado por aislamiento y tipificación molecular, en Bahía Blanca, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Rev argent microbiol.* 2010; 42(2):122-5.

107. Ghosh A, Dhawan B, Chaudhry R, Vajpayee M, Sreenivas V. Genital mycoplasma & *Chlamydia trachomatis* infections in treatment naïve HIV-1 infected adults. *Indian J Med Res.* 2011; 134(6):960-6.
108. Gómez W, Damaso B, Cortegana C, Lahura P, Motta J. Comportamientos sociales y sexuales asociados a las infecciones de transmisión sexual en jóvenes del Alto Huallaga. *An Fac med.* 2008; 69:17-21.
109. Gottlieb B. Meningoencefalitis amebiana primaria, En: A. Atías, ed. Parasitología clínica. 3ª ed. 1991. Publicaciones Técnicas Mediterráneo, Santiago, Chile, p. 287-90.
110. Grayston JT, Kuo C-C, Campbell L A, Wang S-P. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. fo *Chlamydia* sp. strain TWAR. *Int J Syst Bacteriol.* 1989; 39:88-90.
111. Guía práctica integral (clínica-laboratorio) de diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. *Fasgo ciencia informa.* 2008; 71(1):43-51.
112. Guía práctica integral (clínica-laboratorio) de diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. Actualización 2010. *Opciones en Ginecología y Obstetricia,* 2009; 10(3):109-127. Guía práctica integral (clínica-laboratorio) de diagnóstico de vaginosis-vaginitis en la atención primaria de la mujer en edad fértil. Actualización 2010. *Acta Bioquim Clin Latinoam.* 2010; 44(3):359-69.
113. Gupta K, Hillier SL, Hooton TM, Roberts PL, Stamm WE. Effects of contraceptive method on the vaginal microbial flora: a prospective evaluation. *J Infect Dis.* 2000; 181:595-601.
114. Gutierrez JP, Molina Yépez D, Bertozzi S. Uso inconsistente del condón entre trabajadoras sexuales en Ecuador: resultados de una encuesta de comportamientos. *Salud Pública Méx.* 2006; 48(2):104-12.
115. Harcourt C, Donovan B. The many faces of sex work. *Sex Transm Infect.* 2005; 81(3):201-6.
116. Harijaona V, Ramambason JD, Morisset R, Rasamindrakotroka A, Ravaoarinoro M. Prevalence of and risk factors for sexually transmitted infections in hidden female sex workers. *Med Mal Infect.* 2009; 39:909-13.
117. Harkins AL, Munson E. Molecular diagnosis of sexually transmitted *Chlamydia trachomatis* in the United States. *ISRN Obstet Gynecol.* 2011; Article ID 279149, 17 pages.
118. Hay S, Hay P, Oakeshott P. Feasibility of recruiting in a student bar for a trial of chlamydia screening in young women. *Fam Pract.* 2004; 21(2):223-4.
119. Holzman C, Leventhal J, Qui H, Jones NM, Wang J, BV Study Group. Factors linked to bacterial vaginosis in non pregnant women. *Am J Public Health.* 2001; 91:1664-70.

120. Hernández S, Nesvara I, Torres C, Pereda C, Hernández E. Incidencia de ETS y factores sociales en las trabajadoras sexuales en control sanitario en el Consultorio N°1. *Rev Chil Salud Pública*. 2006; 10(2):79-84
121. Horn M, Wagner M, Muller KD, Schid EN, Fritche TR, Chleifer KH, Michel R. *Neochlamydia hartmannellae* gen. nov., sp. nov. (*Parachlamydiaceae*), an endoparasite of the amoeba *Hartmannella vermiformis*. *Microbiology*. 2000; 146:1231-9.
122. Huneeus A, Pumarino MG, Schilling A, Robledo P, Bofil M. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en adolescentes chilenas. *Rev méd Chile*. 2009; 137(12):1569-74.
123. Infante Tavío NI, Mendo Alcolea N, Hernández Lin T, Cala Calviño L, Samón Rodríguez E. Factores de riesgo asociados a la infección vaginal por *Chlamydia trachomatis*. *MEDISAN*. 2012; 16(5):686-93.
124. International AIDS Society-USA. Perspective HIV and Sexually Transmitted Diseases: Lethal Synergy. *Top HIV Med*. 2004; 12:104-7.
125. Jacobson DL, Peralta L, Farmer M, Graham NM, Gaydos C, Zenilman J. Relationship of hormonal contraception and cervical ectopy as measured by computerized planimetry to chlamydial infection in adolescents. *Sex Transm Dis*. 2000; 27:313-19.
126. James AB, Simpson TY, Chamberlain WA. *Chlamydia* prevalence among college students: reproductive and public health implications. *Sex Transm Dis*. 2008; 35(6):529-32.
127. Jaquier A, Stylianopoulos A, Hogg S, Grover S. Vulvovaginitis: clinical features, aetiology, and microbiology of the genital tract. *Arch Dis Child*. 1999; 81:64-7.
128. Jiménez PTA, Trujillo OLE, Roblero OSR, Domínguez LRA, Montoya MS. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en mujeres usuarias de un hospital general de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. *Enf Infec Microbiol*. 2001; 21(4):123-5.
129. Joffe GP, Foxman B, Schmidt AL, Farris KB, Carter RJ, Neumann S, Tolo KA, Walters AM. Multiple partners and choice as risk factors for sexually transmitted disease among female college students. *Sex Transm Dis*. 1992; 19:272-8.
130. Juliano D. El trabajo sexual en la mira. Polémicas y estereotipos. Cad. Pagu nº 25. Campinas. 2005
131. Kahane S, Dvoskin B, Lustig G, Dilbeck P, Friedman M G. Partial characterization of *Simkania negevensis* isolates and comparison with *Chlamydiales* type strains. Proceedings of the Fourth Meeting of the European Society for Chlamydia Research. Helsinki, Finland, 20-23 Agosto 2000.

- 132.** Kahane S, Greenberg D, Friedman M G, Haikin H, Dagan R. High prevalence of "Simkania Z", a novel *Chlamydia*-like bacterium, in infants with acute bronchiolitis. *J Infect Dis.* 1998; 177:1425-9.
- 133.** Kaydos SC, Swygard H, Wise SL, Sena AC, Leone PA, Miller WC, Cohen MS, Hobbs MM. Development and validation of a PCR based enzyme-linked immunosorbent assay with urine for use in clinical research settings to detect *Trichomonas vaginalis* in women. *J Clin Microbiol.* 2002; 40(1):89-95.
- 134.** Kocan KM, Crawford TB, Dilbeck PM, Evermann JF, McGuire TC. Development of a rickettsia isolated from an aborted bovine fetus. *J Bacteriol.* 1990; 172: 5949-55.
- 135.** Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, Markowitz LE. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex Transm Dis.* 2007; 34(11):864-9.
- 136.** Krogstad D J, Visvesvara G S, Walls K W, Smith J W. Blood and tissue protozoa. En: A Ballows, W J Hausler, K L Herrmann, H D Isenberg, H J Shadomy, eds., *Manual of Clinical Microbiology.* 5^a ed. American Society for Microbiology, Washington DC, 1991, p. 727-50.
- 137.** Kucinskiene V, Sutaite I, Valiukeviciene S, Milauskiene Z, Domeika M. *Prevalence and risk factors of genital Chlamydia trachomatis* infection. *Medicina (Kaunas).* 2006; 42(11):885-94.
- 138.** Laffita Batista A, Toledo Borges M. Trichomoniasis. *Rev Panam Infectol.* 2005; 7(2):33-38.
- 139.** Lan J; Walboomers JMM; Roosendaal R, van Doornum GJ, MacLaren DM, Meijer CJ, van den Brule AJ. Direct detection and genotyping of *Chlamydia trachomatis* in cervical scrapes by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol.* 1993; 31:1060-5.
- 140.** Lanzafame P, Cauci S. A modified Nugent score has a very high sensitivity for bacterial vaginosis. BV 2000. Third international Meeting on Bacterial Vaginosis, 2000, p.9, Ystad, Sweden.
- 141.** Lassey AT, Adanu KR, Newman MJ, Opintah JA. Potential pathogens in the lower genital tract at manual vacuum aspiration for incomplete abortion in Korle Bu Teaching Hospital, Ghana. *East Afr MedJ.* 2004; 81(8):398-401.
- 142.** Lau CY, Qureshi AK. Azithromycin versus doxycycline for genital chlamydial infections: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Sex Transm Dis.* 2002;29:497-502.

143. Lee G, Park J, Kim B, Yoo CK, Seong WK. OmpA genotyping of *Chlamydia trachomatis* from Korean female sex workers. *J Infect.* 2006; 52:451-4.
144. Lee J, Jung SY, Kwon DS, Jung M, Park BJ. Condom use and prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* among the Korean female sex workers. *Epidemiol Health.* 2010; 32:e2010008.
145. Lee V , Tobin JM , Foley E. Relationship of cervical ectopy to chlamydia infection in young women. *J Fam Plann Care Reproductive Health.* 2006, 32(2):104-6.
146. Levine W, Revollo R, Kaune V, Vega J, Tinajeros F, Garnica M, Estenssoro M, Lewis JS, Higuera G, Zurita R, Wright-De Agüero L, Pareja R, Miranda P, Ransom RL, Zaidi AA, Melgar ML, Kuritsky JN. Decline in sexually transmitted disease prevalence in female Bolivian sex workers: impact of an HIV prevention project. *AIDS.* 1998; 12:1899-906.
147. Lieberman D, Kahane S, Lieberman D, Friedman M G. Pneumonia with serological evidence of acute infection with the Chlamydia-like microorganism "Z". *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156:578-82.
148. Lillo EG, Lizama SI, Medel JC, Martínez TMA. Diagnóstico de vaginosis bacteriana en un consultorio de planificación familiar de la Región Metropolitana, Chile. *Rev chil infectol.* 2010; 27(3):199-203.
149. Low N, Bender N, Nartey L, Shang A, Stephenson JM. Effectiveness of chlamydia screening: systematic review. *Int J Epidemiol.* 2009;38:435-48.
150. Machado Junior LC, Whitaker Dalmaso AS, Barbosa de Carvalho H. Evidence for benefits from treating cervical ectopy: literature review. *Sao Paulo Med J.* 2008; 126(2):132-9.
151. Machado AC, Bandea CI, Alves MF, Joseph K, Igietseme J, Miranda AE, Guimarães EM, Turchi MD, Negro CM. Distribution of *Chlamydia trachomatis* genovars among youths and adults in Brazil. *J Med Microbiol.* 2011; 60:472-6.
152. Machado MS, Costa e Silva BF, Gomes IL, Santana IU, Grassi MF. Prevalence of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents from Salvador, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2012; 16:188-91.
153. Maciques Rodríguez I, Alonso Castellanos M. Diagnóstico y síntomas clínicos de la trichomoniasis vaginal. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 2002;28(2):93-9.
154. Madden T, Grentzer JM, Secura GM, Allsworth JE, Peipert JF. Risk of bacterial vaginosis in users of the intrauterine device: a longitudinal study. *Sex Transm Dis.* 2012;39(3):217-22.
155. Madhivanan P, Krupp K, Chandrasekaran V, Karat C, Arun A, Cohen CR, Reingold AL, Klausner JD. Prevalence and correlates of bacterial vaginosis among young

- women of reproductive age in Mysore, India. *Indian J Med Microbiol.* 2008; 26(2):132-7.
- 156.** Mak RP, Van Renterghem L, Traen A. *Chlamydia trachomatis* in female sex workers in Belgium: 1998-2003. *Sex Transm Infect.* 2005; 81:89-90.
- 157.** Manual de procedimientos Balance del Contenido Vaginal. BACOVA.2010. www.fba.org.ar PROSAR consensos. Actualización 2011 virtual. www.fba.org.ar PROSAR.
- 158.** Malhotra M, Sood S, Mukherjee A, Muralidhar S, Bala M. Genital *Chlamydia trachomatis*: An update. *Indian J Med Res.* 2013; 138(3):303-16.
- 159.** Marazzo JM. A (persistent/tly) enigmatic ecological mistery: bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2006, 193(11):1475-7.
- 160.** Mardh PA. Influence of infection with *Chlamydia trachomatis* on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2002; 16:847-64.
- 161.** Margariti PA, Astorri AL, Mastromarino C, Morace G. Mycotic vulvovaginitis. *Recenti Prog Med.* 1997; 88:479-84.
- 162.** Martínez TMA. Diagnóstico microbiológico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. *Rev chil infectol.* 2001; 18(4):275-84.
- 163.** Martínez TMA, Reid IS, Arias C, Napolitano CR, Sandoval Z, Molina RC. Prevalencia de infección cervical por *Chlamydia trachomatis* en mujeres de la Región Metropolitana. *Rev med Chile.* 2008; 136:1294-300.
- 164.** Martínez TMA. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual (ITS): Parte 1. ITS no virales. *Rev chil infectol.* 2009; 26(6):529-39.
- 165.** Matteelli A, Beltrame A, Carvalho AC, Casalini C, Forleo MA, Gulletta M, El-Hamad I, Pollara C, Tedoldi S, Carasi S, Carosi G. *Chlamydia trachomatis* infection in migrant female sex workers in Italy. *Int J STD AIDS.* 2003;14:591-5.
- 166.** McClelland, R.S., Samgare, I., Hessian, M.H., Lavreys, L., Madaliya, K. and Kiarie, J. Infection with *Trichomonas vaginalis* increases the risk of HIV-I acquisition. *J Infect Dis.* 2007; 195:698-702.
- 167.** McComb DE, Puznlak CI. Micro cell culture method for isolation of *Chlamydia trachomatis*. *Appl Microbiol.* 1974; 28:727-9.
- 168.** Medina R, Rechkemmer A, García-Hjarles M. Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana en pacientes con flujo vaginal anormal en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Rev Med Hered.* 1999;10(4).

169. Ministerio de Salud de la Provincia de Buenos Aires, Área de Prensa, gacetilla 21 de febrero de 2013. Disp <http://www.ms.gba.gov.ar/sitios/prensa/2013/02/21/mas-del-50-por-ciento-de-las-mujeres-se-realizo-un-control-ginecologico-en-los-ultimos-dos-anos/>
170. Moi H. Prevalence of bacterial vaginosis and its association with genital infections, inflammation, and contraceptive methods in women attending sexually transmitted disease and primary health clinics. *Int J STD AIDS*. 1990; 1:86-94.
171. Molina R, Ticera A, Olmedo J, Kiguen X, Cuffini C. Estudio de las infecciones genitourinarias en pacientes con disfunción reproductiva. V Taller Internacional de Infecciones por Chlamydia en Humanos y Animales. Buenos Aires. 2008.
172. Moncada J, Schachter J, Bolan G, Engelman J, Howard L, Mushahwar I, Ridgway G, Mumtaz G, Stamm W, Clark A. (1990). Confirmatory assay increases specificity of the Chlamydiazyme test for *Chlamydia trachomatis* infection of the cervix. *J Clin Microbiol*. 1990; 28:1770-3.
173. Monetti MS, Molina R, Estofan P, Frutos MC, Kiguen AX, Venezuela RF, Paglini G, Cuffini C. Distribution of Chlamydia trachomatis genotypes in infertile patients of Córdoba, Argentina. *IJVMB*. 2013; 2(1):1-6.
174. Morales A, Maritato A. Disfunción vaginal en pacientes del sector privado del gran Buenos Aires, Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina. En: Taller Balance del Contenido Vaginal BACOVA. XIII Jornadas Argentinas de Microbiología, octubre 2008, Rosario, Argentina.
175. Morales GI, Yaneth MC. Candidiasis en mujeres en edad reproductiva que asistieron al hospital Eduardo Arredondo Daza en la ciudad de Valledupar. *Rev Col Microbiol Trop*. 2012; 2(2):13-21.
176. Morán M, Portillo M. Diagnóstico laboratorial de *Chlamydia trachomatis* en pacientes que concurren al Laboratorio Central de Salud Pública. Congreso Paraguayo de Alergia e Inmunología. Paraguay. 2002.
177. Moulder JW. *Chlamydiales*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol 1. Krieg NR, Holt JG, Eds. Williams and Wilkins, Baltimore, USA. 1984.
178. Nansell TR, Riggs MA, Yu KF, Andrews WV, Schwebke JR, Klebanoff MA. The association of psychological stress and bacterial vaginosis in a longitudinal cohort. *Am J Obstet Gynecol*. 2006; 194(2):381-6.
179. Náquira VC. Nomenclatura de las infecciones parasitarias. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2005; 22(2).
180. Ndoye I, Mboup S, De Schryver A, Van Dick E, Moran J, Samb ND, Sakho ML, Thior I, Wade A, Heymann DL, Meheus A. Diagnosis of sexually transmitted infections in female prostitutes in Dakar, Senegal. *Sex Transm Infect*. 1998; 74:112-7.

181. Nelson HD, Helfand M. Screening for chlamydial infection. *Am J Prev Med.* 2001; 20:95-107.
182. Nessa K, Waris SA, Alam A, Huq M, Nahar S, Chawdhury FA, Monira S, Badal MU, Sultana J, Mahmud KF, Das J, Mitra DK, Sultan Z, Hossain N, Rahman M. Sexually transmitted infections among brothel-based sex workers in Bangladesh: High prevalence of asymptomatic infection. *Sex Transm Dis.* 2005; 32:13-19.
183. Nessa K, Waris SA, Sultan Z, Monira S, Hossain M, Nahar S, Rahman H, Alam M, Baatsen P, Rahman M. Epidemiology and etiology of sexually transmitted infection among Hotel-Based Sex Workers in Dhaka, Bangladesh. *J Clin Microbiol.* 2004; 42:618-21.
184. Niccolai L, Hochberg A, Ethier K, Lewis J, Ickovics J. Burden of recurrent *Chlamydia trachomatis* infections in young women. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2007; 161:246-51.
185. Nicholson T, Stephens RS. Chlamydial genomic transcriptional profile for penicillin-induced persistence. In: Schachter J, Christiansen G, Clarke IN, et al., editors. Chlamydial infections. Proceedings of the Tenth International Symposium on Human Chlamydial Infections. International Chlamydia Symposium; San Francisco, Calif: 2002. pp. 611–614.
186. Noda MR, Sánchez IA, Yepe Oliveros S, Kourí V, Capote R, Mallea Sanchez L. Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de exudado endocervical por la reacción en cadena de la polimerasa. *Rev Cub. Endocrinol.* 2002; 13:133-41.
187. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosis bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol.* 1991; 29:297-301.
188. Numanovic F, Hukic M, Gecic M, Nukic M, Delibegovic Z, Pasic S, Cicko E. Bacterial vaginosis presence in sexually active women in Tuzla Canton area. *Bosn J Basic Med Sci.* 2008; 8(4):322-30.
189. Occhionero MR, Gallo Vaulet ML, Paniccia L, Pedersen D, Rossi G, Costamagna SR, Fernández D, Carrica A, Mazzucchini H, Rodríguez Fermepin M. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres de la ciudad de Bahía Blanca. Provincia de Buenos Aires. *Rev Asoc Med Bahía Blanca.* 2007; 17(1):10-14.
190. Occhionero M, Gallo Vaulet ML, Paniccia L, Pedersen D, Rossi G, Mazzucchini H, Entrocassi AC, Rodríguez Fermepin M. Infecciones transmitidas sexualmente y vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales en Bahía Blanca, Argentina. V Taller Internacional de Infecciones por *Chlamydia trachomatis* en Humanos y Animales. Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA. 2008.

191. O'Connell E, Brennan W, Cormican M, Glacken M, O'Donovan D, Vellinga A, Cahill N, Lysaght F, O'Donnell J. *Chlamydia trachomatis* infection and sexual behaviour among female students attending higher education in the Republic of Ireland. *BMC Public Health*. 2009; 9:397.
192. Okoko, F.J. Prevalence of trichomoniasis among women at Effurun Metropolis, Delta State, Nigeria. *Continent J Biol Sci*. 2011; 4(2):45-8.
193. Oliveira Araújo F, Pflieger V, Lang K, Heukelbach J, Miralles I, Fraga F, Queiroz Sousa A, Stoffler-Meilicke M, Ignatius R, Sansigolo Kerr LF, Feldmeier H. Sexually transmitted infections, bacterial vaginosis, and candidiasis in women of reproductive age in rural Northeast Brazil: a population-based study. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 2007; 102(6):751-6.
194. Organización Internacional para las Migraciones (OIM). Migración, prostitución y trata de mujeres dominicanas en la Argentina. Buenos Aires, 2003.
195. Organización Mundial de la Salud/Organización Panamericana de la Salud. Pautas para la vigilancia de las infecciones de transmisión sexual; 1999.
196. Organización Mundial de la Salud. Infecciones de transmisión sexual y otras infecciones del tracto reproductivo: una guía para la práctica básica; 2005.
197. Organización Mundial de la Salud. Resolución WHA59.19: Prevención y control de las infecciones de transmisión sexual, estrategia mundial; 2006.
198. Organización Mundial de la Salud. Estrategia mundial de prevención y control de las infecciones de transmisión sexual: 2006-2015: romper la cadena de transmisión; 2007.
199. Ortiz RC, Ley M, Llorente C, Almanza C. Vaginosis bacteriana en mujeres con leucorrea. *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 2000; 26(2):74-81.
200. Ossewaarde JM, Rieffe M, Rozenberg-Arska M, Ossenkoppele PM, Nawrocki RP, van Loon AM. Development and clinical evaluation of a polymerase chain reaction test for detection of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol*. 1992; 30:2122-8.
201. Ostos Ortiz OL, Sánchez RM. *Chlamydia trachomatis*: avances y perspectivas. *NOVA publ Cient*. 2003;1(1):81-93.
202. Ota KV, Tamari IE, Smieja M, Jamieson F, Jones KE, Towns L, Juzkiw J, Richardson SE. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Gen-Probe Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect*. 2009; 85(3):182-6.
203. Page LA. Proposal for the recognition of two species in the genus *Chlamydia*, Jones, Rake, and Stearns, 1945. *Int J Syst Bacteriol*. 1968; 18:51-66.

- 204.** Pájaro MC, Barberis IL, Godino S, Pascual L, Agüero M. Epidemiology of sexually transmitted diseases in Río Cuarto, Argentina. *Rev Latinoam Microbiol.* 2001; 43(4):157-60.
- 205.** Pando MA, Berini C, Bibini M, Fernández M, Reinaga E, Maulen S, Marone R, Biglione M, Montano SM, Bautista CT, Weissenbacher M, Sanchez JL, Avila MM. Prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among female commercial sex workers in Argentina. *Am J Trop Med Hyg.* 2006; 74:233-8.
- 206.** Pando MA, Reynaga E, Coloccini RS, Rodríguez Fermepín M, Kochel T, Montano SM, Marone R, Avila MM. Prevalencia de la infección por el VIH y de *Treponema pallidum* en mujeres trabajadoras sexuales de Argentina. *Rev Panam Salud Pública.* 2011; 30(4):303-8.
- 207.** Pando MA, Balán IC, Marone R, Dolezal C, Leu C-S, et al. HIV and Other Sexually Transmitted Infections among Men Who Have Sex with Men Recruited by RDS in Buenos Aires, Argentina: High HIV and HPV Infection. *PLoS ONE.* 2012;7(6):e39834. doi:10.1371/journal.pone.0039834.
- 208.** Pantoja M, Campos EA, da Rocha Pitta D, Gabiatti JE, Bahamondes MV, dos Santos Fernández AM. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection among women candidates for in vitro fertilization at a public institution of the State of São Paulo, Brazil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2012; 34(9):425-31.
- 209.** Papadogeorgaki H, Caroni C, Frangouli E, Fletmetakis A, Katsambas A, Hadjivassiliou M. Prevalence of sexually transmitted infections in female sex workers in Athens, Greece - 2005. *Eur J Dermatol.* 2006; 16(6):662-5.
- 210.** Paris M, Gotuzzo E, Goyzueta G, Aramburu J, Caceres CF, Castellano T, Jordan NN, Vermund SH, Hook EW 3rd. Prevalence of gonococcal and chlamydial infections in commercial sex workers in a Peruvian Amazon city. *Sex Transm Dis.* 1999; 26:103-7.
- 211.** Passos AD, Figueiredo JF. Risk factors for sexually transmitted diseases in prostitutes and transvestites in Ribeirão Preto (SP), Brazil. *Rev Panam Salud Publica.* 2004; 16:95-101.
- 212.** Patel SR, Wiese W, Patel SC, Ohl C, Byrd JC, Estrada CA. Systematic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2000; 8:248-57.
- 213.** Paavonen J, Lehtinen M. Chlamydial pelvic inflammatory disease. *Hum Reprod.* 1996; 2(6):519-29
- 214.** Peipert JF. Clinical practice. Genital chlamydial infections. *N Engl J Med.* 2003; 349: 2424-30.

215. Perazzi B, Menghi C, Coppolillo E, Gatta C, Cora Eliseht M, Vay C, Méndez O, Malamud De Raduega H, De Torres R, Famiglietti A. Investigación de *Trichomonas vaginalis* durante el embarazo mediante diferentes metodologías. *Rev Argent Microbiol.* 2007; 39:99-104.
216. Peters RP, Nijsten N, Mutsaers J, Jansen CL, Morré SA, van Leeuwen AP. Screening of oropharynx and anorectum increases prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infection in female STD clinic visitors. *Sex Transm Dis.* 2011; 38(9):783-7.
217. Petrovay F, Balla E, Nemeth I, Gönczöl E. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from the endocervical specimens of high-risk women in Hungary. *J Med Microbiol.* 2009; 58:760-4.
218. Piazzetta RCPS, Carvalho NS, Andrade RP, Piazzetta G, Piazzetta SR, Carneiro R. Prevalência da infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* em mulheres jovens sexualmente ativas em uma cidade do Sul do Brasil. *Rev Bras Ginecol Obstet.* 2011; 33(11): 328-33.
219. Pierpoint T, Thomas B, Judd A, Brugha R, Taylor-Robinson D, Renton A. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in young men in north west London. *Sex Transm Infect.* 2000; 76:273-6.
220. Piippo S, Lenko H, Vuento R. Vulvar symptoms in pediatric and adolescent patients. *Acta Paediatr.* 2000; 89:431-5.
221. Poole DN, Scott McClelland R. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect.* 2013; 89:418-22.
222. Portilla J, Valverde A, Romero S, Suárez M, Aliaga R, Alfaro P, Lucen A. Prevalencia de *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* en gestantes atendidas en el Instituto Materno Perinatal de Lima-Perú, 1997-1998. *Rev peru med exp salud publica.* 1999; 16(1-2):25-7.
223. Powell J, O'Connor C, O'hlarlath M, Saunders J, de Freitas J. *Chlamydia trachomatis* prevalence in men in the mid-west of Ireland. *Sex Transm Infect.* 2004; 80:349-53.
224. Radonjic IV, Dzamic AM, Mitrovic SM, Arsic Arsenijevic VS, Popadic DM, Kranjic Zec IF. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection: The sensitivities and specificities of microscopy, culture and PCR assay. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2006; 126:116-20.
225. Rahman M, Alam A, Nessa K, Hossain A, Nahar S, Datta D, Alam Khan S, Amin Mian R, Albert MJ. Etiology of sexually transmitted infections among street-based female sex workers in Dhaka, Bangladesh. *J Clin Microbiol.* 2000; 38:1244-6.

226. Rani R, Corbitt G, Killough R, Curless E. Is there any role for rapid tests for *Chlamydia trachomatis*? *Int J STD AIDS*. 2002; 13:22-4.
227. Reed BD, Ford K, Wirawan DN. The Bali STD/AIDS study: association between vaginal hygienic practices and STDs among sex workers. *Sex Transm Infect*. 2001; 77:46-52.
228. Reyna Figueroa J, Morales Range V, Ortiz Ibarra FJ, Casanova Román G, Beltrán Zúniga M. Effectiveness of a clinimetric scale for diagnosing vulvovaginal candidosis. *Ginecol Obstet Mex*. 2004; 72: 219-26.
229. Richardson E, Sellors JW, Mackinnon S, Woodcox V, Howard M, Jang D, Karwalajtys T, Chernesky MA. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infections and specimen collection preference among women, using self-collected vaginal swabs in community settings. *Sex Transm Dis*. 2003, 30(12):880-5.
230. Rietmeijer CA, Van Bemmelen R, Judson FN, Douglas JM Jr. Incidence and repeat infection rates of *Chlamydia trachomatis* among male and female patients in an STD clinic: implications for screening and rescreening. *Sex Transm Dis*. 2002; 29:65-72.
231. Riggs M, Klebanoff M, Nansel T, Zhang J, Schwebke J, Andrews W. Longitudinal association between hormonal contraceptives and bacterial vaginosis in women of reproductive age. *Sex Transm Dis*. 2007; 34(12):954-9.
232. Roca B. Infecciones por clamidias. *An Med Interna*. 2007; 24:292-99.
233. Rodríguez-Domínguez M, Sanbonmatsu S, Salinas J, Alonso R, Gutiérrez J, Galán JC. Diagnóstico microbiológico de la infecciones por *Chlamydia* spp. y especies relacionadas. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2014;32(6):380-5.
234. Rodríguez Fermepin, M. Estudio de Tamizaje de Infección Genital por *Chlamydia trachomatis* en Estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica (UBA), análisis de conductas de riesgo y patologías previas. *Cambio XXI, Revista del Centro de Estudiantes de Farmacia y Bioquímica*. 2002; 1:6-9.
235. Rodríguez Fermepin M, Entrocassi AC. *Chlamydiales*. En: Basualdo JA, Coto CE, de Torres RA, editores. *Microbiología Biomédica*, 2da. edición. Buenos Aires, Argentina, Atlante, 2006, p. 509-27.
236. Rodríguez Fermepin M. Curso internacional "Aislamiento de Chlamydias en cultivos celulares, determinación de sensibilidad a antimicrobianos". Córdoba, Argentina, 20-25 de octubre de 2008.
237. Rogstad KE, Bates SM, Partridge S, Kudesia G, Poll R, Osborne M, Dixon S. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* in male undergraduates: a postal survey. *Sex Transm Infect*. 2001, 77:111-3.

- 238.** Rogstad K. Complications in the female and their management. In: Moss T, ed. International handbook of Chlamydia, 3rd ed. Haslemere, UK: Alden Press, 2008, p. 111-21.
- 239.** Romero R, Chaiworapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: a role for genetic epidemiology in the prevention of preterm birth. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 190(6):1509-19.
- 240.** Rurangirwa FR, Dilbeck PM, Crawford TB, McGuire TC, McElwain TF. Analysis of the 16S rRNA gene of microorganism WSU 86-1044 from an aborted bovine foetus reveals that it is a member of the order *Chlamydiales*: proposal of *Waddliaceae* fam. nov., *Waddlia chondrophila* gen. nov., sp. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1999; 49:577-81.
- 241.** Ryu JS, Chung HL, Min DY, Cho YH, Ro YS, Kim SR. Diagnosis of trichomoniasis by polymerase chain reaction. *Yonsei Med.* 1999; 40(1):56-60.
- 242.** Saison F, Mahilum-Tapey L, Michel CE, Buttress ND, Nadala B, Magbanua JP, Harding-Esch EM, Vaillaruel MO, Canong L, Celis RL, Lee HH. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection and performance of Chlamydia rapid tests among low- and high-risk Filipino women in resource-limited settings. *J Clin Microbiol.* 2007; 45:4011-7.
- 243.** Salomón MC, Martínez N, Delgado D, González Arra C, Bittar V, González N. Prevalencia de *Trichomonas vaginalis* en trabajadores sexuales. *MEDICINA (B Aires, en línea).* 2011; 71:429-31.
- 244.** Sánchez RM, Ruiz-Parra AI, Ostos-Ortiz OL. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* detectada por reacción en cadena de la polimerasa en un grupo de mujeres jóvenes sintomáticas y asintomáticas en Bogotá, Colombia. *Rev Colomb Obstet Ginecol.* 2006; 57(3):171-81.
- 245.** Santos C, Teixeira F, Vicente A, Astolfi-Filho S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. *Braz J Infect Dis.* 2003; 7(2):91-5.
- 246.** Sayada C, Denamur E, Orfila J, Catalan F, Elion J. Rapid genotyping of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein by the polymerase chain reaction. *FEMS Microbiol Lett.* 1991; 15:73-8.
- 247.** Schachter J, Osoba AO. Lymphogranuloma venereum. *Br Med Bull.* 1983; 39:151-4.
- 248.** Schachter J. Why we need a program for the control of *Chlamydia trachomatis*. *N Engl J Med.* 1989; 320(12):802-4.
- 249.** Schachter J, Hook WE, Martin DH, Willis W, Fine P, Fuller D, Jordan J, Janda WM, Chernesky M. Confirming positive results of Nucleic Acid amplification tests (NAATs)

- for *Chlamydia trachomatis*: All NAATs are not created equal. *J Clin Microbiol.* 2005; 43:1372-3.
- 250.** Schreiber CA, Meyn LA, Creinin MD, Barnhart KT, Hillier SL. Effects of long-term use of nonoxynol-9 on vaginal flora. *Obstet Gynecol.* 2006; 107(1):136-43.
- 251.** Schwebke JR, Hillier SL, Sobel J, Mac Gregor JA, Sweet RL. Validity of the vaginal Gram stain for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 1996; 88: 573-6.
- 252.** Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.* 2004; 17:794-803.
- 253.** Schwebke JR, Desmond RA, Oh MK. Predictors of bacterial vaginosis in adolescent women who douche. *Sex Transm Dis.* 2004; 31:433-36.
- 254.** Schwebke JR. Abnormal vaginal flora as a biological risk factor for acquisition of HIV infection and sexually transmitted diseases. *J Infect Dis.* 2005; 192:1315-7.
- 255.** Schwebke JR. Trichomoniasis in adolescents: a marker for the lack of a public health response to the epidemic of sexually transmitted diseases in the United States. *J Infect Dis.* 2005; 192:2036-8.
- 256.** Sedlecki K, Markovic M, Rajic G. Risk factors for chlamydia infections of the genital organs in adolescent females [in Serbian]. *Srp Arh Celok Lek.* 2001; 129(7-8):169-74.
- 257.** Sellors JW, Pickard L, Gafni A, Goldsmith CH, Mahony JB, Chernesky MA. Effectiveness and efficiency of selective vs universal screening for chlamydial infection in sexually active young women. *Arch Intern Med.* 1992; 152(9):1837-44.
- 258.** Sewankambo N, Gray RH, Wawer MJ, Paxton L, McNaim D, Wabwire-Mangen F, Serwadda D, Li C, Kiwanuka N, Hillier SL, Rabe L, Gaydos CA, Quinn TC, Konde-Lule J. HIV-1 infection associated with abnormal vaginal flora morphology and bacterial vaginosis. *Lancet.* 1997; 350(9077):546-50.
- 259.** Sheahan SL, Coons SJ, Seabolt JP, Churchill L, Dale T. Sexual behavior, communication, and chlamydial infections among college women. *Health Care Women Int.* 1994, 15(4):275-86.
- 260.** Sherrard J, Donders G, White D, Jensen JS. European (IUSTI/WHO) guideline on the management of vaginal discharge, 2011. *Int J STD AIDS.* 2011;22:421-9.
- 261.** Shoubnikova M, Hellberg D, Nilsson S, Mårdh PA. Contraceptive use in women with bacterial vaginosis. *Contraception.* 1997; 55(6):355-8.
- 262.** Silva LCF, Miranda AE, Batalha RS, Sabino C, Dib ECD, Costa CM, Ramasawmy R, Talhari S. *Chlamydia trachomatis* infection among HIV-infected women attending an AIDS clinic in the city of Manaus, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2012; 16(4):335-8.
- 263.** Silva R, León D, Viscarra T, Ili C, Roa JC, Sánchez R, Guzmán P, Brebi P. Frecuencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la Región de la Araucanía, Chile. *Rev Chilena Infectol.* 2013; 30(6):611-5.

- 264.** Singh V, Salhan S, Das B, Mittal A. Predominance of *Chlamydia trachomatis* serovars associated with urogenital infections in females in New Delhi, India. *J Clin Microbiol.* 2003; 41(6), 2700-2.
- 265.** Sipkin DL, Gillam A, Grady LB. Risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in a California collegiate population. *J Am Coll Health.* 2003; 52(2):65-71.
- 266.** Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica (SINAVE). Boletín Integrado de Vigilancia 2013; 156:68-9.
- 267.** Smith JR, Taylor-Robinson D. Infection due to *Chlamydia trachomatis* in pregnancy and the newborn. *Baillieres Clin Obstet Gynaecol.* 1993; 7(1):237-55.
- 268.** Soares VL, Torres AM, Cavalcante GT, Silva ZP, Hora V, Diedrich T, Silva P, Gomez P, Dacal AR, Freese EM, Feldmeier H. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil: prevalence, morbidity and risk factors. *Trop Med Int Health.* 2003; 8:595-603.
- 269.** Solomon ML, Middleman AB. Abdominal pain, constipation, and tenesmus in an adolescent female: consider *Chlamydia proctitis*. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2013; 26(3):77-9.
- 270.** Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev.* 1991; 4(4):485-502.
- 271.** Stamm WE. *Chlamydia trachomatis* Infections: Progress and Problems. *J Infect Dis.* 1999; 179(2):380-3.
- 272.** Stephens RS, Kalman S, Lammel C, Fan J, Marathe R, Aravind L, Mitchell W, Olinger L, Tatusov RL, Zhao Q, KoononEV, Davis RV. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. *Science.* 1998; 282:638-9.
- 273.** Stock C, Guillén-Grima F, Prüfer-Krämer L, Serrano-Monzo I, Marin-Ferandez B, Aguiaga-Ontoso L, Krämer A. Sexual behaviour and the prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic students in Germany and Spain. *Eur J Epid.* 2001, 17:385-90.
- 274.** Storz J, Page L A. Taxonomy of the *chlamydiae*: reasons for classifying organisms of the genus *Chlamydia* family *Chlamydiaceae*, in a separate order, *Chlamydiales* ord. nov. *Int J Syst Bacteriol.* 1971; 21:332-4.
- 275.** Street J, Whatling E. Healthy Respect and Colleges of Higher education. Edinburgh: Healthy Respect @ NHS Lothian; 2004.
- 276.** Sturm-Ramirez K, Brumblay H, Diop K, Gueye-Ndiaye A, Sankalé JL, Thior I, N'Doye I, Hsieh CC, Mboup S, Kanki PJ. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in high-risk women in Senegal, West Africa. *J Clin Microbiol.* 2000;38:138-45.

- 277.** Sweet R, Minkoff H. Infecciones maternas, infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y enfermedades de transmisión sexual en el embarazo. En: Reece AE y Hobbins JC. 3ª ed. Obstetricia clínica. Buenos Aires: Médica Panamericana, 2010. p. 285-90.
- 278.** Swygard H, Sena AC, Hobbs MM, Cohen NS. Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. *Sex Transm Infect.* 2004; 80:91-5.
- 279.** Tan HH, Chan R. Use of polymerase chain reaction on pooled cervical swabs to detect *Chlamydia trachomatis* infections in female sex workers in Singapore. *Singapore Med J.* 2005; 46(5):215-8.
- 280.** Taylor-Robinson D, Thomas BJ, Osborn MF. Evaluation of enzyme immunoassay (Chlamydiazyme) for detecting *Chlamydia trachomatis* in genital tract specimens. *J Clin Pathol.* 1987; 40:194-9.
- 281.** Thomas BJ, MacLeod EJ, Hay PE, Horner P J, Taylor-Robinson D. Limited value of two widely used enzyme immunoassays for detection of *Chlamydia trachomatis* in women. *Eur J Clin Microbiol.* 1994; 13:651-5.
- 282.** Thuong NV, Long NT, Hung ND, Thanh TT, Tuyet NT, Bao VC, O'Farrell N. Sexually transmitted infections in female sex workers in five border provinces of Vietnam. *Sex Transm Dis.* 2005; 32:550-6.
- 283.** Tibaldi C, Cappello N, Latino MA, Masuelli G, Marini S, Benedetto C. Vaginal and endocervical microorganisms in symptomatic and asymptomatic non-pregnant females: risk factors and rates of occurrence. *Clin Microbiol Infect.* 2009; 15(7):670-9.
- 284.** Tilli M, Orsini A, Alvarez MM, Almuzara M, Gallardo E, Mormandi JO. ¿La presencia del pH normal descarta el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana? *DST J Bras Doenças Sex Transm.* 2005; 17(2):117-20 .
- 285.** Teva I, Bermúdez MP, Buuela-Casal G. Variables sociodemográficas y conductas de riesgo en la infección por el VIH y las enfermedades de transmisión sexual en adolescentes. España, 2007. *Rev Esp Salud Pública.* 2009;83:309-20.
- 286.** Trejo MH, Gonzalez NE, Guerra MR, Cruz MJ, Moreno-Verduzco ER, Lopez-Hurtado M, Guerra-Infante FM. Reporting detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in tissues of neonatal death cases. *J Pediatr (Rio J).* 2014; 90(2):182-9.
- 287.** Trejo Ortiz PM, Moreno Chavez PC, Macías Aguilar M, Valdez Esparza G, Mollinedo Montaña FE, Lugo Balderas LG, Araujo Espino R. Conocimiento y comportamiento sexual en adolescentes. Área Académica Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Zacatecas. *Rev Cubana Enfermer.* 2013; 29:273-80.

- 288.** Uribe-Salas F, Conde-Glez C, Juárez-Figueroa L, Hernández-Castellanos A. Sociodemographic dynamics sexually transmitted infections in female sex workers at the Mexican-Guatemalan border. *Sex Transm Dis.* 2003; 30:266-71.
- 289.** Uribe-Salas F, Hernández-Avila M, Conde-Gonzalez C, Juárez-Figueroa L. Heterogeneidad en la expresión del comercio sexual femenino en la ciudad de México. *Salud pública Méx.* 2007; 49(1):20-6.
- 290.** Vajdic CM, Middleton M, Bowden FJ, Fairley CK, Kaldor JM. The prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* in Australia 1997-2004: a systematic review. *Sex Health.* 2005; 2(3):169-83.
- 291.** Van de Wijert JH, Verwijs MC, Turner AN, Morrison CS. Hormonal contraception decreases bacterial vaginosis but oral contraception may increase candidiasis: Implications for HIV transmission. *AIDS.* 2013; 27(13):2141-53.
- 292.** Venegas G, Boggiano G, Castro E. Prevalencia de vaginosis bacteriana en trabajadoras sexuales chilenas. *Rev Panam Salud Pública.* 2011; 30(1):46-50.
- 293.** Vidal Borrás E, Ugarte Rodríguez CJ. Síndrome de flujo vaginal. *Rev Cubana Obstet Ginecol.* 2010; 36(4):594-602.
- 294.** Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba* spp., *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri*, and *Sappiniadiploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007; 50(1):1-26.
- 295.** Wang B, Li X, Stanton B, Yang H, Fang X, Zhao R, Dong b, Zhou Y, Liu W, Liang S. Vaginal douching, condom use, and sexually transmitted infections among Chinese female sex workers. *Sex Transm Dis.* 2005; 32:696-702.
- 296.** Wang HB, Wang N, Ma JG, Wang GX, Chang DF, Ding GW, Xu JJ, Zhang GL, Dong RL, Zhang L, Wu ZL, Zheng XW. Study on the association between vaginal douching and sexually transmitted diseases among female sex workers in a country of Yunnan province. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2007; 28:558-61.
- 297.** Wang SP, Kuo CC, Barnes RC, Stephens RS, Grayston JT. Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies. *J Infect Dis.* 1985; 152:791-800.
- 298.** Wang Y. Etiology of trachoma: a great success in isolating and cultivating *Chlamydia trachomatis*. *Chin med J (Engl).* 1999; 112(10):938-41.
- 299.** Wendel KA, Erbeding EJ, Gaydos CA. *Trichomonas vaginalis* polymerase chain reaction compared to standard diagnostic and therapeutic tools for detection and treatment of vaginal trichomoniasis. *Clin Infect Dis.* 2002; 35:576–80.
- 300.** Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Sweet RL. Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin Infect Dis.* 2003; 36:663-8.

301. Williams H, Tabrizi SN, Lee W, Kovacs GT, Garland S. Adolescence and other risk factors for *Chlamydia trachomatis* genitourinary infection in women in Melbourne, Australia. *Sex Transm Infect.* 2003; 79:31-4.
302. Wong ML, Lubek I, Dy BC, Pen S, Kros S, Chhit M. Social and behavioral factors associated with condom use among direct sex workers in Siam Rep, Cambodia. *Sex Transm Infect.* 2003; 79:163-5.
303. World Health Organization. Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2012.
304. Wyrick PB. *Chlamydia trachomatis* persistence in vitro: an overview. *J Infect Dis.* 2010; 201(2):88-95.
305. Xueref S, Holianjavony J, Daniel R, Kerouedan D, Fabry J, Vanhems P. The absence of HIV seropositivity contrasts with a high prevalence of markers of sexually transmitted infections among registered female sex workers in Toliary, Madagascar. *Trop Med Int Health.* 2003; 8(1):60-6.
306. Yamazaki T, Hagiwara T, Kishimoto T, Sasaky N, Takahashi S, Ishihara O, Wangroongsarb P, Kusum M, Sirivongrangsarn P. Distribution of *Chlamydia trachomatis* serovars among female prostitutes and non-prostitutes in Thailand, and non-prostitutes in Japan during the mid-90s. *Jpn J Infect Dis.* 2005; 58(4):211-3.
307. Yang B, Zheng HP, Feng ZQ, Xue YH, Wu XZ, Huang JM, Xue XJ, Jiang HN. The prevalence and distribution of *Chlamydia trachomatis* genotypes among sexually transmitted disease clinic patients in Guangzhou, China, 2005-2008. *Jpn J Infect Dis.* 2010; 63(5):342-5.
308. Yen S, Shafer MA, Moncada J, Campbell C, Flinn S, Boyer CH. Bacterial vaginosis in sexually experienced and nonsexually experienced young women entering the military. *Obstet Gynecol.* 2003; 102:927-33.
309. Youder BI, Stamm WE, Koester CM, Alexaner ER. Microtest procedure for isolation of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol.* 1981;13:1036-9.
310. Zachariah R, Speilman MP, Harries AD, Nkhoma W, Chantulo A, Arendt V. Sexually transmitted infections and sexual behavior among commercial sex workers in a rural district of Malawi. *Int J STD AIDS* 2003; 14:185-8.

10. ANEXOS

Anexo 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO I

Título de la investigación

PREVALENCIA DE LA INFECCION POR *Chlamydia trachomatis* EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL.

Objetivo:

Establecer la prevalencia global de la infección por *Chlamydia trachomatis* y determinar la relación con diferentes síndromes como infertilidad, embarazos ectópicos e infecciones oculares y pulmonares en neonatos. Investigar su presencia en mujeres asintomáticas y analizar la distribución de genotipos en función de las variables epidemiológicas consideradas.

Investigador responsable:

Bioquímico Marcelo Occhionero, Profesor Adjunto, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, Cátedra de Microbiología Especial, Laboratorio 32, 3er. Piso, San Juan 670, interno 2429.

Procedimiento a los que será sometido el paciente:

Se tomarán dos muestras, obtenidas por hisopado endocervical, además de las solicitadas por el médico para el diagnóstico o control ginecológico de la paciente. Dichas muestras serán destinadas para un examen microscópico por inmunofluorescencia y estudio por PCR. Junto con la muestra endocervical se tomará una muestra de suero, que se conservará para estudios posteriores de anticuerpos específicos contra *Chlamydia trachomatis*.

- **Posibles riesgos de participar:** Ninguno.
- **Alteraciones terapéuticas:** Ninguna.
- **Posibles beneficios:**
 - ✓ Cubrir la carencia de información existente sobre prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en la ciudad de Bahía Blanca.

- ✓ Conocer la distribución de genotipos en cada una de las poblaciones estudiadas.
 - ✓ Disminuir el riesgo de secuelas en neonatos, evaluando los genotipos presentes y su relación con la transmisión madre e hijo.
 - ✓ Diagnosticar en mujeres asintomáticas la infección por *Chlamydia trachomatis*, relacionándola con infertilidad y embarazos ectópicos.
- **Frente a un problema recurrir a:**
 - Cátedra de Microbiología Especial, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur.
 - Laboratorio Central, Sector Bacteriología, Hospital Municipal de Agudos “Dr. Leónidas Lucero”.
 - **Confidencialidad:** Los datos serán analizados por el grupo de trabajo y no se registrara nombre o apellido de las pacientes.
 - **Exclusiones:** Mujeres menores de 14 años.
 - **Compensación por su participación:** No implica ningún gasto para Ud.
 - **Duración del estudio:** un año, con posibilidad de continuar durante un año más.
 - **Fecha estimada de inicio:** Abril 2006
 - **Fecha estimada de finalización:** Abril 2007

**LA PACIENTE DECLARA HABER COMPRENDIDO LAS INDICACIONES
Y ACEPTA PARTICIPAR EN EL PRESENTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN.**

OTORGO MI CONSENTIMIENTO	
Nombre y Apellido:
Doc. de Identidad.:
Fecha :	/ / .

	Firma

Anexo 2

Encuesta realizada a las mujeres sintomáticas y asintomáticas que concurrieron al Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero", de la ciudad de Bahía Blanca.

MUESTRA N°:

- Apellido y Nombres:
- Domicilio:
 - Permanente
 - Temporario
- Edad: Teléfono:.....
- Estado civil:
- Nacionalidad:
- Pareja estable: SI NO
- N° de hijos:
- N° de parejas sexuales en el último año:
- Método anticonceptivo: SI NO ¿Cuál? :
- Edad de inicio sexual:
- Pérdida de embarazos:
- Infecciones genitales previas: SI NO ¿Cuál? :
- Causa de la consulta:
- Tiempo de evolución de la afección:

 Profesional que realizó
 la encuesta

 Firma

 Fecha

Anexo 3**ORDENANZA Nº 7198**

Título: Creación de la oficina de control sanitario.

Expediente H.C.D.: HCD-208/92.

Modificada por la Ordenanza: 9802

ORDENANZA

Artículo 1º.- Créase en el ámbito de la Municipalidad de Bahía Blanca la Oficina de Control , Promoción y Prevención Sanitaria dependiente de la Secretaría de Salud y Acción Social.

Artículo 2º. La Oficina de Control, Promoción y Prevención Sanitaria tendrá como función elaborar, suministrar y controlar el Documento de Salud Laboral en una primera etapa, como así también en una segunda etapa, y de acuerdo a los resultados obtenidos, elaborará un programa a efectos de poner en marcha el Plan Municipal de Prevención y Promoción de la Salud Laboral, todo bajo la estricta supervisión de la Dirección de Salud Municipal, dependiente de la Secretaría de Salud y Acción Social.

Artículo 3º. El Documento de Salud Laboral reemplazará a 1a actual Libreta Sanitaria, y deberá ser obligatorio y tramitado en forma personal.

Artículo 4º. El reemplazo de la actual Libreta Sanitaria se hará en forma progresiva y comenzará a los noventa (90) días de promulgada la presente ordenanza, pudiendo coexistir por un tiempo ambos documentos hasta que se logre el reemplazo total

Artículo 5º. El Documento de Salud Laboral constará de tres apartados:

General.

Particular y/o especial.

Características Laborales.

a) El apartado general consistirá en un resumen de historia clínica del interesado donde constarán todos sus antecedentes como así también su estado de salud actual, donde también se volcarán los resultados de análisis de laboratorio y estudios complementarios que a tales efectos se realicen y que la autoridad de aplicación de la presente se disponga.

b) El apartado particular y/o especial estará en relación directa con la actividad del portador de dicho documento. Aquí se volcarán los estudios particularizados del acuerdo al tipo de actividad que el titular del documento realice; la característica de los mencionados estudios la dará la autoridad de aplicación una vez que se reglamente la presente ordenanza.

c) El apartado de características laborales, ligado directamente al lugar donde el trabajador se desempeñe, deberá registrar el tipo de establecimiento, las características del mismo, como así también su complejidad y grado de afectación, si lo hubiere, sobre la salud humana.

Artículo 6º. Se considerará autoridad de aplicación de la presente norma a la Dirección de Salud Municipal, dependiente de la Secretaría de Salud y Acción Social de la Municipalidad de Bahía Blanca.

Artículo 7º. El presente documento es de uso personal de cada trabajador, el que tendrá la obligación de portarlo en forma permanente, mientras esté trabajando como así también presentarlo al empleador cuando éste así lo requiriere. Es obligación exhibirlo cuando la autoridad municipal así lo requiera, la no exhibición del mismo será posible de sanción mediante acta labrada al empleador como responsable máximo de la actividad laboral.

Artículo 8º. La actualización se hará de acuerdo a lo que dictaminare el organismo de aplicación y será obligatoria.

Artículo 9º. La falta de cumplimiento de la presente norma será posible de las sanciones previstas por el Código de Faltas Municipales (Decreto Ley 8751/77).

Artículo 10º. El Documento de Salud Laboral será numerado en forma correlativa y será provisto por la Secretaría de Economía y Hacienda Municipal, a los efectos del control de los ingresos que por la tramitación del mismo se generaren. Con respecto al control de la oficina sanitaria, seguidamente del

número de control de Economía, seguirá el número de .D.N.I. del portador, seguido éste de una cifra de dos dígitos que identificará el rubro laboral al que pertenece el titular del documento.

Artículo 11º. Para el cobro de los gastos por el presente documento serán imputados al empleador en la Tasa por Seguridad e Higiene.

Artículo 12º. La Oficina de Control, Prevención y Promoción Sanitaria abonará al Centro de Salud Municipal Dr. Leónidas Lucero todos los gastos por estudios complementarios que genere el Documento de Salud Laboral.

El excedente de lo recaudado será destinado a la creación de una cuenta especial, denominada "Cuenta Especial para el plan municipal de prevención y promoción de la Salud Laboral", a efectos de llevar a cabo el plan que enuncia en el artículo 2º.

Artículo 13º. La Dirección de Salud Municipal, como organismo de aplicación, será la encargada de la reglamentación de la presente ordenanza.

Artículo 14º. La Secretaría de Salud y Acción Social incluirá en el presupuesto anual para el área de la Dirección de Salud Los gastos a imputar, ya sea para la operatividad de la oficina como así también el personal afectado a la misma.

Artículo 15º. Créase la cuenta especial "Cuenta para el Plan Municipal de Prevención y Promoción de la Salud Laboral".

Artículo 16º. Deróguense la ordenanza n° ##316 y toda otra norma que se oponga a la presente.

Artículo 17º De forma.

DADA EN LA SALA DE SESIONES DEL HONORABLE CONCEJO DELIBERANTE DE BAHIA BLANCA, A LOS VEINTIOCHO DIAS DEL MES DE DICIEMBRE DE MIL NOVECIENTOS NOVENTA Y DOS.

Anexo 4**ORDENANZA N° 9802**

Título: Modificación de la ordenanza 7198 en sus artículos 10°- 11° - 12° - 14° y 15°.

Expediente M.B.B.: 610-578/93

Fecha de Sanción: 19 de setiembre de 1997.

Fecha de Promulgación: 30 de setiembre de 1997.

Decreto de Promulgación N° 632/97.

ORDENANZA

Artículo 1° - Modifíquese el Artículo 10° de la Ordenanza 7198 el que quedará redactado de la siguiente manera:

"Artículo 10° - El documento de Salud Laboral será provisto por el Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero" a los efectos del control de los ingresos que por la tramitación del mismo se generaren. En dicho documento deberá colocarse el número y tipo de documento de identidad del portador, seguido de un número de control interno."

Artículo 2° - Modifíquese el Artículo 11° de la Ordenanza 7198, el que quedará redactado de la siguiente manera:

"Artículo 11° - Los gastos que demande el presente documento serán imputados al empleador en la Tasa de Seguridad e Higiene y/o abonados directamente en el Hospital Municipal y/o abonados por convenio en dicho Hospital".

Artículo 3° - Modifíquese el Artículo 12° de la Ordenanza 7198, el que quedará redactado de la siguiente manera:

"Artículo 12° - Los fondos recaudados conforme lo determina el artículo anterior, ingresarán al Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero" y formarán parte de los recursos del mismo, debiendo destinarse parte de dichos

recursos, según lo determine el Consejo de Administración del Hospital Municipal, a programas municipales de promoción y prevención de la Salud".

Artículo 4° - Modifíquese el Artículo 14° de la Ordenanza 7198, el que quedará redactado de la siguiente manera:

"Artículo 14° - La Secretaria de Salud y Acción Social para el área de la Dirección de Salud y el Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero" en el área que corresponda, deberán incluir en el presupuesto anual los gastos a imputar, ya sea para la operatividad de la oficina como así también para el personal afectado".

Artículo 5° - Deróguese el Artículo 15° de la Ordenanza 7198.

Artículo 6° - El Documento de Salud Laboral será obligatorio para toda persona cuya profesión, arte u oficio, mantenga contacto directo o indirecto, con terceros, ya sea por sí o a través de los objetos que elabora o manipula.

Artículo 7° - De forma.

DADA EN LA SALA DE SESIONES DEL HONORABLE CONCEJO DELIBERANTE DE BAHIA BLANCA, A LOS DIECINUEVE DIAS DEL MES DE SETIEMBRE DE MIL NOVECIENTOS NOVENTA Y SIETE.

Anexo 5

Encuesta realizada a las trabajadoras sexuales que concurren a su control sanitario en el Hospital Municipal de Agudos "Dr. Leónidas Lucero", de la ciudad de Bahía Blanca.

- Apellido y Nombres: MUESTRA N°:.....
- Domicilio:
 Permanente Temporario
- Edad: Teléfono:.....
- Estado civil: N° de hijos: Edades:
- Nacionalidad:
- Edad de inicio de relaciones sexuales: ▪ Pérdida de embarazos:
- ¿Desde cuándo trabaja como trabajadora sexual?
- ¿Desde cuándo esta en Bahía Blanca?
- ¿Dónde estuvo antes? ¿Cuánto tiempo?
- ¿Dónde trabaja? ▪ N° de clientes por semana.....
- En la calle
- En local nocturno ▪ N° de parejas estables en el último año:
- Departamento
- Otro (aclarar)
- Método anticonceptivo:
- **USO DE PRESERVATIVO**
- | SIEMPRE
(100%) | MAYORÍA
(75%) | ALGUNAS
(50%) | POCO
(25%) | NUNCA
(0%) |
|-------------------|------------------|------------------|---------------|---------------|
| | | | | |
- **PRACTICA SEXUAL**
- | | SI | NO | MAYOR FRECUENCIA |
|--------------|----|----|------------------|
| Sexo oral | | | |
| Sexo vaginal | | | |
| Sexo anal | | | |
- Infecciones genitales previas: SI NO ¿Cuál?
- Causa de la consulta:
- Tiempo de evolución de la afección:

Profesional que realizó la encuesta

Firma

Fecha

Anexo 6**CONSENTIMIENTO INFORMADO II****Título de la investigación**

PREVALENCIA DE LA INFECCION POR *Chlamydia trachomatis* EN
INGRESANTES UNIVERSITARIOS.

Objetivo

Establecer la prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* y la distribución de genotipos en la población de ingresantes universitarios. Determinar el perfil de riesgo para la adquisición de infecciones transmisibles sexualmente. Desarrollar actividades educativas, y difundir información sobre la prevención de ITS.

Investigador responsable:

Bioquímico Marcelo Occhionero, Profesor Adjunto, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, UNS, Cátedra de Microbiología Especial, Laboratorio 32, 3er. Piso, San Juan 670, interno 2429.

Procedimiento a los que será sometido el participante

Se recibirá una muestra de orina obtenida de la primera micción del día (primera porción de la orina) sin previo aseo genital y por micción espontánea, recolectadas en frascos estériles. Se realizará un estudio del sedimento urinario y posteriormente se procederá a la detección de *C. trachomatis* mediante técnicas de biología molecular.

Posibles riesgos de participar: Ninguno.

Alteraciones terapéuticas: Ninguna.

Posibles beneficios:

Cubrir la carencia de información existente sobre prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en adolescentes y adultos jóvenes, en la ciudad de Bahía Blanca.

Conocer la distribución de genotipos en la población estudiada.

Diagnosticar la infección por *Chlamydia trachomatis* en la población estudiada.

Disminuir el riesgo de infertilidad y embarazos ectópicos.

Frente a un problema recurrir a:

Cátedra de Microbiología Especial, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. Laboratorio 32, 3° piso, San Juan 670, interno 2429.

Confidencialidad:

Los datos serán analizados por el grupo de trabajo y no se registrara nombre o apellido de los participantes.

Exclusiones:

- Mujeres que estén menstruando al momento de la recolección de la muestra.
- Muestra de orina que no sea de la primera fracción.
- Retención urinaria menor a tres horas al momento de recolectar la orina.

Compensación por su participación: No implica ningún gasto para Ud.

Duración del estudio: un año, con posibilidad de continuar durante un año más.

Fecha estimada de inicio: Diciembre 2009

Fecha estimada de finalización: Diciembre 2010

DECLARO HABER COMPRENDIDO LAS INDICACIONES Y ACEPTO PARTICIPAR EN EL PRESENTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN.

OTORGO MI CONSENTIMIENTO	
Nombre y Apellido:
Doc. de Identidad.:
Fecha :	/ / .

	Firma

Anexo 7

Encuesta realizada a los ingresantes universitarios que concurrieron al Departamento de Sanidad de la UNS, para realizar sus análisis y exámenes médicos.

Para poder llevar a cabo este proyecto necesitamos que contestes honestamente algunas preguntas personales que, reiteramos, son estrictamente anónimas.

Por favor, lee la encuesta atentamente y respóndela de la manera más clara posible

En las respuestas subrayadas encerrá en un círculo la respuesta correcta.

SEXO: Varón / Mujer EDAD: años Estado civil:

Carrera a la que ingresa:

¿A qué edad iniciaste tus relaciones sexuales?años

¿Cuántas parejas sexuales has tenido desde ese momento?

1 - 3 4 - 6 7 - 10 Más de 10

¿Cuántas parejas sexuales has tenido este año? (desde el 1º de enero de 2009):
.....parejas

¿Estás en pareja en este momento? SI - NO ¿Desde cuándo? (fecha):.../.../.....

¿Cuándo fue tu última relación sexual? (fecha en mes y año):

En tu última relación sexual mantuviste:

Sexo oral SI / NO Con preservativo SI / NO

Sexo vaginal SI / NO Con preservativo SI / NO

Sexo Anal SI / NO Con preservativo SI / NO

¿Cuándo fue tu última relación sexual con una persona diferente a tu pareja actual? (fecha)

¿Tuviste alguna infección genital? SI / NO ¿Cuál?:

¿Tuviste algún síntoma o molestia genital? SI / NO ¿Cuál?:

¿Cuándo?:.....

¿Estás embarazada en este momento? SI - NO

¿Cuántos embarazos tuviste?

¿Cuántos partos tuviste?

¿Cuándo fue tu última visita al ginecólogo? (fecha):

¿Tuviste relaciones sexuales con una persona de tu mismo sexo? SI – NO

COMENTARIOS, PROPUESTAS, SUGERENCIAS:

¿Tenés alguna dirección de e-mail “anónima” donde quieras recibir información?

.....@.....

Muchas Gracias