

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**FRECUENCIA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN  
SEXUAL EN PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA  
GINECOLÓGICA Y SU CORRELACIÓN CLÍNICA**

**Por:**

**M.C. NÉSTOR GUADALUPE CASILLAS VEGA**

Como requisito parcial para obtener el Grado de DOCTOR EN CIENCIAS  
con especialidad en Microbiología

Febrero, 2016

# ÍNDICE

LISTA DE TABLAS.....	I
LISTA DE FIGURAS.....	IV
ABREVIATURAS.....	V
RESUMEN .....	VII
ABSTRACT .....	VIII
I. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES .....	3
2.1 Infecciones de Transmisión Sexual – ITS.....	4
2.1.1 Complicaciones de las ITS.....	5
2.1.2 Diagnóstico de las ITS.....	6
2.2 Microbiota vaginal.....	8
2.3 <i>Chlamydia trachomatis</i> .....	9
2.4 <i>Treponema pallidum</i> .....	13
2.5 <i>Neisseria gonorrhoeae</i> .....	16
2.6 <i>Mycoplasma genitalium</i> .....	19
2.7 Vaginosis bacteriana .....	20
2.8 Virus del papiloma humano .....	22
2.9 Virus de la inmunodeficiencia humana – VIH .....	27
2.10 Virus de Hepatitis C – VHC .....	32
2.11 Virus del herpes simple 1 y 2 – VHS -1/-2 .....	35
2.12 <i>Trichomonas vaginalis</i> .....	37
3. JUSTIFICACIÓN .....	39
4. OBJETIVOS.....	41
4.1 Objetivo general .....	42
4.2 Objetivos particulares.....	42
5. MATERIAL Y MÉTODOS .....	43
5.1 Estrategia general .....	44
5.2 Comité de ética.....	45
5.3 Consentimiento informado .....	45

5.4 Población de estudio .....	46
5.4.1 Criterios de inclusión.....	46
5.4.2 Criterios de exclusión.....	46
5.4.3 Criterios de rechazo .....	46
5.5 Historia clínica .....	47
5.5.1 Factores socio-demográficos.....	47
5.5.2 Factores de comportamiento.....	47
5.5.3 Factores biológicos .....	47
5.6 Recolección de muestras .....	49
5.10 Detección de bacterias aerobias y hongos.....	50
5.11 Extracción de DNA .....	51
5.12 Detección de <i>C. trachomatis</i> .....	52
5.12.1 Ensayo de inmunofluorescencia directa.....	52
5.12.2 Análisis del gen <i>OmpA de Chlamydia trachomatis</i> .....	52
5.12.3 Genotipificación de <i>C. trachomatis</i> mediante RFLP.....	53
5.13 Detección de <i>T. pallidum</i> .....	55
5.13.1 Ensayo de quimioluminiscencia .....	55
5.14 Detección de VPH.....	56
5.14.1 Análisis del gen <i>L1</i> .....	56
5.14.2 Genotipificación de VPH mediante RFLP.....	56
5.15 Detección de VIH .....	58
5.15.1 Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas.....	58
5.15.2 Western blot.....	58
5.16 Detección de VHC.....	59
5.16.1 Ensayo de inmunocromatografía.....	59
5.17 Detección de 7 patógenos de ITS.....	60
5.17.1 PCR-múltiple .....	60
5.18 Análisis estadístico.....	61
5.18.1 Estadística descriptiva.....	61
5.18.2 Estadística inferencial .....	61
6. RESULTADOS .....	62

6.1 Datos clínicos.....	63
6.1.1 Factores socio-demográficos.....	63
6.1.2 Factores de comportamiento.....	64
6.1.3 Factores biológicos .....	65
6.2 Bacterias aerobias y hongos .....	66
6.3 <i>C. trachomatis</i> .....	67
6.4 <i>T. pallidum</i> .....	75
6.5 <i>N. gonorrhoeae</i> .....	79
6.6 <i>M. genitalium</i> .....	82
6.7 VPH .....	85
6.8 VIH.....	88
6.9 VHC.....	91
6.10 VHS-1.....	95
6.11 VHS-2.....	97
6.12 <i>T. vaginalis</i> .....	100
6.13 Frecuencia de los microorganismos asociados a ITS.....	103
7. DISCUSIÓN .....	104
8. CONCLUSIONES.....	122
9. PERSPECTIVAS.....	124
10. BIBLIOGRAFÍA.....	126
11. RESUMEN BIOGRÁFICO.....	144
12. ANEXOS .....	146
12.1 Anexo A- Manuscritos	

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Pesos moleculares de las bandas de los diferentes genotipos de <i>C. trachomatis</i> .....	54
<b>Tabla 2.</b> Tamaños de los fragmentos obtenidos mediante HpyCH4V de 41 genotipos.....	57
<b>Tabla 3.</b> Primers usados en la PCR Múltiple.....	60
<b>Tabla 4.</b> Frecuencia de los factores socio-demográficos de la población estudiada.....	63
<b>Tabla 5.</b> Frecuencia de los factores de comportamiento de la población estudiada .....	64
<b>Tabla 6.</b> Frecuencia de los factores biológicos de la población estudiada.....	65
<b>Tabla 7.</b> Asociación de <i>C. trachomatis</i> con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	71
<b>Tabla 8.</b> Correlación de los genotipos de <i>C. trachomatis</i> con factores de riesgo en la población estudiada .....	73
<b>Tabla 9.</b> Correlaciones de <i>C. trachomatis</i> con otras ITS en la población estudiada.....	74
<b>Tabla 10.</b> Asociación de <i>T. pallidum</i> detectado por serología con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	76

<b>Tabla 11.</b> Asociación de <i>T. pallidum</i> detectado mediante PCR con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	77
<b>Tabla 12</b> Correlaciones de <i>T. pallidum</i> positivo por serología con otras ITS en la población estudiada.....	78
<b>Tabla 13.</b> Correlaciones de <i>T. pallidum</i> positivo por serología con otras ITS en la población estudiada.....	78
<b>Tabla 14.</b> Asociación de <i>N. gonorrhoeae</i> con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada .....	80
<b>Tabla 15.</b> Correlaciones de <i>N. gonorrhoeae</i> con otras ITS en la población estudiada...	81
<b>Tabla 16.</b> Asociación de <i>M. genitalium</i> con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	83
<b>Tabla 17.</b> Correlaciones de <i>M. genitalium</i> con otras ITS en la población estudiada.....	84
<b>Tabla 18.</b> Frecuencia de los diferentes genotipos de VPH detectados en la población de estudio .....	85
<b>Tabla 19.</b> Asociación de VPH con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	86
<b>Tabla 20.</b> Correlaciones de VPH con otras ITS en la población estudiada.....	87
<b>Tabla 21.</b> Asociación de VIH con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	89

<b>Tabla 22.</b> Correlación de VIH con otras ITS en la población estudiada.....	90
<b>Tabla 23.</b> Asociación de VHC con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada .....	92
<b>Tabla 24.</b> Asociaciones de VHC con otras ITS en la población estudiada.....	93
<b>Tabla 25.</b> Asociación de VHS-1 con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	95
<b>Tabla 26.</b> Asociación de VHS-1 con otras ITS en la población estudiada.....	96
<b>Tabla 27.</b> Asociación de VHS-2 con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	98
<b>Tabla 28.</b> Asociación de VHS-2 con otras ITS en la población estudiada.....	99
<b>Tabla 29.</b> Asociación de <i>T. vaginalis</i> con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.....	101
<b>Tabla 30.</b> Correlación de <i>T. vaginalis</i> con otras ITS en la población estudiada.....	102

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Nuevos casos estimados de ITS curables por regiones.....	5
<b>Figura 2.</b> Prevalencia de los genotipos de VPH por regiones.....	25
<b>Figura 3.</b> Prevalencia de VIH por región.....	30
<b>Figura 4.</b> Incidencia acumulada de los casos de VIH y SIDA en México.....	31
<b>Figura 5.</b> Prevalencia de VHC por país .....	34
<b>Figura 6.</b> Principales microorganismos detectados en el cultivo microbiológico.....	66
<b>Figura 7.</b> IFD de la paciente No.111 en la cual se observa la presencia de un CE de <i>C. trachomatis</i> y la presencia <i>Lactobacillus</i> .....	67
<b>Figura 8.</b> IFD de la paciente No.560 en la cual se observa la presencia de un CE de <i>C. trachomatis</i> y células epiteliales.....	68
<b>Figura 9.</b> IFD de la paciente No.350 en la cual se observa la presencia de dos CE de <i>C. trachomatis</i> , células epiteliales y cocos. ....	68
<b>Figura 10.</b> IFD de la paciente No. 539 en la cual se observa la presencia de tres CE de <i>C. trachomatis</i> .....	69
<b>Figura 11.</b> Control negativo de IFD, con abundantes células epiteliales .....	69
<b>Figura 12.</b> Frecuencia de los diferentes genotipos de <i>C. trachomatis</i> detectados en la población de estudio. ....	70
<b>Figura 13.</b> Frecuencia de los microorganismos asociados a ITS en la población estudiada por las diferentes metodologías.....	103



## ABREVIATURAS

<b>2SP</b>	Medio 2-Sacarosa Fosfato (2SP)
<b>CDC</b>	Center for Disease Control and Prevention
<b>CE</b>	Cuerpo elemental
<b>CR</b>	Cuerpo reticular
<b>DGE</b>	Dirección General de Epidemiología
<b>DIU</b>	Dispositivo intrauterino
<b>ECDC</b>	European Center for Disease Prevention and Control
<b>EIP</b>	Enfermedad inflamatoria pélvica
<b>ETS</b>	Enfermedades de transmisión sexual
<b>FDA</b>	Food and Drug Administration
<b>IFD</b>	Inmunofluorescencia directa
<b>ITS</b>	Infecciones de transmisión sexual
<b>L</b>	Litros
<b>LGV</b>	Linfogranuloma venéreo
<b>M</b>	Concentración molar
<b>mg</b>	Miligramos
<b>mL</b>	Microlitros
<b>mL</b>	Mililitros
<b>MLST</b>	Tipificación de secuencias de multilocus
<b>mM</b>	Concentración milimolar
<b>MOMP</b>	Proteína principal de la membrana externa
<b>NHANES</b>	National Health and Nutrition Examination Survey
<b>NIC</b>	Neoplasia intraepitelial cervical
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ORa</b>	Odds ratio ajustado
<b>pb</b>	Pares de bases
<b>PBS</b>	Amortiguador fosfato salino
<b>PCR</b>	Reacción en cadena de la polimerasa
<b>RFLP</b>	Polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción

<b>SIDA</b>	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
<b>TAAN</b>	Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>VHB</b>	Virus de hepatitis B
<b>VHC</b>	Virus de hepatitis C
<b>VHS-1</b>	Virus del herpes simple tipo 1
<b>VHS-2</b>	Virus del herpes simple tipo 2
<b>VIH</b>	Virus de inmunodeficiencia humana
<b>VPH</b>	Virus de papiloma humano

## RESUMEN

**Introducción.** Se estima que 500 millones de personas adquieren una infección de transmisión sexual cada año. Se determinó la prevalencia de microorganismos asociados con ITS en pacientes que acuden a consulta ginecológica.

**Material y Métodos.** Se estudió una población que acudió a consulta ginecológica en el Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde” (n=662). Se les efectuó una entrevista e historia clínica. Se tomaron muestras de secreción endocervical y suero. Se detectó *Chlamydia trachomatis* por inmunofluorescencia directa (IFD) y por PCR mediante la amplificación del gen Omp1. Se el Virus de Papiloma Humano (VPH) por PCR y se determinó el genotipo por RFLP. Se el Virus de inmunodeficiencia humana (VIH) por ELISA y se confirmó por Western blot. Se anticuerpos IgG e IgM contra *Treponema pallidum* por quimioluminiscencia y se el Virus de Hepatitis C (VHC) por inmunocromatografía. Se realizó una PCR múltiple para detectar *C. trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, Virus del herpes simple I y II (VHS -1/-2), *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* y *T. pallidum*. La presencia de bacterias aerobias se determinó por procedimientos estándares. El análisis estadístico se realizó usando el software SPSS versión 20.

**Resultados.** La media de edad de la población fue de 31 años (14-78 años). El 17% (n=112) de lapoblación muestras fueron positivas para *C. trachomatis* por IFD y el 14.5% (n=96) fue positiva por PCR, el genotipo más frecuente fue el E (39.6%); el 13.9% (n=92) fue positiva para VPH, y el genotipo más frecuente fue el 16. El 6.8% (n=45) de la población fue positiva para VIH; el 2.3% (n=15) presentó anticuerpos contra *T. pallidum*; el 0.15% (n=1) fue positiva para anticuerpos contra VHC. En la PCR múltiple el 17.5% (n=116) fue positiva para *C. trachomatis*, el 14.2% (n=94) para *T. vaginalis*, el 9.67% (n=53) para (VHS -1/-2), el 2.4% (n=16) para *M. genitalium*, el 2.1% (n=14) para *N. gonorrhoeae* y el 1% (n=7) para *T. pallidum*. *Enterococcus faecalis* se detectó en el 35.7% (n=226) y *Candida albicans* en el 23.4% (n=155).

**Conclusiones.** La prevalencia del VHC, VPH, (VHS -1/-2), *M. genitalium* y *T. vaginalis* fue menor que la previamente reportada en la población estudiada. Se detectó una alta prevalencia de VIH, *C. trachomatis* *T. pallidum* y *N. gonorrhoeae* por lo que se requieren medidas de prevención para el control de estas infecciones. Las pacientes infectadas con *T. Vaginalis* se sugiere que son más propensas a sufrir múltiples co-infecciones ( $p<0.05$ ). *E. faecalis* fue el microorganismo detectado con mayor frecuencia en las muestras.

## ABSTRACT

**Background.** An estimated of 500 million people acquire sexually transmitted infections each year. We determined the frequency of microorganisms associated with STIs in patients attending a tertiary care hospital gynecology clinic.

**Methods.** Endocervical swabs and serum samples obtained from gynecologic patients (n=662) attending the Hospital Civil "Fray Antonio Alcalde" in Jalisco, Mexico were analyzed. *Chlamydia trachomatis* was determined by direct immunofluorescence, and by PCR. PCR positive samples were genotyped using PCR-RFLP. Human papillomavirus (HPV) was by PCR and positive samples were genotyped using a PCR-RFLP. Human immunodeficiency virus (HIV) was by ELISA and confirmed by Western blot. IgG and IgM antibodies against *Treponema pallidum* were using a chemiluminescent microparticle immunoassay. IgG antibodies against Hepatitis C virus (HCV) were by immunochromatography. Multiplex-PCR for STIs in endocervical exudates was performed (*C. trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, herpes simplex virus - 1/-2 [VHS -1/-2], *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae* and *T. pallidum*). Microbiological cultures for bacterial identification were performed by standard procedures. Statistical analysis was done using SPSS 20.

**Results.** The mean age of the study population was 31 years (14-78 years). Of the samples studied, 17% (n=112) were positive for *C. trachomatis* by IFD and 14.5 % (n=96) were positive by PCR, the most frequent genotype was E (39.6%); 13.9 % (n=92) were positive for HPV, the most frequent genotype was 16; 6.8 % (n=45) were positive for HIV; 2.3% (n=15) presented antibodies against *T. pallidum*; 0.15 % (n=1) presented antibodies against HCV. 17.5 % (n=116) was positive for *C. trachomatis*, 14.2 % (n=94) for *T. vaginalis*, 9.67 % (n=53) for (VHS -1/-2), 2.4% (n=16) for *M. genitalium*, 2.1% (n=14) for *N. gonorrhoeae* and 1% (n=7) for *T. pallidum*. Abnormal microbiota was observed in 67.8% (n=449) of samples. Predominant microorganisms were: *Enterococcus faecalis* in 35.7% (n=226), and *Candida albicans* in 23.4% (n=155).

**Conclusions:** The frequency of HCV, HPV (VHS -1 / -2), *M. genitalium* and *T. vaginalis* was lower than previously reported worldwide. However, the frequency of HIV, *T. pallidum*, *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* was higher than previously reported. Preventive measures to control these infections are needed. Patients infected with *T. vaginalis* suffered multiple coinfection ( $p < 0.05$ ). *E. faecalis* was the most common organism detected in the samples.

# **1. INTRODUCCIÓN**

# 1.INTRODUCCIÓN

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son causadas por más de 30 especies oportunistas; entre las de mayor frecuencia e importancia clínica se encuentran: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma genitalium*, el virus de la hepatitis B y C (VHB, VHC), el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de papiloma humano (VPH), virus del herpes simple tipo 1 y tipo 2 (VHS-1, VHS-2) y *Trichomonas vaginalis*. Estos microorganismos se propagan principalmente por contacto sexual.

La mayoría de estas infecciones están presentes sin síntomas. Cuando se presenta sintomatología, las manifestaciones clínicas más comunes de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) incluyen flujo vaginal, úlceras genitales y dolor abdominal en las mujeres.

A nivel mundial más de 1 millón de personas adquieren una ITS todos los días. Cada año, se estima que 500 millones de personas se infectan con una de las 4 ITS curables: clamidiasis, gonorrea, sífilis y tricomoniasis. Más de 290 millones de mujeres tienen una infección por el VPH y más de 530 millones de personas tienen el virus que causa el VHS-2. Algunas ITS pueden aumentar el riesgo de adquirir el VIH de tres veces o más. Este tipo de infecciones pueden tener consecuencias graves más allá de los efectos inmediatos de la infección en sí, a través de la transmisión de madre a hijo de infecciones durante el embarazo y el parto; así como enfermedades crónicas.

En México y también a nivel mundial, las ITS son un problema de salud pública. A nivel nacional son una de las diez primeras causas de morbilidad, con un promedio de 220,000 casos anuales. Existe poca información de las ITS en nuestro país.

## **2. ANTECEDENTES**

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Infecciones de Transmisión Sexual – ITS

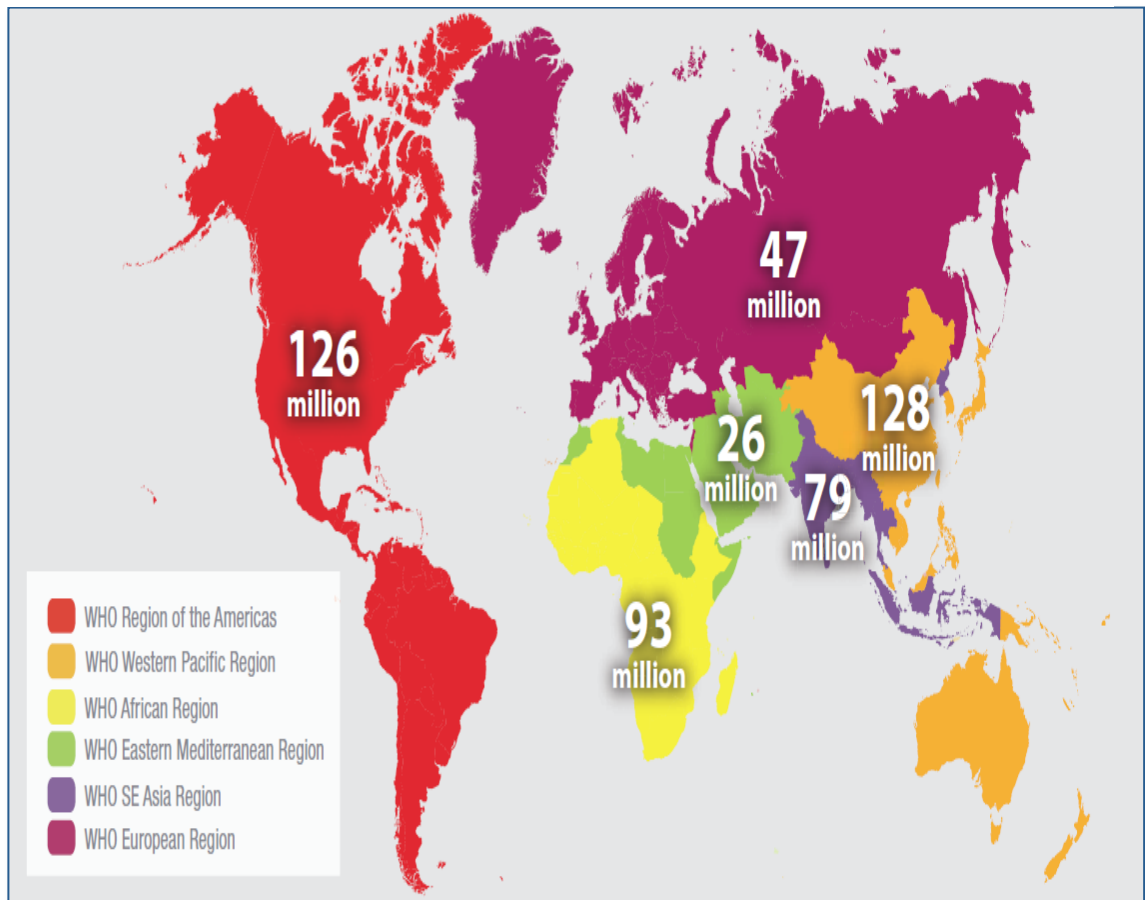
Las ITS son causadas por más de 30 especies bacterianas, virus y parásitos diferentes, y se transmiten predominantemente por contacto sexual, incluidos el sexo vaginal, anal y oral. Algunas ITS se pueden propagar por contacto sexual cutáneo. Los organismos causantes de ITS también se pueden propagar por medios no sexuales, por ejemplo, las transfusiones de productos sanguíneos y los trasplantes de tejidos. Muchas ITS, especialmente las causadas por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, VHB, VIH, VPH, VHS-1 y 2 y *T. pallidum*, se pueden transmitir también de la madre al producto durante el embarazo o el parto (Kenyon et al. 2014).

Una persona puede tener una ITS sin manifestar síntomas de enfermedad. Por consiguiente, el concepto de “ITS” es más amplio que el de “ETS” (Katz et al. 2012). Las manifestaciones clínicas de las ETS incluyen flujo vaginal, úlceras genitales y dolor abdominal en las mujeres. Entre los más de 30 agentes patógenos que se sabe se transmiten por contacto sexual, ocho se han vinculado a la máxima incidencia de estas enfermedades. De estas ocho infecciones, cuatro son actualmente curables por tratamiento farmacológico, las causadas por *T. pallidum*, *N. gonorrhoeae*, *C. trachomatis* y *T. vaginalis*; las otras cuatro, hepatitis B, VHS-1/-2, VIH y VPH, son infecciones virales incurables que, no obstante, se pueden mitigar o atenuar con tratamiento (Jackson et al. 2015).

Las ITS tienen efectos en la salud sexual y reproductiva en todo el mundo y figuran entre las cinco categorías principales por las que los adultos buscan atención médica. Cada día, más de 1 millón de personas contraen una ITS. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, anualmente, 500 millones de personas contraen alguna de las cuatro infecciones de transmisión sexual curables (Figura 1). Más de 530 millones de personas son portadoras del virus que provoca el HSV 2 y se



estima que más de 290 millones de mujeres están infectadas con VPH (Figuroa et al. 2015).



**Figura 1.** Nuevos casos estimados de ITS curables por regiones, OMS 2008

### 2.1.1 Complicaciones de las ITS

Las ITS pueden tener consecuencias graves tales como: triplicar el riesgo de infección con el VIH; la transmisión de la madre al hijo, la cual puede dar lugar a muerte prenatal, muerte neonatal, bajo peso al nacer y prematuridad, septicemia, neumonía, conjuntivitis neonatal y deformidades congénitas (Johnson et al. 2011).

La sífilis durante el embarazo provoca aproximadamente unas 305,000 muertes fetales y neonatales, y deja a 215,000 lactantes en riesgo de defunción por

prematuridad, bajo peso al nacer o enfermedad congénita; anualmente (Mabey et al. 2012); la infección por VPH provoca 530,000 casos de cáncer cervicouterino y 275,000 defunciones (Wagner et al. 2015); *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* causan principalmente enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) (Trigg et al. 2008).

Las ITS tienen consecuencias más graves para las mujeres y su descendencia que para los hombres (Nunez-Forero et al. 2015). En ellas estas infecciones son con frecuencia asintomáticas o cursan con escasa sintomatología, lo que determina un retraso en la atención médica. Por lo que un diagnóstico preciso es más difícil en la mujer que en el hombre porque la sintomatología es menos específica y porque las pruebas de diagnóstico microbiológico son menos sensibles y por último tienen mayor riesgo de complicaciones que los hombres, pudiendo ocasionar secuelas graves y permanentes tanto en su salud sexual como durante el embarazo o a el recién nacido (Robson et al. 2015).

### **2.1.2 Diagnóstico de las ITS**

Las pruebas diagnósticas contribuyen en gran medida al manejo y el control de las ITS; al facilitar la prevención de la transmisión y sus secuelas. La elección de las pruebas diagnósticas correctas resulta difícil debido al gran número de ITS y a la diversidad de pruebas posibles para cada una de ellas (Martinez 2010).

Las pruebas de detección de las ITS pueden tener diferentes finalidades que, a su vez, afectan a la elección de la prueba. Entre los diferentes motivos para realizarlas están la vigilancia, la validación del diagnóstico sindrómico, la garantía de la calidad, el diagnóstico de las personas con signos y síntomas de posible ITS, la detección sistemática o detección de las personas asintomáticas vulnerables y el estudio de la sensibilidad a los antibióticos (Vazquez et al. 2012).

Actualmente se dispone de tratamiento eficaz contra algunas ITS. Las infecciones causadas por *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. pallidum* y *T. vaginalis*

son generalmente curables con los eficaces regímenes de antibióticos de dosis única existentes. Para las infecciones por VHS-1/-2 y el VIH, los medicamentos más eficaces disponibles son los antivirales, que pueden atenuar la evolución de la enfermedad, pero no curarla. Para la hepatitis C, recientemente se han dado a conocer la nueva generación de antivirales directos, los cuales han mostrado que eliminan el virus en más del 90% de los casos (Savage et al. 2014).

La resistencia de algunos agentes causales de ITS; en particular de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos, esta resistencia ha aumentado rápidamente en los últimos años y ha limitado las opciones de tratamiento. El desarrollo de una menor sensibilidad de *N. gonorrhoeae* a la opción terapéutica de “última línea”, junto con la resistencia a los antibióticos anteriormente con respecto a las penicilinas, sulfamidas, tetraciclinas, quinolonas y macrólidos convierten a la gonorrea en un organismo multifarmacorresistente (Shigemura y Fujisawa 2015). En cuanto a otras ITS, la resistencia a los antimicrobianos es menos común pero también existe, y por lo tanto la prevención y el tratamiento tempranos son cruciales .

Respecto a la prevención de las ITS, existen programas, además de vacunas; como la vacuna contra el VPH, la cual está disponible como parte de los programas de inmunización sistemática en 45 países, en su mayoría de ingresos altos y medianos. La investigación orientada al desarrollo de vacunas contra el herpes y el VIH está adelantada, pero todavía no hay vacunas experimentales para ninguna de esas infecciones. La investigación sobre vacunas contra *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* y *T. vaginalis* están en las fases iniciales de desarrollo (Brotman et al. 2014; Bazzi et al. 2015).

En México, las ITS ocupan uno de los cinco primeros lugares de demanda de consulta en el primer nivel de atención médica y se ubican entre las diez primeras causas de morbilidad general en el grupo de 15 a 44 años de edad, con un efecto diferencial para la vida y el ejercicio de la sexualidad de mujeres y hombres (Bazzi, Rangel et al. 2015).

## 2.2 Microbiota vaginal

La microbiota del tracto genital inferior femenino se divide en transitoria y residente. La mayor parte de la microbiota transitoria proviene de fuentes exógenas, como el ano o la uretra. La microbiota residente consiste de manera predominante de *Lactobacillus* spp., con las especies prevalentes *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus jensenii*, *Lactobacillus iners*, *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus gasseri*. También se reportan dentro de la microbiota vaginal especies de *Bacteroides*, *Staphylococcus epidermidis*, especies de *Corynebacterium*, *Peptostreptococcus* y *Eubacterium*, así como otros géneros bacterianos: *Atopobium vaginae*, *Megasphaera*, *Leptotrichia* y *Mycoplasma*. Existen, variaciones étnicas (Hernandez-Rodriguez et al. 2011). El microbioma de la vagina es mucho más heterogéneo que lo que antes se consideraba (Prince et al. 2015).

La relación simbiótica entre lactobacilos/hospedero es regulada por las hormonas femeninas que estimulan a los epitelios para la producción de glucógeno, el cual, metabolizado a nivel vaginal, da lugar a ácido láctico, un responsable importante de mantener ácido el pH en el epitelio vaginal menor de 4.5 (Recine et al. 2015).

### 2.3 *Chlamydia trachomatis*

*C. trachomatis* es una bacteria intracelular obligada, posee una estructura similar a las bacterias Gram negativas, presenta una morfología esférica u ovalada, no móvil, de vida parasitaria intracelular obligada porque carece de habilidad para sintetizar ATP, son parásitos energéticos, no tienen vida libre y colonizan el citoplasma de las células susceptibles (Collingro et al. 2011). Esta bacteria tiene un ciclo biológico bifásico único: el cuerpo elemental (CE), que es la forma infecciosa y el cuerpo reticular (CR), que es la forma replicativa y metabólicamente activa. El ciclo biológico se divide en tres fases: penetración de la forma infecciosa o cuerpo elemental en la célula hospedadora, multiplicación del CR mediante fisión binaria y conversión en CE y liberación de los CE de la célula hospedadora (Greub 2010).

Las infecciones por *C. trachomatis* afectan exclusivamente a humanos y están entre las infecciones bacterianas más comunes en el mundo (Workowski y Berman 2010; Geisler 2011). Los 18 genotipos descritos se distribuyen en tres grupos, responsables cada uno de un cuadro infeccioso:

- a) Tracoma: genotipos A, B/Ba y C
- b) Linfogranuloma venéreo (LGV): genotipos L1, L2, L2a y L3
- c) Enfermedad óculo-genital no invasiva: genotipos D/Da, E, F, G, H, I/Ia, J y K

Cada una de estas patologías tiene una distribución geográfica diferente y afecta mayoritariamente a distintos grupos poblacionales (Wang y Grayston 1991; Isobe et al. 1996). El tracoma se manifiesta como una conjuntivitis folicular crónica, es endémico en más de 50 países, especialmente en áreas rurales de África sub-sahariana (Kasi et al. 2004). El LGV es una infección de transmisión sexual que invade los tejidos linfoides, es endémico de África, India, Sudamérica o el Caribe (Hamill et al. 2007). La infección óculo-genital no invasora es la principal causa infecciosa de transmisión sexual en el mundo y el número de casos nuevos crece cada año, especialmente desde 2008, pero no está claro si este incremento está directamente relacionado con mayores tasas de

transmisión o con la implantación de técnicas de diagnóstico molecular, más sensibles y específicas (Petersen et al. 2003; Darville y Hiltke 2010).

La infección por *C. trachomatis* afecta principalmente a mujeres entre 15-24 años, aunque el 60% de los casos son asintomáticos (Gaydos et al. 2004). La infección se presenta más en mujeres que en hombres, aunque este desequilibrio hacia las mujeres podría no ser real, ya que muchos de los casos se detectan en los tamizajes de controles periódicos rutinarios a los que las mujeres acuden con mayor frecuencia. Entre el 10-20% de las infecciones de cérvix evolucionan hacia la EIP, embarazos ectópicos e infertilidad (Tornesello et al. 2012). Los cuadros de conjuntivitis están asociados a niños menores de 2 años que se infectan en el canal del parto de madres portadoras de los genotipos D-K de *C. trachomatis* (Kakar et al. 2010).

*C. trachomatis* es la bacteria encontrada con mayor frecuencia en las ITS en países desarrollados. La OMS estima 92 millones de casos nuevos de infección detectados anualmente en todo el mundo (Da Ros y Schmitt Cda 2008). La infección causada por *C. trachomatis* es considerada la infección mas común de transmisión sexual reportada en Europa (Domeika et al. 2002; Ozolins et al. 2012) y en Estados Unidos (Harkins y Munson 2011); según una revisión realizada por Kucinskiene y colaboradores en el 2006, lo es también en el mundo entero (Kucinskiene et al. 2006).

Instituciones como el *Center for Disease Control and Prevention, EE.UU (CDC)*; *US Preventive Services Task Force* y *European Center for Disease Prevention and Control (ECDC)*, recomiendan hacer el monitoreo rutinario de la infección tanto en mujeres como en hombres (Workowski et al. 2002; Burstein y Workowski 2003). Actualmente, los expertos del ECDC se encuentran desarrollando unos lineamientos para controlar la infección por *C. trachomatis* en la Unión Europea. Los programas de monitoreo rutinario de esta infección en los países desarrollados han reducido la transmisión y las complicaciones asociadas a la infección por esta bacteria (Dove 1998).

Hasta principios de los años 80, el principal método de diagnóstico de infección por *C. trachomatis* fue el cultivo celular, pero paulatinamente fueron reemplazados por otras técnicas más sencillas y rápidas (Oehme et al. 1990). En esa época aparecieron los primeros ensayos de inmunofluorescencia usando anticuerpos monoclonales (Forstl et al. 2005) y las técnicas de inmunoensayo enzimático que por su sencillez llegaron a tener una gran aceptación (Farrell et al. 1996). En los años 90 apareció la técnica de hibridación de ácidos nucleicos. Pero el gran desarrollo del diagnóstico de la infección por *C. trachomatis* han sido las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN) que permiten un flujo de trabajo elevado con excelente sensibilidad y especificidad, facilitando la instauración del tamizaje de la infección por *C. trachomatis* en población sexualmente activa (Burckhardt et al. 2006).

Pedersen y colaboradores revisaron recientemente los distintos enfoques a la tipificación de cepas utilizado en las últimas décadas (Pedersen et al. 2009). Las cepas de *C. trachomatis* son divergentes, la tipificación puede ser una herramienta importante para revelar las vías de transmisión y las asociaciones con tropismos tisulares diferentes y su patogenicidad (Bosnjak et al. 2012). La clasificación de los genotipos de *C. trachomatis* está basada en el análisis de la proteína principal de la membrana externa (MOMP), la que representa el 60% del peso seco de la membrana de *C. trachomatis*. Y es un antígeno dominante, esta proteína está expuesta en la superficie de la membrana y es altamente inmunogénica (Schuppe et al. 2003). La estructura trimérica de la MOMP actúa como adhesina, facilitando las interacciones no específicas y la penetración de los cuerpos elementales al interior de la célula eucariota. Por otra parte, la estructura monomérica actúa como porina en los cuerpos reticulares facilitando la permeabilidad de nutrientes y de ATP. La topología proteica de la MOMP es bien conocida en las diferentes serovariedades de *C. trachomatis* (Yuan et al. 1989). Consta de 5 dominios transmembranales conservados y 4 dominios variables que están expuestos en la superficie externa. En los dominios de la MOMP, se ha reportado que se localizan los epítopes reconocidos por los linfocitos B. La variabilidad de los epítopes localizados en esta proteína parecen responder a la presión inmunológica a la que se ve sometida la

bacteria. Hay una remarcada evidencia de que las mutaciones en la MOMP están relacionadas con las estrategias de evasión del sistema inmune (Stephens et al. 1982).

La combinación de la amplificación del gen *OmpA* por PCR con análisis de enzimas de restricción muestra polimorfismos característicos que permiten la identificación de genotipos equivalente a los serotipos establecidos (Lan et al. 1993). El método se conoce como polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP) (Frost et al. 1991). Rodríguez y colaboradores en 1991 amplificaron 1000 pares de bases del gen *OmpA* y el producto lo digirieron con las nucleasas de restricción, y lo visualizaron en geles de poliacrilamida. Trece de los 15 genotipos a la fecha pudieron ser diferenciados por esta técnica (Rodríguez et al. 1991). Posterior a ello se realizaron varios estudios mediante enzimas de restricción como en el año de 1991 por Sayada y colaboradores (Sayada et al. 1991), y más adelante Morre y colaboradores en 1998 (Morre et al. 1998). *OmpA* es un gen de copia única, y para obtener material adecuado para el RFLP, Frost y colaboradores mejoraron el rendimiento de PCR usando primers anidados.

Estudios previos relacionados con la frecuencia de la infección por *C. trachomatis* en México varían de 1,5% a 28% en mujeres (Esquivel et al. 2003; Guerra-Infante et al. 2003). El único estudio mexicano que ha informado de los genotipos de *C. trachomatis* incluyó 152 pacientes infértiles y mostró que el 15,8% (n = 24) fueron positivas para *C. trachomatis* y el genotipo más frecuente fue el F (de Jesus De Haro-Cruz et al. 2011).



## 2.4 *Treponema pallidum*

*T. pallidum* fue descubierto por Shaudin y Hoffman en 1905, es un microorganismo espiral de 0.1 a 0.2  $\mu\text{m}$  de grosor por 5 a 20  $\mu\text{m}$  de longitud; su cuerpo es enrollado, es una bacteria microaerofílica, Gram negativa; su único reservorio natural es el ser humano; se multiplica por división transversal; solo se puede cultivar *in vitro* durante un breve período, con un máximo de supervivencia de 7 días a 35 °C, en medio particularmente enriquecido y en presencia de CO<sub>2</sub> por sus particulares exigencias nutritivas y metabólicas; en nitrógeno líquido se mantiene viable. En sangre conservada para transfusiones la bacteria sobrevive entre 24 y 48 horas (Willcox y Guthe 1966).

*T. pallidum* es el responsable de la sífilis, la cual es una ETS que suele afectar de manera importante a las mujeres en edad reproductiva y a sus hijos, por su capacidad de transmisión vertical. Se han descrito diferentes factores de riesgo que predisponen a las personas a ser susceptibles de sufrir esta enfermedad, entre los que destacan el uso de drogas inyectables, tener múltiples parejas sexuales o antecedentes de ETS de cualquier tipo (Stoltey y Cohen 2015).

La sífilis se divide en tres etapas. La etapa primaria se caracteriza por un chancro único no doloroso, que en las mujeres se puede localizar en la zona perigenital, ya sea en la vulva, cérvix o ano, también se puede localizar en la zona extragenital, ya sea la cavidad oral, ingle o pezones; esta lesión suele remitir en un periodo de 2-6 semanas y existe la posibilidad de que reaparezca. La sífilis secundaria se presenta a los 3-5 meses de la infección primaria, con manifestaciones por diseminación, como cefalea, fiebre leve, linfadenopatías, alopecia en parche, erosiones en la mucosa, hepatoesplenomegalia, y en menor proporción afectaciones renales o neurológicas. La serología positiva se presenta cuando los pacientes tienen sífilis latente, pero no muestran síntomas de sífilis. La sífilis terciaria se puede presentar como sífilis benigna tardía, neurosífilis o sífilis cardiovascular; dependiendo del tejido o la zona que afecte, esta condición puede tener secuelas irreversibles e incluso puede llegar a causar la muerte (Peate 1998).

Esta bacteria puede sobrevivir en un hospedador humano durante varias décadas, ya que éste presenta un mecanismo de resistencia a los sistemas efectores de la respuesta inmune al recubrirse de proteínas del hospedador para camuflarse hasta que alcanza el sistema nervioso central. Los síntomas de la sífilis son numerosos y ligeramente variados, esta enfermedad se conoce como la gran imitadora ya que en la fase primaria y secundaria sus síntomas pueden confundirse fácilmente con los de otras enfermedades, haciendo que el paciente le reste importancia y no acuda al médico. El 90 % de las mujeres que la padecen no saben que la tienen porque, en la mayoría de los casos, el chancro blando aparece dentro del cuello uterino. Cuando la bacteria entra al organismo, se disemina rápidamente y poco a poco invade todos los órganos y tejidos (Abildgaard et al. 2014).

La sífilis congénita es la infección cutánea y sistémica adquirida por el neonato vía trasplacentaria de una madre que padece sífilis durante el embarazo. A pesar de que la detección materna y su correcto tratamiento pueden evitar la sífilis congénita. La probabilidad de infección sifilítica en el feto depende del estadio de la enfermedad en la madre y del momento de la aparición de la infección materna en el embarazo. La infección fetal no puede suceder antes de 4 meses de gestación, debido a que la capa de Langhans del corión ejerce efecto de barrera frente a *T. pallidum*. Si la infección materna es de larga evolución, como en la sífilis latente o tardía, es menos probable que el feto resulte afectado. De este modo, una madre con sífilis no tratada puede tener como resultado cualquiera de las siguientes situaciones: niño sano, aborto espontáneo, muerte intrauterina, muerte neonatal, prematuridad, bajo peso al nacimiento, evidencia de infección sifilítica al nacimiento, signos de afectación sistémica en las primeras semanas o meses de vida o manifestaciones de sífilis congénita en la infancia tardía, adolescencia o edad adulta, así como secuelas severas e irreversibles (Gupta y Vora 2013; Serruya et al. 2015).

A nivel mundial, esta enfermedad comenzó a tener una mayor incidencia en el siglo XXI, hasta que en el año 2010 empezó a disminuir, en un 1.6% (Owusu-Edusei et al. 2013). Los países en vías de desarrollo son los más afectados, debido a la falta de

aplicación de medidas preventivas.

La OMS ha estimado que existe una incidencia de sífilis entre la población adulta de Latinoamérica y el Caribe de tres millones anuales, estimando una prevalencia de 1.3% en mujeres en el continente americano (Arnesen et al. 2015). El CDC, en el año 2013 reportó una incidencia de 4.5 casos por cada 100,000 personas, siendo común la coinfección con el VIH (Yang et al. 2015).

Se calcula que en la actualidad los hombres son más afectados que las mujeres, a razón de 5:1, asociado a la población de hombres que tienen sexo con hombres. La sífilis tiene su mayor pico de incidencia entre la tercera y la cuarta década de la vida (Peterman et al. 2005).

En el 2011 se reportó en México una incidencia de 0.04 casos por cada 1,000 recién nacidos vivos, tendencia que ha ido en descenso gracias a las medidas preventivas actuales de la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud.

## 2.5 *Neisseria gonorrhoeae*

*N. gonorrhoeae* es un coco Gram negativo, mide aproximadamente de 0.6 a 1  $\mu\text{m}$  de diámetro, suele presentarse agrupado en diplococos, presenta cápsula, pilis y proteínas de la membrana externa. En su metabolismo utiliza poco azúcares, y la glucosa es la principal fuente de energía y carbono; puede también utilizar amonio y nitratos como fuente de nitrógeno y puede sintetizar todos los lípidos que requiera. No toleran la desecación y resiste poco al aire aproximadamente de una a dos horas, requieren de  $\text{CO}_2$  (5%), son aerobios obligados, lábiles al calor, a la refrigeración y a diversos antisépticos (Whiley y Lahra 2015).

La transmisión puede ocurrir durante el acto sexual, en el parto cuando la madre está infectada, o por contaminación al llevar secreciones contaminadas de una mucosa a otra. En mujeres el período de incubación está entre de 5 a 10 días. Del 20 al 50% de las mujeres infectadas pueden permanecer asintomáticos (Bazan et al. 2015). Sin embargo, pueden presentarse signos y síntomas tales como una secreción vaginal, aumento de ganas de orinar y disuria. Cuando la bacteria se localiza en las trompas de Falopio puede producir dolor en la zona baja del abdomen; también produce enfermedades como vaginitis, cervicitis, endometritis, salpingitis y EPI (Gallo et al. 2012). El sistema inmune tiene serios problemas para eliminar la bacteria, dado que posee fibras con una alta tasa de variación antigénica (Dixson 2015).

La gonorrea es una enfermedad endémica en muchos países no industrializados, mientras que en los países industrializados se ha detectado una baja en su incidencia y prevalencia. En Estados Unidos, se estima que ocurren cada año 820.000 nuevos casos de infecciones por *N. gonorrhoeae* (Satterwhite et al. 2008). La gonorrea es la segunda enfermedad transmisible más frecuente. En la CDC recomienda el tamizaje anual para la infección de *N. gonorrhoeae* para todas las mujeres sexualmente activas mayores de 25 años y para las mujeres de más edad con mayor riesgo de infección (LeFevre 2014). Otros factores de riesgo para la adquisición de esta ITS es el uso inconsistente del preservativo entre las personas que no están en relaciones mutuamente monógamas,

infecciones previas de transmisión sexual. En México su prevalencia ha ido a la baja desde 1970, aunque la magnitud del problema se desconoce.

Un diagnóstico específico puede potencialmente reducir las complicaciones, las reinfecciones, y la transmisión. El cultivo y los métodos moleculares están disponibles para la detección de infección genitourinaria con *N. gonorrhoeae* (2014). El lugar de la toma dependerá en cierto modo de la edad, el sexo, las prácticas sexuales de la persona y de las características de la infección. Las muestras deben de tomarse con hisopos de Dacrón o de alginato de calcio y cuando se siembra se debe de utilizar asas bacteriológicas de plástico o de platino. En el caso de las mujeres, para el cultivo bacteriano la toma de muestra de elección es endocervical, como localización secundaria recto, uretra y faringe (Drake et al. 2005).

Los métodos moleculares permiten variedad de tipos de muestras aprobados por la *Food and Drug Administration* (FDA) , incluyendo hisopos endocervicales, hisopos vaginales y la orina. Los sistemas de transporte pueden mantener la viabilidad gonocócica para un máximo de 48 horas en temperatura ambiente. La tinción de Gram tiene una alta especificidad (> 99%) y sensibilidad (> 95%). En el caso de secreciones uretrales, se observan leucocitos polimorfonucleares con diplococos intracelulares Gram negativos. La detección de la infección mediante tinción de Gram de muestras endocervicales, faríngeas o rectales es insuficiente y no se recomienda (Tapsall et al. 2006).

La detección prenatal y el tratamiento de las mujeres embarazadas es el mejor método para prevenir la infección por *N. gonorrhoeae*. La infección gonocócica en los recién nacidos resulta de la exposición perinatal al cuello del útero de la madre infectada. Por lo general es una enfermedad aguda que se manifiesta de 2 a 5 días después del nacimiento. Las manifestaciones más graves de la infección por *N. gonorrhoeae* en los recién nacidos son oftalmía del recién nacido y la sepsis, que puede incluir la artritis y meningitis. Manifestaciones menos graves incluyen rinitis, vaginitis, uretritis, y la infección en los sitios de monitoreo fetal (Miller et al. 2003).

La OMS reportó una alerta epidemiológica sobre la identificación de una cepa de *N. gonorrhoeae* resistente a todos los antimicrobianos disponibles para el tratamiento de las infecciones de transmisión sexual. Se trata de una nueva cepa, denominada H041, que contiene mutaciones genéticas que le hace resistente a penicilina, ciprofloxacina, tetraciclina y también a cefalosporinas de tercera generación (Tomberg et al. 2013). En los últimos años, ya se había observado una disminución de la sensibilidad a las cefalosporinas, que constituye la recomendación de tratamiento para la región de América; por lo que esta nueva cepa presenta retos para el correcto tratamiento de los síndromes ocasionados por *N. gonorrhoeae* (Shigemura y Fujisawa 2015). La vigilancia epidemiológica de la aparición de estas cepas resistentes es de importancia crítica para guiar las decisiones terapéuticas y para contener la diseminación de la resistencia, mediante la identificación y tratamiento precoz (Ohnishi et al. 2011).

## 2.6 *Mycoplasma genitalium*

*M. genitalium* es una bacteria que carece de pared celular, pertenece a la clase *Mollicutes*, tiene genoma pequeño y tiene un bajo contenido de guanina y citosina. Debido a la ausencia de pared celular, los micoplasmas en general no son sensibles a los antibióticos que bloquean la síntesis de la pared celular, como la penicilina u otros antibióticos betalactámicos (Daley et al. 2014).

La infección con *M. genitalium* generalmente produce síntomas clínicos graves, o una combinación de los síntomas; pero a veces puede ser asintomática. En las mujeres, causa cervicitis, uretritis, endometritis, salpingitis, se ha asociado con secreción mucopurulenta en el tracto urinario y ardor al orinar, también se asocia con infertilidad tubárica (Oliphant y Azariah 2013). Es altamente asociado con la coinfección por VIH (Napierala Mavedzenge et al. 2015). También se sospecha que desempeña un papel en el desarrollo del cáncer de ovario y linfomas (Zarei et al. 2013).

La publicación de la secuencia de los genomas de *M. genitalium* ha revelado la ausencia de genes de rutas biosintéticas de aminoácidos, lo que hace que estos organismos sean dependientes absolutos de un suministro exógeno, no sólo de aminoácidos, sino de otros precursores biosintéticos como nucleótidos, ácidos grasos y esteróles (Fraser et al. 1995). Debido a estas limitaciones, en los últimos años se han estandarizado y aplicado técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para la investigación de micoplasmas genitales y la mayoría de los estudios clínicos y epidemiológicos en diferentes poblaciones se han realizado utilizando estos ensayos moleculares (McGowin et al. 2014).

## 2.7 Vaginosis bacteriana

La VB es una condición caracterizada por el reemplazo de los lactobacilos vaginales con otras bacterias. Algunas mujeres experimentan cambios de la microbiota vaginal de forma transitoria, mientras que otras los experimentan durante intervalos de tiempo más largos (Thurman et al. 2015).

Se desconocen las causas de la VB. No obstante, varios autores han identificado una gran diversidad de factores de riesgo y hábitos asociados. Los estudios basados en el cultivo bacteriano muestran, en su mayor parte, una disminución en la concentración de especies de *Lactobacillus* y un aumento importante en la concentración de bacterias anaerobias estrictas como : *Gardnerella vaginalis*, *Prevotella* spp., *Mobiluncus* spp., *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* (Homayouni et al. 2014).

Se estima que alrededor del 40 al 50% de las mujeres con VB cursan asintomáticas. Las manifestaciones principalmente son aumento en la descarga vaginal, de color grisáceo o blanquecino, de consistencia lechosa. El signo clásico consiste en un olor fétido, referido por las pacientes como "olor a pescado", que es causado por la producción de aminas tales como trimetilamina, putrescina y cadaverina. Estas aminas se volatilizan cuando aumenta el pH, lo cual sucede en presencia de semen, por lo que el olor puede intensificarse después de una relación sexual. También se reportan sensación de picazón, ardor, dolor, mismos que pueden confundirse con otras causas de vaginitis. Habitualmente no se aprecian signos de inflamación y el cérvix se observa normal. Cuando se asocia cervicitis, esta se debe, en general, a otros patógenos (Koumans et al. 2007).

Las pruebas diagnósticas de VB se dividen en dos categorías; la primera es mediante criterio clínico o de Amsel, la cual incluye cuatro características, de las cuales al menos tres parámetros deben estar presentes para poder hacer el diagnóstico: descarga transvaginal lechosa de color grisáceo o amarillento, pH vaginal de más de 4.5, prueba de aminas positiva y la presencia de grupos de células de descamación, llamadas células



clave (Mohammadzadeh et al. 2015); y el criterio basado en pruebas de laboratorio o de Nugent, clasifica la microbiota vaginal en normal, intermedia y vaginosis bacteriana, para lo cual se cuantifican los lactobacilos y otros dos morfotipos: cocobacilos Gram variable, característicos de *G. vaginalis* y *Prevotella* spp., y a bacilos Gram variable curvos que caracterizan a *Mobiluncus* spp (Rodrigues et al. 2015). Las técnicas de biología molecular han sido de gran utilidad en su identificación (Kusters et al. 2015).

La VB se identifica con una prevalencia que oscila entre el 10% al 40%, de acuerdo a diferentes estudios, se considera la infección vaginal más frecuente (Kenyon et al. 2013). Cabe mencionar que un número importante de investigadores considera a la VB como un complejo de desequilibrio microbiano, no como una infección (Donders 2010).

La VB afecta a millones de mujeres en edad reproductiva. Está asociada a diversas condiciones, tales como parto prematuro, EPI y endometritis posparto y postaborto, así como a un aumento en la susceptibilidad a diversos patógenos causantes de ITS: *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *C. trachomatis*, VPH, VIH y otras infecciones como candidiasis (Brotman et al. 2007).

## 2.8 Virus del papiloma humano – VPH

El VPH pertenece a la familia de los *Papillomaviridae*, no poseen envoltura, y tienen un diámetro aproximado de 52-55 nm. Los VPH son virus que se replican específicamente en el núcleo de las células epiteliales escamosas. A diferencia de lo que ocurre en otras familias virales, las proteínas de la cápside de los diversos tipos de VPH son antigénicamente similares, por lo tanto los VPH no pueden ser clasificados en serotipos, de tal forma su clasificación en genotipos y subtipos se basa en las diferencias a nivel de su secuencia de DNA (Van Doorslaer 2013).

Los VPH son la causa de la infección vírica más común del tracto reproductivo. La mayoría de las mujeres y los hombres sexualmente activos contraerán la infección en algún momento de su vida y algunas personas pueden tener infecciones recurrentes (Rosen et al. 2015).

Se han identificado aproximadamente 100 tipos de VPH, al menos 40 de los cuales pueden infectar el área genital (de Villiers 2013). El VPH se puede transmitir por vía sexual, si bien no es necesario que haya una relación sexual con penetración para que se produzca la transmisión, el contacto directo con la piel de la zona genital es un modo de transmisión reconocido. Otra forma de contagio es mediante contacto materno, directo o indirecto. La adquisición no sexual ocurre cuando el VPH entra en contacto con lesiones con la piel a través de fómites, contacto con piel contaminada; la autoinoculación ocurre mediante el rascado, o durante el baño (Ryndock y Meyers 2014). La transmisión prenatal se ha sugerido, ante la presencia de lesiones por VPH en los infantes al momento del nacimiento (Lacour y Trimble 2012).

Los VPH genitales infectan el epitelio del tracto genital bajo, produciendo verrugas y papilomas. El proceso neoplásico asociado con el VPH no se limita al epitelio escamoso, sino que también está involucrado con el desarrollo de lesiones de células columnares. La infección por VPH produce cambios importantes en la morfología celular, por ejemplo se observa la formación de una amplia vacuola perinuclear, el

núcleo agrandado, irregular e hiperocrómico, además de ser posible encontrar binucleaciones. Las células que han sufrido esta serie de cambios se conocidas como koilocitos y son consideradas como la "huella digital" del VPH (Supho et al. 2014).

La manifestación morfológica más común de la infección por VPH es la verruga genital, las cuales se presentan de forma múltiple y ocurren principalmente en la vulva, extendiéndose hacia el cérvix, produciendo lesiones filiformes. La verruga es esencialmente una hiperplasia epitelial benigna; sin embargo, la infección por VPH no siempre produce la formación de la lesión papilar típica, también puede producir lesiones conocidas como condiloma plano, que comparten las mismas características citológicas del condiloma acuminado, pero no se alzan sobre la superficie adyacente, por lo que no son visibles a simple vista (Chang et al. 2013).

La mayoría de las infecciones por estos virus desaparecen después de algunos meses posteriores al diagnóstico. Las lesiones cervicales de bajo grado también tienden a regresar a la normalidad, sin embargo éstas también pueden progresar hacia lesiones de alto grado con un riesgo del 15 al 25% en el transcurso de 2 a 4 años, mientras que las lesiones de alto grado tienen una probabilidad del 50% de progresar a cáncer. En la mayoría de los casos la progresión transcurre lentamente a través del desarrollo de lesiones pre-malignas y pre-invasivas. Dichas lesiones pre-malignas del cérvix son conocidas como neoplasia intraepitelial cervical (NIC) y se dividen en tres grados (NIC 1, 2 y 3) de acuerdo con la severidad de la lesión. El carcinoma micro-invasor es el estado inicial del cáncer cervical, en él las células neoplásicas han invadido la membrana basal del epitelio. Cuando las células malignas infiltran el endocérnix y se asocian para formar tumores que pueden manifestar una ulceración superficial, se considera que se ha desarrollado un cáncer invasor, el cual tiene la capacidad de extenderse hacia los diferentes tejidos vaginal, para generar metástasis (Kietpeerakool et al. 2015).

El método diagnóstico más ampliamente usado para la detección del VPH es la citología, conocida como prueba del Papanicolaou. El diagnóstico histopatológico se logra al estudiar al microscopio fragmentos de tejido cervical obtenidos a partir de una

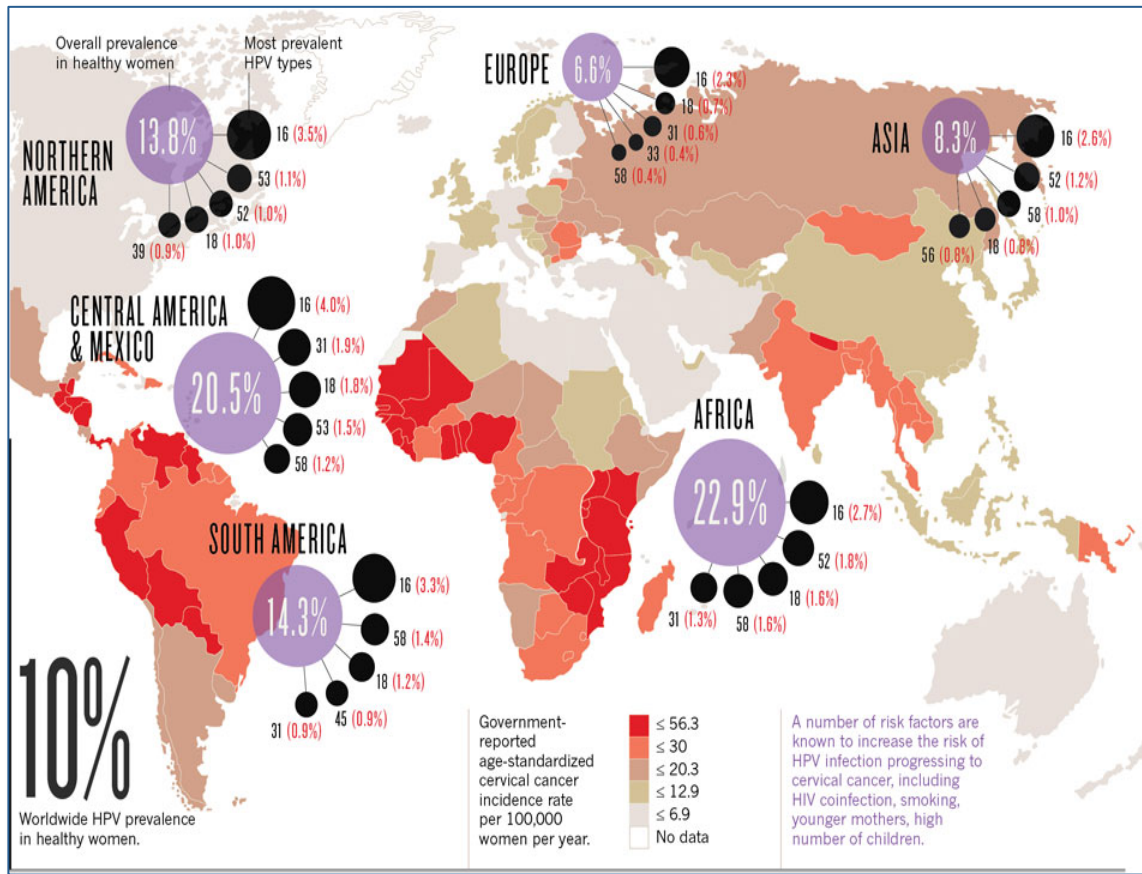
biopsia. Este estudio permite diferenciar los estratos del epitelio cervical, detectando así el nivel de infiltración de las células infectadas, así como áreas de invasión. Los métodos moleculares permiten la detección de DNA viral. La PCR es una técnica específica y sensible que permite la detección genérica de un amplio número de tipos de VPH, o que puede también ser utilizada para la detección específica de un solo tipo viral. También se puede utilizar la Captura de Híbridos, la cual es una técnica para la detección del DNA viral que utiliza un método colorimétrico para la determinación de muestras humanas positivas a la presencia del virus (Ikenberg 2014).

La infección por VPH genitales es una de las enfermedades de transmisión sexual más común en la población mundial (Morshed et al. 2014).

Los tipos de VPH mucosos asociados con lesiones benignas (genotipos 6 y 11 principalmente) son conocidos como tipos de "bajo riesgo", mientras que aquellos tipos asociados a lesiones malignas (genotipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) son conocidos como virus de "alto riesgo". El DNA del VPH causante del cáncer cervical invasivo de la mujer es detectable en más del 95% de los casos; los genotipos 16 y 18 son responsables de más del 70% del cáncer cervical, y con el genotipo 45 contribuyen al 94% del adenocarcinoma de cérvix. Con un número estimado de 529.800 casos nuevos y 275.100 muertes por cáncer cervical en 2008, éste se sitúa en la tercera y cuarta posiciones en cuanto a incidencia y mortalidad por cáncer de la mujer en el mundo (Clifford et al. 2003).

Los VPH de alto riesgo han sido encontrados en el 99.7% de los tumores cervicales analizados. Anualmente se detectan alrededor de 500,000 nuevos casos de cáncer cervical, el 80% de dichos casos se encuentra en países en vías de desarrollo (Liu et al. 2014).

A nivel mundial se estima una prevalencia del 10% en mujeres; en América Central y México se estima una prevalencia de 20.5%, los genotipos más frecuentes en esta región son el 16, 31 y 18 (Figura 2).



**Figura 2.** Prevalencia de los genotipos de VPH por regiones, *Nature* 2012

En México el cáncer cervical es el de mayor incidencia en las mujeres. Se ha calculado que 16 mujeres mueren diariamente por cáncer cervical. Se calcula que el 60 a 75% de la población sexualmente activa está infectada por algún tipo de VPH genital, pero al tratarse de un virus latente, que se mantiene asintomático por períodos largos de tiempo, y que en la mayoría de personas infectadas se presenta como una infección subclínica, su detección y tratamiento no se dan de forma oportuna, por lo tanto, el contagio aumenta (Anaya-Ruiz et al. 2014; Leon-Maldonado et al. 2014).

Existen tres tipos de vacunas contra el VPH, la vacuna Gardasil, también llamada tetravalente, que protege contra los genotipos 6, 11, 16 y 18; la vacuna Gardasil 9 que protege contra 9 genotipos: 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58; y la vacuna Cervarix,

también llamada bivalente, que protege contra los genotipos de virus VPH 16 y 18(Toft et al. 2014).

Recientemente La FDA aprobó la vacuna recombinante Gardasil 9, para la prevención de enfermedades causadas por nueve tipos de VPH. Gardasil 9 tiene el potencial de prevenir aproximadamente el 90% de lesiones por el VPH en cuello uterino, vulva, vagina y ano, causadas por los genotipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58, y para la prevención de las verrugas genitales causadas por los genotipos 6 o 11. Esta vacuna se encuentra aprobada para su uso en mujeres entre las edades de 9 a 26 y hombres de entre 9 a 15. Se administra mediante tres inyecciones separadas, con la dosis inicial seguida de inyecciones adicionales que se incluyen a los dos y seis meses más tarde (Fontenot y Fantasia 2015). En México, las vacunas contra el VPH se aplican de manera gratuita a niñas de entre 9 y 13 años (Sanchez Anguiano et al. 2013).

## 2.9 Virus de la inmunodeficiencia humana – VIH

El VIH es un virus envuelto con doble cápside, una en forma de cono truncado y otra de forma icosaédrica; tiene como genoma dos copias de RNA de cadena positiva, posee varias enzimas, entre ellas la transcriptasa reversa y una proteasa. Se han identificado dos tipos diferentes del VIH, el VIH-1 y el VIH-2, estos pertenecen al género *Lentivirus* de la Familia *Retroviridae*; comparten propiedades epidemiológicas, pero desde el punto de vista serológico y geográfico son relativamente diferentes. Al parecer la patogenicidad del VIH-2 es menor a la del VIH-1. Una característica que distingue a los lentivirus de los otros retrovirus es la complejidad de su genoma; estos virus poseen tres genes estructurales: *env*, *gag* y *pol* (Guan et al. 2014).

El VIH afecta el sistema inmunitario y debilita los sistemas de vigilancia y defensa contra las infecciones y algunos tipos de cáncer. A medida que el virus destruye las células inmunitarias y altera su función, la persona infectada se va volviendo gradualmente inmunodeficiente. La función inmunitaria se suele medir mediante el recuento de linfocitos T CD4+. La fase más avanzada de la infección por el VIH se conoce como síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y puede tardar entre 2 y 15 años en manifestarse, dependiendo del individuo (Ndugwa Kabwama y Berg-Beckhoff 2015).

El VIH se puede transmitir por el contacto con diversos líquidos corporales de personas infectadas, como la sangre, la leche materna, el semen o las secreciones vaginales. No es posible contagiarse por el contacto casual (Kalichman et al. 2015).

Al cabo de unas semanas de la infección se presenta una enfermedad leve similar a la mononucleosis, que se caracteriza por la presencia de fiebre, faringoamigdalitis, malestar general y linfadenopatía cervical, que persisten durante una o dos semanas. Después de este tiempo, los síntomas desaparecen por completo y las personas infectadas permanecen asintomáticas durante años, de 5 a 15 años en promedio. Posteriormente se presentan síntomas inespecíficos, como linfadenopatía, anorexia,

fiebre y sudoración nocturna. Es frecuente la presencia de enfermedades oportunistas, como el herpes zóster, la candidiasis orofaríngea o vulvovaginal, diarrea crónica, tuberculosis pulmonar y extrapulmonar, diferentes tipos de neoplasias como el sarcoma de Kaposi o el linfoma de Burkitt, retinitis por citomegalovirus, tuberculosis, síndrome de desgaste progresivo y encefalopatía por VIH. La severidad de las infecciones oportunistas generalmente se correlaciona con la disfunción del sistema inmune (Havlin y Currier 2015).

El conocimiento de la historia natural de la enfermedad, la patogenia, biología y nuevos métodos de laboratorio se han conjuntado para poder realizar un diagnóstico oportuno de la infección (Maartens et al. 2014)

El diagnóstico se basa en métodos que detectan anticuerpos en contra del virus, esto se debe a que los anticuerpos contra el VIH se producen en las primeras semanas siguientes al contacto y persisten durante toda la vida del paciente (van Sighem et al. 2015). El diagnóstico de la infección por el VIH se puede realizar mediante diferentes pruebas: las *pruebas presuntivas o de tamizaje* presentan una alta sensibilidad y alta especificidad y se utilizan como primera opción en individuos en los que se sospecha de infección por el VIH. Entre ellas están los ensayos inmunoenzimáticos como la ELISA en todas sus variantes, aglutinaciones, pruebas rápidas hasta las inmunocromatografías. Todas las pruebas de tamizaje deben ser confirmadas. Las *pruebas confirmatorias* presentan una buena sensibilidad y una excelente especificidad; la más utilizada de todas es la inmunoelectrotransferencia mejor conocido como Western blot, y por ultimo las *pruebas suplementarias, las cuales* permiten predecir la progresión de la enfermedad y valorar el estado inmune del paciente; la cuenta de linfocitos T CD4+ y de carga viral, son los marcadores de progresión más utilizados para el seguimiento clínico de pacientes VIH positivos (Cornett y Kim 2013).

Todas las mujeres embarazadas deben hacerse la prueba para la infección por el VIH durante la primera visita prenatal. Una segunda prueba durante el tercer trimestre, preferiblemente a antes de la semana 36 de gestación, se debe considerar para todas las



mujeres embarazadas. Las mujeres embarazadas deben ser informadas acerca de la prueba del VIH como parte del panel de pruebas prenatales (Chou et al. 2012).

En ausencia del tratamiento antirretroviral en una mujer embarazada diagnosticada con la infección por VIH, el riesgo de transmitir el virus a su recién nacido es de aproximadamente 30%, pero puede reducirse a menos del 2% si se emplea un tratamiento antirretroviral, las intervenciones obstétricas como la cesárea electiva a las 38 semanas de embarazo, y evitar la lactancia materna (Florida et al. 2015).

El 30 de Junio de 2015, la OMS confirmó que Cuba se convirtió en el primer país del mundo en eliminar la transmisión de madre a hijo del VIH y la sífilis (Gulland 2015).

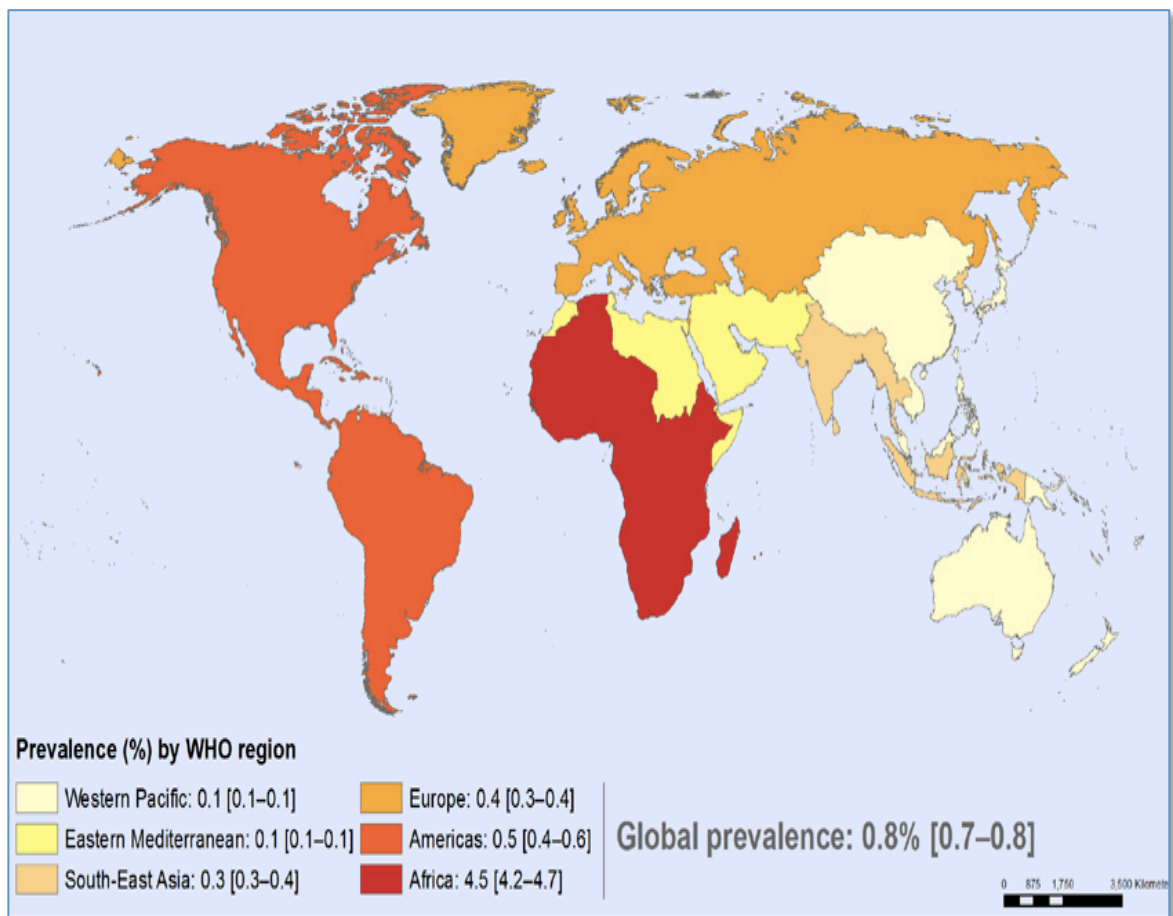
En el 2013, 35 millones de personas vivían con el VIH, desde el comienzo de la epidemia, aproximadamente 78 millones de personas contrajeron la infección por el VIH y 39 millones de personas han fallecido a causa de enfermedades relacionadas con el VIH. Los casos de nuevas infecciones por el VIH han descendido en un 38% desde 2001; a nivel mundial, 2.1 millones de personas contrajeron la infección por el VIH en 2013, en comparación con los 3.4 millones de casos registrados en 2001 (Lou et al. 2014).

Los casos de muerte relacionados con el SIDA se han reducido en un 35% desde el 2005; en el año 2013, fallecieron 1.5 millones de personas en todo el mundo por causas relacionadas con el SIDA, frente a los 2.4 millones registrados en 2005. En 2013, aproximadamente 12.9 millones (37%) de personas que vivían con el VIH tuvieron acceso a la terapia antirretroviral (Yaya et al. 2015).

En América latina en el año 2013, 1.6 millones de personas vivían con el VIH; se produjeron en la región aproximadamente 94.000 nuevas infecciones por el VIH; 47.000 personas murieron por causas relacionadas con el SIDA; la cobertura del tratamiento llegó al 45% de las personas que viven con el virus (Teva et al. 2012).

México tiene una epidemia concentrada, la cual afecta principalmente a las siguientes poblaciones clave: hombres que tienen sexo con otros hombres, usuarios de drogas inyectadas, trabajadores y trabajadoras del sexo comercial, personas transgénero, transexual y travestis (Rodríguez et al. 2013).

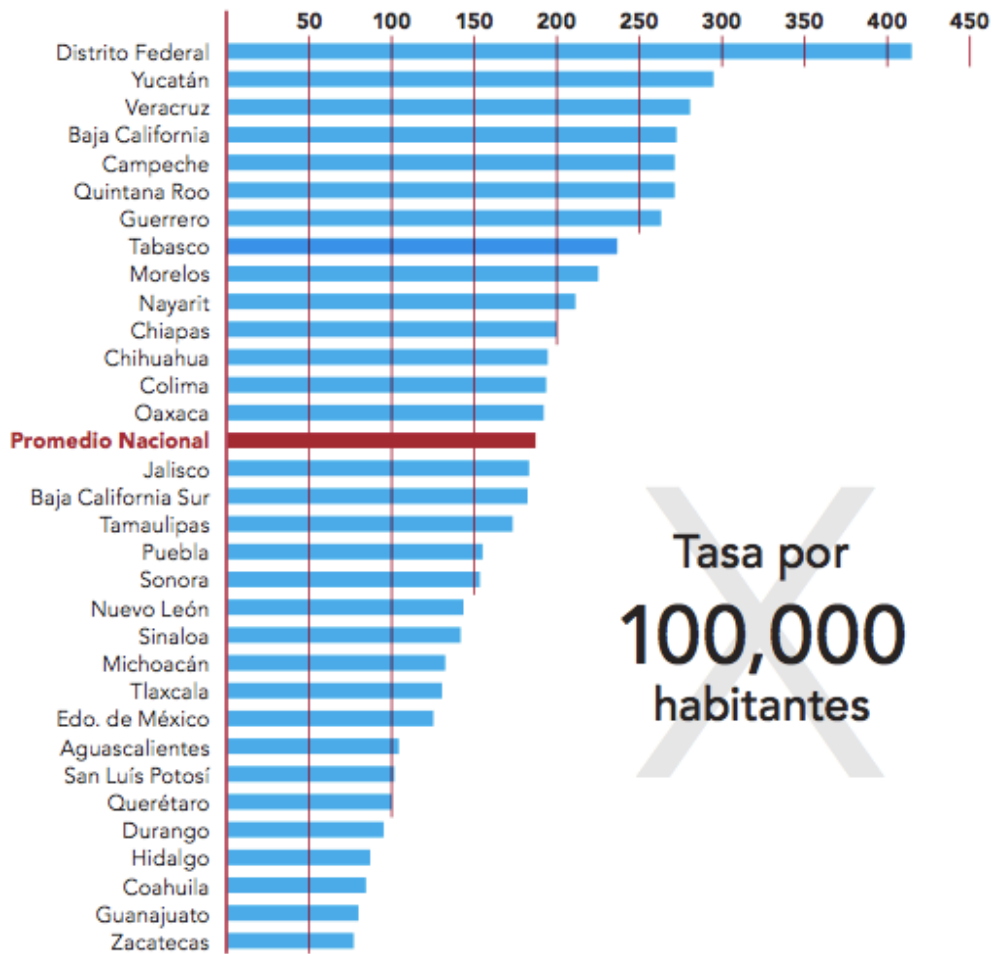
La prevalencia global del VIH se estima que es del 0.8%; en América la prevalencia de VIH es de 0.5% aproximadamente (Figura 3).



**Figura 3.** Prevalencia de VIH por región, OMS 2013

En México en el año 2003, se logró que las personas sin seguridad social tuvieran acceso universal y gratuito a la terapia antirretroviral contra el VIH y el SIDA (Hernandez-Avila et al. 2015). A finales del 2013, 89 mil 410 personas estaban

recibiendo antirretrovirales en todas las instituciones de salud públicas y privadas. En ese año, la Secretaría de Salud atendió a 57,073 personas con un costo promedio anual de \$44,997 pesos por tratamiento (2015). En la figura 4 se muestra la incidencia acumulada de casos de VIH y SIDA en las diferentes entidades federativas de México desde 1983 al 2014.



**Figura 4.** Incidencia acumulada de los casos de VIH y SIDA en México desde 1983 a 2014.

## 2.10 Virus de Hepatitis C - VHC

El VHC pertenece a la familia *Flaviviridae*, del género *Hepacavirus*, tiene simetría icosaédrica, genoma de RNA de cadena sencilla y polaridad positiva, es envuelto, se divide en 6 subtipos (Wu et al. 2015).

La hepatitis C es una infección aguda y crónica. Por lo general, la infección aguda es asintomática y muy raramente se asocia a una enfermedad potencialmente mortal. Aproximadamente un 15 a 45% de las personas infectadas eliminan el virus espontáneamente en un plazo de seis meses, sin necesidad de tratamiento alguno. El restante de las personas desarrollarán la infección crónica. De esas personas, el 15 a 30% desarrollarán cirrosis hepática en un plazo aproximadamente de 20 años (Fabrizi et al. 2015).

El VHC se transmite por vía sanguínea; generalmente se transmite al consumir drogas inyectables, mediante el uso compartido de material de inyección; en entornos sanitarios, debido a la reutilización o la esterilización inadecuada de equipo médico, especialmente jeringas y agujas; en algunos países, la hepatitis C se transmite a través de la transfusión de sangre y productos sanguíneos que no han sido examinados. El VHC se puede transmitir también por vía sexual, y puede pasar de una madre infectada, al producto; sin embargo, esas formas de transmisión son menos comunes. La hepatitis C no se transmite a través de la leche materna, los alimentos o el agua, ni por contacto ocasional, por ejemplo, abrazos, besos y comidas o bebidas compartidas con una persona infectada (Patman 2014).

El período de incubación de la hepatitis C puede variar de dos semanas a seis meses; tras la infección inicial, aproximadamente un 80% de las personas no presentan ningún síntoma. Los pacientes con sintomatología aguda pueden presentar fiebre, cansancio, inapetencia, náuseas, vómitos, dolor abdominal, orinas oscuras, heces claras, dolores articulares e ictericia (Michel et al. 2010).

La hepatitis aguda es la enfermedad clásica, esta se divide en cuatro etapas: la primera etapa es la *fase de incubación* que puede variar desde 15 a 180 días; la siguiente etapa es la *fase prodrómica*, la cual se caracteriza por manifestaciones clínicas inespecíficas como malestar general, fatiga, letargia y anorexia; la tercera etapa es la *fase icterica*; en esta fase se presentan las manifestaciones clásicas de la hepatitis: ictericia, acolia, coluria, puede haber náusea, vómito, persiste el malestar general y la anorexia y la por último la *fase de convalecencia*, en la cual el paciente se recupera, recobra el apetito y desaparecen los síntomas, sin embargo la fatiga puede persistir durante varias semanas (Bennett et al. 2015).

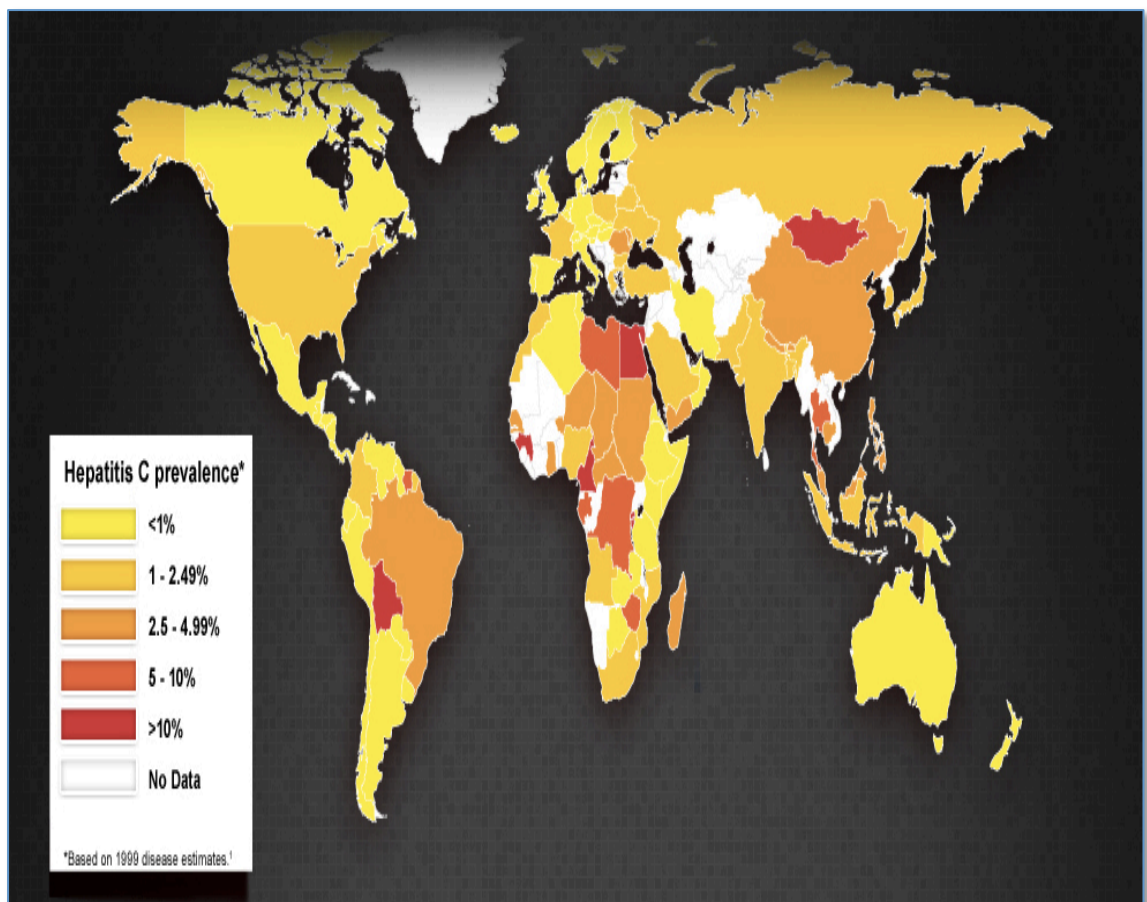
En el caso de la hepatitis fulminante, durante la fase icterica, el paciente presenta signos de falla hepática o de encefalopatía hepática, caracterizadas por cambios en la conducta, alteraciones del ciclo del sueño y dificultad para concentrarse. Repentinamente el paciente entra en estado de coma y muere (Coriat y Podevin 2008).

En el caso de la hepatitis crónica, el virus permanece de manera latente en el hepatocito, se caracteriza por la presencia de síntomas completamente inespecíficos como fatiga y dolor corporal intermitente. Algunas veces puede presentarse náusea, anorexia, pérdida de peso y dolor abdominal. La cronicidad se presenta en el 60-70% para el virus (Shiffman et al. 2015).

El VHC es un importante problema de salud pública. A nivel mundial, se estima que 180 millones de personas están infectadas, y se estima una prevalencia aproximada del 2,8% (figura 5). La prevalencia real del VHC es difícil de evaluar porque las pruebas serológicas no discriminan entre la infección aguda, crónica o una infección resuelta, y los grupos analizados en la mayoría de los países no son representativos de la población general, tales como los donantes de sangre, los consumidores de drogas, o personas con prácticas sexuales de alto riesgo (Kinkel et al. 2015).

En América Latina, la infección por el VHC representa un grave problema de salud, el cálculo de la prevalencia general VHC es de 0.6 a 1.5% (Mendez-Sanchez et

al. 2010). Se estima que la incidencia de la hepatitis C en México es de 35.000 nuevos casos de personas infectadas cada año . En México, la prevalencia es de 1.2 a 1.4% en la población abierta y 30 a 35% en pacientes con hepatitis activa (Munoz-Espinosa et al. 2015). En México, la cirrosis ha mostrado una tendencia creciente, pasando de 12.058 casos en 2005 a 12.996 casos en 2006 . Además, la cirrosis es la segunda causa de muerte en el grupo de edad de 15 a 64 años de edad, siendo tres veces mayor en hombres que en mujeres. Puebla es el estado mexicano con la mayor mortalidad por cirrosis hepática (Torres-Poveda et al. 2011).



**Figura 5.** Prevalencia de VHC por país, OMS 2013

## 2.11 Virus del herpes simple 1 y 2 – VHS- 1/-2

La familia *Herpesviridae* incluye 80 especies de virus herpes ampliamente distribuidos en la naturaleza, que afectan numerosas especies de animales. Sólo 5 infectan a los humanos, siendo este único reservorio: el VHS-1, el VHS-2, Varicella zoster, CMV y el Virus de Epstein-Barr. La infección humana tiene 3 propiedades que la caracterizan: latencia, persistencia y recurrencia, que demuestran la adaptación de estos virus a la especie humana y explica que las infecciones por estos virus sean bien conocidas desde su antigüedad (Chisholm y Lopez 2011).

El genoma del virión de herpes es DNA bicatenario lineal que va desde 120 mil a 230 mil pares de bases, se localiza en el núcleo, el cual está rodeado por una cápside icosaédrica con 160 capsómeros y ésta a su vez está cubierta por una envoltura lipídica con glicoproteínas virales. En el espacio entre la envoltura y la cápside se encuentran enzimas y proteínas virales. El diámetro del virión es de 180 a 200 nm (Bauer et al. 2013).

La infección por el VHS-1 es muy contagiosa, frecuente y endémica en todo el mundo. Dura toda la vida y no tiene cura, aunque hay tratamientos que pueden aliviar los síntomas. La infección se transmite por contacto boca a boca y causa sobre todo el herpes labial u orolabial. Sin embargo, el VHS-1 también puede transmitirse a los genitales por contacto orogenital, caso en el que produce herpes genital (Wald 2006).

La infección por el VHS-2 se transmite sobre todo por vía sexual. Dura toda vida y no tiene cura. Se calcula que cada año se infectan con este virus unos 20 millones de personas. El VHS-2 causa herpes genital, que se caracteriza por la aparición ocasional de úlceras genitales dolorosas. El herpes genital primario se caracteriza por fiebre, cefalea, astenia y mialgias. Los síntomas locales predominantemente son dolor, prurito, disuria, exudado uretral y vaginal, acompañado de adenopatías inguinales. La afectación uretral y cervical está presente en el 80% de las mujeres con el primer episodio de herpes genital. La mayoría de las personas infectadas por el VHS-2 no saben que lo están. La

infección neonatal por el VHS-2 es rara, pero tiene una elevada morbimortalidad (Ross et al. 2009).

Las infecciones localizadas en los órganos sexuales, recurrencias o primeros episodios, así como la infección diseminada en la embarazada pueden tener consecuencias fatales. La primoinfección en las primeras 20 semanas de gestación se asocia al aumento de la frecuencia de aborto espontáneo, prematuridad y malformaciones congénitas (Yasmeen y Ibhanebhor 2014). El parto vaginal en mujeres que desarrollan herpes genital primario inmediatamente antes del parto expone al bebé al riesgo de contraer herpes neonatal (Koch et al. 2009).

La proporción de herpes genitales por el VHS-1 ha aumentado en varias de las regiones más desarrolladas, como los Estados Unidos de América, Europa Occidental o Australia y Nueva Zelanda, sobre todo entre los jóvenes. La infección por VHS-1 es frecuente en sitios hacinados y con condiciones precarias de higiene se tienen porcentajes de 90% de la población tienen anticuerpos antivirales (Veltri et al. 2002). La infección por el VHS-2 es un problema mundial, y se calcula que hay en el mundo 400 millones de personas infectadas. En 2012, la prevalencia estimada de la infección era más elevada en África (31,5%), seguida de las Américas (14,4%). También se ha verificado que aumenta con la edad, pese a que el mayor número de infecciones se produce en adolescentes. Hay más mujeres que hombres infectados por el VHS-2: 267 y 150 millones, respectivamente, según las estimaciones de 2012 (Abbai et al. 2015; Burcea et al. 2015).



## 2.12 *Trichomonas vaginalis*

Es un protozoo unicelular flagelado. Es de forma piriforme, posee 5 flagelos, cuatro anteriores libres y uno sobre la membrana ondulante, un axostilo que emerge por el extremo posterior. Se desarrolla adecuadamente en las condiciones microaeróbicas de la vagina. Se reproduce por división binaria (O'Sullivan 1967).

Es una infección de transmisión sexual. Aunque se ha indicado la posibilidad de transmisión no venérea, no existen casos bien documentados. El período de incubación va de 5 a 30 días. Se estima que del 10 al 50% de las mujeres infectadas permanece asintomático. El cuadro clínico incluye: descarga vaginal aproximadamente en un 42% de coloración variable (amarillenta, verdosa o grisácea); espumosa en un 10% de los casos; olor, con cierta frecuencia fétido en el 50% de las pacientes aproximadamente, edema o eritema en pared vaginal y cérvix desde un 22% a 37%, prurito e irritación. El "cérvix en fresa", debido a eritema y hemorragias puntiformes, puede identificarse mediante colposcopia, pero difícilmente mediante la exploración habitual con espejo vaginal, esta manifestación se reporta en un 2 % de los casos (Kurth et al. 2004). También pueden presentarse disuria, dispareunia, dolor abdominal bajo. Los signos y síntomas pueden acentuarse durante o después de la menstruación. Son poco frecuentes los reportes de endometritis y salpingitis. En mujeres embarazadas deben contemplarse: aborto, parto prematuro, ruptura prematura de membranas fetales, infección del producto, endometritis postparto (Faro 1994).

La inflamación del tracto genital bajo causado por *T. vaginalis* incrementa el riesgo de infección por VIH. En mujeres con VIH se ha encontrado una mayor prevalencia de la infección comparado con las mujeres negativas (Kurnatowska y Komorowska 1990).

La vaginitis, cervicitis y uretritis por *T. vaginalis* son de las manifestaciones más conocidas en el mundo; se estima que entre 120 a 180 millones de mujeres sufren la infección anualmente. La tricomoniasis es la infección más común transmitida

sexualmente no viral en los Estados Unidos, que afecta a un estimado de 3,7 millones de personas (Kissinger 2015).

El pH de la secreción vaginal normal va de 3.8 a 4.2. Un pH mayor a 4.5 se observa en aproximadamente 80 % de las mujeres con vaginosis bacteriana e infección por *T. vaginalis* (Lopez-Monteon et al. 2013).

En México la "Información Epidemiológica de Morbilidad Anuario 2011-Versión Ejecutiva 2011", emitida por la Secretaría de Salud y la Dirección General de Epidemiología (DGE) en 2012, la tricomoniasis urogenital ocupó el 12o. lugar entre las "Veinte principales causas de enfermedades transmisibles", con 113,843 casos notificados, equivalentes a 104.23 casos/100 000 habitantes. Las mujeres fueron más afectadas que los hombres en una proporción de 36:1, y el grupo de edad con mayor número de casos correspondió al de 25 a 44 años (Lopez-Monteon, Gomez-Figueroa et al. 2013).

La infección por *T. vaginalis* también puede ser transmitida a neonatos al paso por el canal de parto infectado: Alrededor de un 2 - 5% de los productos femeninos nacidos de madres infectadas desarrollan vaginitis. También pueden presentarse manifestaciones respiratorias. Cabe señalar que en el año de 2011, se reportaron en México 94 casos de infecciones por *T. vaginalis* en menores de un año de edad (Lopez-Monteon, Gomez-Figueroa et al. 2013).

Para el diagnóstico de la tricomoniasis se pueden realizar diferentes técnicas, en las cuales se puede hacer un examen en fresco, el cual es el método convencional tiene una sensibilidad del 50 al 60% y una especificidad mayor al 90%, a diferencia de la identificación por métodos moleculares donde la sensibilidad es del 95% y la especificidad mayor a 95% (Khatoon et al. 2014).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

### **3. JUSTIFICACIÓN**

En México y también a nivel mundial, las ITS son un problema de salud pública.

A nivel nacional, las ITS ocupan uno de los cinco primeros lugares de demanda de consulta de atención médica y se ubican entre las diez primeras causas de morbilidad general en el grupo de 15 a 44 años de edad.

Existe poca información de los agentes causales de las ITS en nuestro país, ya que no existen estudios y relevantes de la detección de estos microorganismos y de estudios sobre la asociación con factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos; así como las coinfecciones con diferentes agentes patógenos asociados a las ITS.

## **4. OBJETIVOS**

## 4.1 Objetivo general

Determinar la frecuencia de microorganismos asociados con infecciones de transmisión sexual en pacientes que acuden a consulta de ginecología y obstetricia.

## 4.2 Objetivos particulares

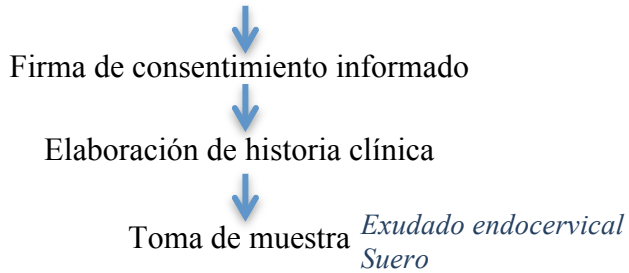
1. Elaboración de historias clínicas relacionadas con los diferentes factores de riesgo asociados a una infecciones genitourinarias en pacientes que acuden a consulta de ginecología y obstetricia.
2. Determinar la frecuencia de agentes etiológicos de las infecciones vaginales mediante cultivos microbiológicos.
3. Identificar aislamientos de *Chlamydia trachomatis* a partir de especímenes clínicos mediante inmunofluorescencia directa.
4. Determinar la frecuencia de *T. pallidum*, VIH y VHC mediante serología
5. Determinar la frecuencia de *C. trachomatis*, *T. pallidum*, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, VPH, VHS-1, VHS-2 y *T. vaginalis* mediante la amplificación de ácidos nucleicos .
6. Genotipificar los aislamientos clínicos positivos para *C. trachomatis* y VPH mediante polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción.
7. Correlacionar los microorganismos detectados con los diferentes factores de riesgo.
8. Identificar las coinfecciones de los microorganismos detectados mediante las diferentes metodologías utilizadas en la población estudiada.

## **5. MATERIAL Y MÉTODOS**

## 5. MATERIAL Y MÉTODOS

### 5.1 Estrategia general

Se estudió una población que acudió a consulta ginecológica en el Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde” (n=662).



#### **Bacterias aerobias y levaduras**

-Detectados en el cultivo microbiológico por procedimientos estándares

#### ***Chlamydia trachomatis***

-Detectado por IFD usando un anticuerpo monoclonal anti-*Chlamydia*.

-Detectado por PCR mediante amplificación del gen *OmpA*

-Se determinó el genotipo mediante RFLP con las enzimas de restricción *AluI*

#### ***Treponema pallidum***

-Detectado por quimioluminiscencia (anticuerpos IgG e IgM)

#### **Virus de papiloma humano (VPH)**

-Detectado por PCR

-Se determinó el genotipo mediante RFLP con la enzima de restricción *HpyCH4V*

#### **Virus de inmunodeficiencia humana (VIH)**

-Detectado por ELISA y confirmado por Western blot

#### **Virus de Hepatitis C (VHC)**

-Detectado por inmunocromatografía

#### **PCR-Múltiple**

- Detección de *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, VHS-1, VHS-2, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae* y *T. pallidum*.



## **5.2 Comité de ética**

Este estudio se realizó con la aprobación del Comité de Ética en Investigación del Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" en Jalisco, México, el día 30 de Agosto del 2013 con el registro de Aprobación 062/13.

## **5.3 Consentimiento informado**

Se obtuvo por escrito el consentimiento informado, previamente aprobado por el Comité de Enseñanza e Investigación y el Comité de Ética, en el total de las pacientes. En el caso de las pacientes que fueron menores de edad, el consentimiento informado por escrito se obtuvo de los padres o tutores al momento de realizar la toma de las muestras.

A las pacientes que participaron en el estudio se les dio una explicación de los procedimientos en un lenguaje claro, sin tecnicismos y breve a fin de que comprendieran el estudio, los riesgos y beneficios de su participación voluntaria.

## **5.4 Población de estudio**

Se estudiaron 662 pacientes que acudieron a consulta de ginecología y obstetricia en el Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", desde septiembre de 2013 hasta agosto de 2014.

### **5.4.1 Criterios de inclusión**

- Mujeres que acudieron por primera vez
- Firma consentimiento informado

### **5.4.2 Criterios de exclusión**

- Mujeres que no firmaron consentimiento informado

### **5.4.3 Criterios de rechazo**

- Toma de muestra inadecuada

## **5.5 Historia clínica**

A cada paciente se le efectuó una entrevista e historia clínica acerca de factores de riesgo específicos para la identificación de signos y síntomas compatibles con la presencia de microorganismos asociados a infecciones genitourinarias.

### **5.5.1 Factores socio-demográficos:**

- Edad de la paciente
- Ocupación: labores del hogar, empleada, comerciante, profesionista o estudiante
- Estado civil: soltera, viuda, divorciada, separada, casada o unión libre

### **5.5.2 Factores de comportamiento:**

- Consumo de alcohol y/o tabaco
- Edad de inicio de actividad sexual
- Número de parejas sexuales
- Métodos anticonceptivos utilizados: hormonales, preservativo, dispositivo intrauterino (DIU), obstrucción tubar bilateral o nunca ha utilizado

### **5.5.3 Factores biológicos:**

- Edad de la primer menstruación
- Fecha de la última menstruación
- Embarazada durante la toma de la muestra
- Número de embarazos previos
- Complicaciones en embarazos previos: infecciones, sangrado, amenazas de aborto, partos prematuros y/o embarazos ectópicos
- Abortos previos: edad gestacional, si se realizó legrado uterinos, huevo muerto retenido, muerte fetal en útero o embarazo anembriónico
- Número de hijos
- Molestias al orinar: sangrado, comezón y/o frecuencia
- Dolor menstrual: intenso, moderado o leve

- Flujo vaginal: abundante, moderado, escaso, amarillo, verde, café y/o blanco,
- Molestias en la relación sexual: sangrado, dolor/ardor, picazón y/o dolor pélvico;  
Enfermedad inflamatoria pélvica
- Infecciones urinarias y/o vaginales previas
- Condilomas o verrugas
- Tratamientos a infecciones previas.

## 5.6 Recolección de muestras

A cada paciente se le recolectaron las siguientes muestras: 2 exudados endocervicales tomados con hisopo de Dacrón y transportados en medio 2-Sacarosa Fosfato (2SP) con 10% suero fetal bovino; 2 exudados endocervicales tomado con hisopo de algodón transportados en medio Stuart y la toma de suero se recolectó en 1 tubo sin anticoagulante.

Para la recolección de las muestras endocervicales, la toma la realizó el ginecólogo; la paciente se colocó en posición ginecológica y se introdujo el espéculo, lo primero que se realizó, fue la eliminación de todas las secreciones y descargas del canal cervical mediante una torunda, posterior a esto se introdujo el hisopo de Dacrón aproximadamente de 1 a 2 cm en el canal endocervical, se rotó el hisopo contra la pared del canal y por lo menos se giro dos veces, se extrajo el hisopo sin que tocara ninguna superficie vaginal y se introdujo en el tubo con el medio de transporte 2SP. Para la toma del suero, se les pidió a las pacientes un ayuno de 6 horas mínimo.

Las muestras recolectadas fueron enviadas al laboratorio de diagnóstico microbiológico de alta especialidad, en el servicio de Gastroenterología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González”.

Para la conservación de la muestra se mantuvieron en refrigeración hasta un máximo de una semana y posterior a ello se llevaron a congelación de  $-70^{\circ}\text{C}$ .

## **5.10 Detección de bacterias aerobias y hongos**

Al llegar las muestras al laboratorio se realizó un examen en fresco; para llevar a cabo esto, se mezcló en un portaobjetos una gota de secreción vaginal con una solución salina atemperada a 37°C, se colocó un cubreobjetos y se observó al microscopio en 40X.

Para la realización del cultivo microbiológico, se realizó la inoculación e incubación de las muestras; se utilizaron los medios de cultivos indicados en el procedimiento operativo para la siembra de especímenes biológicos (MOP-647-07-PO-052). Se atemperaron las placas, se sembraron las muestras en agar Chocolate, agar Thayer-Martin, agar Sangre, y agar EMB. Se incubaron los medios a 35°C en 5% de CO<sub>2</sub> en un ambiente húmedo; se revisaron las placas después de 24 horas de incubación, buscando la presencia de colonias sospechosas de los patógenos primarios, los cuales se identificaron con las pruebas presuntivas y posteriormente con las pruebas confirmatorias.

## 5.11 Extracción de DNA

A partir de un hisopo con muestra de exudado endocervical se realizó la extracción de DNA, se introdujo el hisopo en un tubo con 200 Tris-HCl 100 mM, se agitó por vortex, posterior a esto se le añadieron 150  $\mu\text{g}$  de lisozima. Esta suspensión se dejó en baño de agua a  $37^{\circ}\text{C}$  toda la noche (Baño de agua LAB-LINE®, Imperial IV). Posterior a la incubación se añadieron 200  $\mu\text{L}$  de TE 1X con SDS al 1% y 6  $\mu\text{L}$  de proteinasa K (10mg/mL) y se incubó a  $55^{\circ}$  por 2 h. Después se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de fenol saturado, 250  $\mu\text{L}$  de SEVAG (cloroformo-alcohol isoamílico) y 100  $\mu\text{L}$  de TE 1X y se agitó por inversión durante 5 min. Enseguida la mezcla se centrifugó a 14,000 rpm por 8 min (Centrífuga, MicroliteRF). La fase acuosa se transfirió a otro tubo, y se repitió el paso de la extracción con fenol saturado, SEVAG y TE 1X. Una vez que se obtuvo por segunda vez la fase acuosa, se le añadieron 2.33 volúmenes de etanol absoluto en donde se observó la formación de la hebra de DNA. Se dejó precipitar el DNA a  $-20^{\circ}\text{C}$  por 1 h. Posterior a la precipitación se centrifugó a 14,000 rpm por 5 min y el sedimento se lavó dos veces con 350  $\mu\text{L}$  de etanol al 70%. El sedimento se dejó secar toda la noche, al siguiente día se resuspendió en 100  $\mu\text{L}$  de TE 1X y se incubó a  $65^{\circ}\text{C}$  por 15 min. El DNA se almacenó a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su utilización.

## 5.12 Detección de *C. trachomatis*

### 5.12.1 Ensayo de inmunofluorescencia directa

*C. trachomatis* se detectó por diferentes metodologías, una de ellas fue por inmunofluorescencia directa (IFD) usando un anticuerpo monoclonal anti-*Chlamydia* (BioMérieux, Francia).

Primero se realizó la fijación de las muestras con metanol en portaobjetos limpios, posterior a ello se agregó una gota del Reactivo 1, el cual contenía anticuerpos monoclonales de murino marcados con fluorescencia, un contra-colorante (azul de Evans), mertiolato sódico y azida sódica; posterior a ello los portaobjetos se incubaron durante 30 min a una temperatura controlada de 25° C en una cámara húmeda; después se lavaron los portaobjetos en un buffer fosfato salino (PBS), y por último se secaron los portaobjetos y se agregó el medio de montaje.

Las muestras se observaron con un microscopio de fluorescencia (Zeiss Axio Scope.A1-, NY). Para cada observación se verificó la calidad del reactivo procesando una laminilla de control negativo y una de control positivo.

### 5.12.2 Análisis del gen *OmpA* de *Chlamydia trachomatis*

El gen *OmpA* de la MOMP de *C. trachomatis* fue amplificado mediante una PCR semi-anidada utilizando la metodología descrita por Lan y colaboradores en 1993 (Lan, Walboomers et al. 1993). La mezcla de reacción del volumen total de la primer PCR fue de 25 µL, que consistió en 2.5 µL de PCR-buffer 10X, 100 ng de DNA, 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 200 µM de cada dNTP, y 1 U de Taq polimerasa (Bioline, London, UK), los primers que se usaron fueron SERO1A (5'-ATGAAAAAACTCTTGAAATCGG-3') y SERO2A (5'-TTT CTA GAT CTT CAT TCT TGT T-3'). Las condiciones de la amplificación comenzó con una etapa de desnaturalización inicial de 7 minutos a 94°C; seguido de 40 ciclos de desnaturalización de 3 minutos a 95°C, 3 minutos a 45°C, y 3 minutos a 72°C;



al terminar los 40 ciclos se realizó una extensión final de 7 minutos a 72°C. Posterior a esto se realizó la segunda PCR, en la cual se utilizó 0.5 µl del producto de la primer PCR, esta segunda PCR se realizó con los mismos reactivos y condiciones excepto los primers, que eran SERO2A, y un primer anidado PCTM3 (5'-TCCTTGCAAGCTCTGCCTGTGGGGAATCCT-3').

Los productos de PCR de la segunda ronda, se verificaron mediante una electroforesis convencional en un gel de agarosa al 1.5% (Cámara de electroforesis Thermo Maxicel Primo EC 340), teñido con bromuro de etidio (2 µg/mL) y revelado en un transiluminador UV (Fotodocumentador UVP Bioimaging Systems), en la cual se obtuvo un producto de aproximadamente de 1000 pb.

### **5.12.3 Genotipificación de *C. trachomatis* mediante RFLP**

Las muestras positivas por la PCR semi-anidada fueron genotipificadas mediante RFLP, esto se llevó a cabo mediante la metodología previamente descrita por Sayada y colaboradores (Sayada, Denamur et al. 1991), 10 µl del producto de la PCR semi-anidada fueron digeridos con 2.5 U de la enzima de restricción *Alu I* (Promega, Madison, WI) durante 12 horas a 37°C. Dependiendo de los patrones obtenidos, ciertos productos fueron digeridos con la enzima de restricción *Hinf I* (Promega, Madison, WI) y se incubaron durante 12 horas a 37°C. Los genotipos de *C. trachomatis* fueron identificados de acuerdo a los patrones de restricción que se muestran en la tabla 1, en un gel de agarosa al 3.5% (Cámara de electroforesis Thermo Maxicel Primo EC 340), teñido con bromuro de etidio (2 µg/mL) y revelado en un transiluminador UV (Fotodocumentador UVP Bioimaging Systems).

**Tabla 1.** Pesos moleculares de las bandas de los diferentes genotipos de *C. trachomatis*.

<b>A</b>	<b>B</b>	<b>Ba</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>Da</b>	<b>E</b>	<b>F</b>	<b>G</b>	<b>H</b>	<b>I</b>	<b>Ia</b>	<b>J</b>	<b>K</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L2a</b>	<b>L3</b>
486	244	265	442	241	239	241	321	321	458	458	458	435	486	241	227	227	458
295	225	204	241	225	225	225	256	207	298	295	298	298	213	228	225	225	298
138	195	195	217	195	195	132	207	193	138	138	138	138	138	204	132	131	138
46	89	150	57	68	68	102	101	107	46	46	46	46	71	68	102	101	46
33	68	88	28	61	60	96	73	96	33	33	33	44	46	61	96	96	33
11	61	68	16	56	56	68	33	73	28	28	28	33	33	56	59	59	28
10	56	33	11	42	42	56	10	10	11	11	11	11	14	42	56	56	11
	33	10	10	41	41	42	9	9	10	10	10	10	11	41	48	48	10
	32			33	33	17	6					7	10	21	17	17	
	10			32	32	15								17	15	17	

## 5.13 Detección de *T. pallidum*

### 5.13.1 Ensayo de quimioluminiscencia

La detección cualitativa de los anticuerpos IgG e IgM de *T. pallidum* en suero se llevó a cabo mediante un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartícula. Este ensayo se dividió en dos pasos: en el primer paso se combinaron la muestra, las micropartículas recubiertas con antígenos de *T. pallidum* recombinantes (TpN15, TpN17, TpN47) y el diluyente, por consiguiente los anticuerpos anti-*T. pallidum* presentes en la muestra se unieron a las micropartículas recubiertas de *T. pallidum*, después del lavado, en el segundo paso, se añadió el conjugado de anti-IgG y anti-IgM humano marcado con acridinio, después de otro ciclo de lavado, se añadieron las soluciones preactivadora y activadora a la mezcla de reacción. La reacción quimioluminiscente resultante se midió como unidades de luz relativas en el equipo ARCHITECT (Young et al. 2009).

Si la señal quimioluminiscente en la muestra fue mayor o igual a la señal del punto de corte, la muestra se consideró reactiva para anti-*T. pallidum*.

## 5.14 Detección de VPH

### 5.14.1 Análisis del gen *L1*

La detección de VPH se realizó mediante PCR, amplificando una región altamente conservada del gen *L1*, previamente descrito por Manos y colaboradores en 1994 (Manos et al. 1994); la mezcla de reacción del volumen total de la reacción de la PCR fue de 25  $\mu$ L, que consistía en 2.5  $\mu$ L de PCR-buffer 10X, 100 ng de DNA, 3mM de  $MgCl_2$ , 200  $\mu$ M de cada dNTP, y 1 U de Taq polimerasa (Bioline, London, UK), los primers que se usaron fueron MY09 (5'-CGTCCMAARGGAWACTGATC-3') y MY11 (5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-3'). Las condiciones de la amplificación comenzó con una etapa de desnaturalización inicial de 3 minutos a 94°C; seguido de 35 ciclos de desnaturalización de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 55°C, y 1 minutos a 72°C; al terminar los 35 ciclos se realizó una extensión final de 5 minutos a 72°C.

Los productos de la PCR se verificaron mediante una electroforesis convencional en un gel de agarosa al 1.5% (Cámara de electroforesis Thermo Maxicel Primo EC 340), teñido con bromuro de etidio (2  $\mu$ g/mL) y revelado en un transiluminador UV (Fotodocumentador UVP Bioimaging Systems), en la cual se obtuvo un producto de aproximadamente de 450 pb.

### 5.14.2 Genotipificación de VPH mediante RFLP

Las muestras positivas para VPH fueron genotipificadas mediante el análisis de RFLP, esto se llevó a cabo mediante la metodología previamente descrita por Santiago y colaboradores en el 2006 (Santiago et al. 2006), 10  $\mu$ l del producto final de la PCR fueron digeridos con 1 U de la enzima de restricción *Hpy*CH4V (New England Biolabs, Ipswich, MA), 1.5  $\mu$ L de buffer 10X, se llevó la digestión durante 12 horas a 37°C. Los genotipos de VPH fueron identificados de acuerdo a los patrones de restricción que se muestran en la tabla 2, los cuales se observaron en un gel de agarosa al 3.5% (Cámara de electroforesis Thermo Maxicel Primo EC 340), teñido con bromuro de etidio (2  $\mu$ g/mL) y revelado en un transiluminador UV (Fotodocumentador UVP Bioimaging Systems),

**Tabla 2.** Tamaños de los fragmentos obtenidos mediante HpyCH4V de 41 genotipos.

<b>Tipo</b>	<b>Fragmentos ordenados por tamaño (pb)</b>						
<b>- Riesgo Alto</b>							
16	216	191	28	17			
18	174	144	100	37			
31	216	94	91	28	17	6	
33	244	99	89	17			
35	352	72	28				
39	328	127					
45	194	134	110	17			
51	171	133	127	21			
52	188	135	98	28			
53	171	151	83	44			
56	244	121	67	17			
58	216	99	89	28	17		
59	253	174	28				
66	114	91	72	66	58	28	
68	174	147	97	37			
73	270	160	28				
82	127	112	97	62	57		
<b>- Riesgo indeterminado</b>							
26	346	100	9				
<b>- Riesgo bajo</b>							
6	224	134	91				
11	114	91					
13	244	103	91	17			
30	244	114	91				
34	233	118	33	28	20	17	
40	174	163	57	37	24		
42	178	103	97	71			
43	143	130	90	44	28	20	9
44	321	73	61				
54	331	97	24				
55	321	73	61				
61	171	147	137				
62	224	106	62	37	20		
64	233	127	37	33	28		
67	205	168	28	20	17	11	
69	198	100	97	51	9		
70	163	116	95	45	36		
72	171	137	90	57			
74	174	147	73				
81	284	89	59	20			
83	180	137	127	8			
84	168	147	135				
91	452						

## **5.15 Detección de VIH**

La detección de VIH se realizó mediante la técnica ELISA; las pacientes que fueron positivas se les realizó una segunda prueba y se confirmó mediante un Western Blot según como dicta la Norma Oficial Mexicana.

### **5.15.1 Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas**

Para realizar la detección del VIH por ELISA, lo primero que se realizó fue la conjugación del anticuerpo con la enzima peroxidasa, posterior a ello se añadió la muestra y cualquier antígeno presente en la muestra se unió a los anticuerpos previamente marcados en la placa; después se añadió un anticuerpo de detección, el cual se unió al antígeno; además se añadió un anticuerpo secundario ligado a una enzima, el cual se unió a un anticuerpo de detección, se realizaron diferentes lavados de la placa para eliminar todas las moléculas marcadas no fijadas en forma de inmunocomplejos; se añadió el sustrato enzimático en solución, el cual se dejó reaccionar y por último se leyó la densidad óptica mediante espectrofotometría.

### **5.15.2 Western blot**

Para la confirmación del VIH por el Western blot, lo primero fue la preparación de la muestra en la cual las células se lisaron; el segundo paso fue la electroforesis en un gel de poliacrilamida y de buffer con dodecilsulfato; posterior a esto se realizó la transferencia de las proteínas desde el gel de poliacrilamida a una membrana de nitrocelulosa, esto para que fueran accesibles a la detección de los anticuerpos; se realizó el bloqueo de los lugares de unión que quedaron libres después de la transferencia; en la detección se comprobó la presencia de una determinada proteína en la membrana; se realizaron diferentes lavados para eliminar las sondas marcadas no unidas; y por último se realizó la cuantificación proteica mediante espectrometría.

## **5.16 Detección de VHC**

### **5.16.1 Ensayo de inmunocromatografía.**

La detección cualitativa de anticuerpos contra el VHC en suero se realizó mediante una inmunocromatografía de oro coloidal, para esto se utilizó la prueba rápida de Advanced Quality Rapid Anti-HCV Test, en el cual se proporcionaba el cartucho de la prueba, que contenía una almohadilla de fibra de vidrio compuesta de antígenos recombinantes del VHC, y de una membrana de nitrocelulosa compuesta de anticuerpos monoclonales anti-humano IgG derivados de ratón.

Para llevar a cabo esta prueba se adicionaron 10  $\mu$ L de suero en el pocillo “S” del cartucho, posterior a ello se colocaron dos gotas del diluyente de muestra al pocillo “D”; la mezcla de la muestra y el diluyente migraron a lo largo de la membrana de nitrocelulosa, aproximadamente durante 15 minutos. Los antígenos usados en la prueba fueron proteínas recombinantes correspondientes a regiones “core”, NS3, NS4 y NS5 altamente inmunoreactivas del VHC.

Se registró una muestra como positiva cuando el complejo anticuerpo-VHC/ conjugado fue capturado por una proteína A unida al anticuerpo inmovilizado en la membrana formando una banda de color morado en la región de la prueba; además de la banda de control; una muestra fue negativa cuando solo la banda control apareció de color morado. La banda control es el resultado de la unión del conjugado del oro coloidal a un anticuerpo anti-VHC inmovilizado en la membrana, indicando que el oro coloidal fue funcional; la ausencia de esta banda indicó que la prueba fue inválida

## 5.17 Detección de 7 patógenos de ITS

### 5.17.1 PCR-múltiple

La detección de *C. trachomatis*, *T. vaginalis*, VHS-1, VHS-2, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae* y *T. pallidum* se realizó mediante una PCR múltiple. La mezcla de reacción del volumen total de la reacción de la PCR fue de 25  $\mu$ L, que consistió en 2.5  $\mu$ L de PCR-buffer 10X, 100 ng de DNA, 3mM de MgCl<sub>2</sub>, 200  $\mu$ M de cada dNTP, y 1 U de Taq polimerasa (Bioline, London, UK), los primers que se usaron se muestran en la tabla 3. Las condiciones de la amplificación comenzó con una etapa de desnaturalización inicial de 10 minutos a 94°C; seguido de 35 ciclos de desnaturalización de 1 minuto a 94°C, 1 minuto a 62°C, y 1 minutos a 72°C; al terminar los 35 ciclos se realizó una extensión final de 10 minutos a 72°C.

Los productos de la PCR se verificaron mediante una electroforesis convencional en un gel de agarosa al 2.5% (Cámara de electroforesis Thermo Maxicel Primo EC 340), teñido con bromuro de etidio (2  $\mu$ g/mL) y revelado en un transiluminador UV (Fotodocumentador UVP Bioimaging Systems)

**Tabla 3.** Primers usados en la PCR-Múltiple.

Patógenos	Primers	Oligonucleótidos (5'-3')	Tamaño de la amplificación (pb)
<i>C. trachomatis</i>	CT F	TCTTTTAAACCTCCGGAACCCACTT	361
	CT R	GGATGGCATCGCATAGCATTCTTTG	
<i>T. pallidum</i>	TP F	GGAGAAGTTTCACTTCGTGGA	291
	TP R	CTCGCGTCATCACCGTAGTA	
Herpes simple 2	HSV-2 F	CATGGGGCGTTTGACCTC	249
	HSV-2 R	TACACAGTGATCGGGATGCT	
<i>M. genitalium</i>	MG F	ACCTTGATGGTCAGCAAAACTT	193
	MG R	CCTTTGATCTCATTCCAATCAGTA	
<i>T. vaginalis</i>	TV F	CCAGAAGTGGGCTACACACC	170
	TV R	ATACCAAGGCCGGAAGCAC	
<i>N. gonorrhoeae</i>	NG F	CGGCAGCATTCAATTTGTT	162
	NG R	AAAAAGCCGCCATTTTTGTA	
Herpes simple 1	HSV-1 F	CTGTGGTGTTTTTGGCATCA	123
	HSV-2 R	GGTTGTGGAGGAGACGTTG	



## **5.18 Análisis estadístico**

Se creó una base de datos utilizando el programa Excel (Microsoft Office, Versión 2010). Los datos fueron analizados a partir de la historia clínica y los resultados de las pruebas de laboratorio para la identificación de las ITS, así como del análisis de los resultados de las genotipificaciones.

Una vez depurada la base de datos se realizó el análisis mediante estadísticas epidemiológicas de código abierto para Salud Pública, con el software OpenEpi versión 3.03a

### **5.18.1 Estadística descriptiva**

Las variables cualitativas se resumieron mediante el cálculo de frecuencias absolutas para cada modalidad, expresadas en porcentajes. Se utilizaron representaciones gráficas en función del tipo de variable; diagrama de barras, en el caso de variables cualitativas, e histograma en el caso de variables cuantitativas.

### **5.18.2 Estadística inferencial**

Se utilizaron tablas 2 x 2 para evaluar la asociación entre un posible factor de riesgo ('Exposición') y un resultado ('Enfermedad'). Las estadísticas producidas incluyeron las pruebas de Fisher y mid-p exactos, chi-cuadrado, odds ratio (OR), razón de riesgo/prevalencia (riesgo relativo), diferencia de riesgo y fracciones etiológicas con límites de confianza calculados por varios métodos con análisis estratificado para las principales variables clínicas que fueron consideradas por su relación con el objetivo principal del trabajo.

## **RESULTADOS**

## 6. RESULTADOS

### 6.1 Datos clínicos

De aproximadamente treinta mil pacientes que acudieron al departamento de obstetricia y ginecología del Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde”, seiscientos sesenta y dos pacientes participaron en este estudio. Sólo los pacientes que asistieron a la clínica por primera vez y que aceptaran participar se incluyeron.

#### 6.1.1 Factores socio-demográficos

La media edad del grupo de mujeres de este estudio fue de 31 años en un rango de 14 a 78 años, la mayoría de las pacientes estaban en el grupo de 20 a 29 años con 38.5% (n=255); el 69.5%, (n=460) de la población estudiada se dedicaban a labores en el hogar; La mayoría de las pacientes se encontraban en convivencia conyugal con un 75.5% (n=500) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Frecuencia de los factores socio-demográficos de la población estudiada

<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 662]</b>
<b>Edad (años)</b>	
14 -19	93 (14.05)
20 – 29	93 (14.05)
30 – 39	255 (38.52)
≥ 40	186 (28.10)
<b>Ocupación</b>	129 (19.49)
Hogar	460 (69.49)
Empleada / Comerciante	460 (69.49)
Profesionista	106 (16.01)
Estudiante	63 (9.52)
<b>Estado civil</b>	33 (4.98)
Soltera	140 (21.15)
Divorciada /Separada / Viuda	140 (21.15)
Casada	22 (3.32)
Unión libre	238 (35.95)

### 6.1.2 Factores de comportamiento

De acuerdo a la entrevista realizada a las pacientes, el 21.9% (n=145) mencionó que consumía alcohol y el 30.21% (n=200) eran fumadoras; en cuanto a la edad de la primer relación sexual antes y después de los 18 años fueron porcentajes similares; la mayoría de las pacientes 52% (n=344) mencionó que ha tenido más de 2 parejas en el transcurso de su vida sexual activa. El 37.6% (n=249) mencionó usar preservativo y el 30.8% (n=204) menciona nunca haber usado ningún método anticonceptivo en su vida (Tabla 5).

**Tabla 5.** Frecuencia de los factores de comportamiento de la población estudiada

<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 662]</b>
<b>Edad de la primer relación sexual (años)</b>	
< 16 años	140 (21.15)
≥ 16 años	522 (78.85)
<b>No. de parejas sexuales</b>	
0-1	318 (48.04)
2 – 4	279 (42.15)
≥ 5	65 (9.82)
<b>Métodos anticonceptivos</b>	
Hormonales	102 (15.41)
Condón	249 (37.61)
DIU	67 (10.12)
Oclusión tubar bilateral	40 (6.04)
No usa	204 (30.82)
<b>Consumo de alcohol</b>	145 (21.90)
<b>Consumo de tabaco</b>	200 (30.21)

### 6.1.3 Factores biológicos

Al momento de realizar la toma de la muestra el 43.3% (n=287) de las pacientes se encontraban embarazadas; el 93.8% (n=621) de la población estudiada ha estado embarazada en algún momento de su vida ya sea antes o durante la toma de la muestra; en cuanto a las complicaciones de embarazos previos, las infecciones se han presentado con mayor frecuencia con un 58.3% (n=386); como complicación de embarazos previos, casi una cuarta parte de la población ha presentado por lo menos un aborto en su vida (Tabla 6).

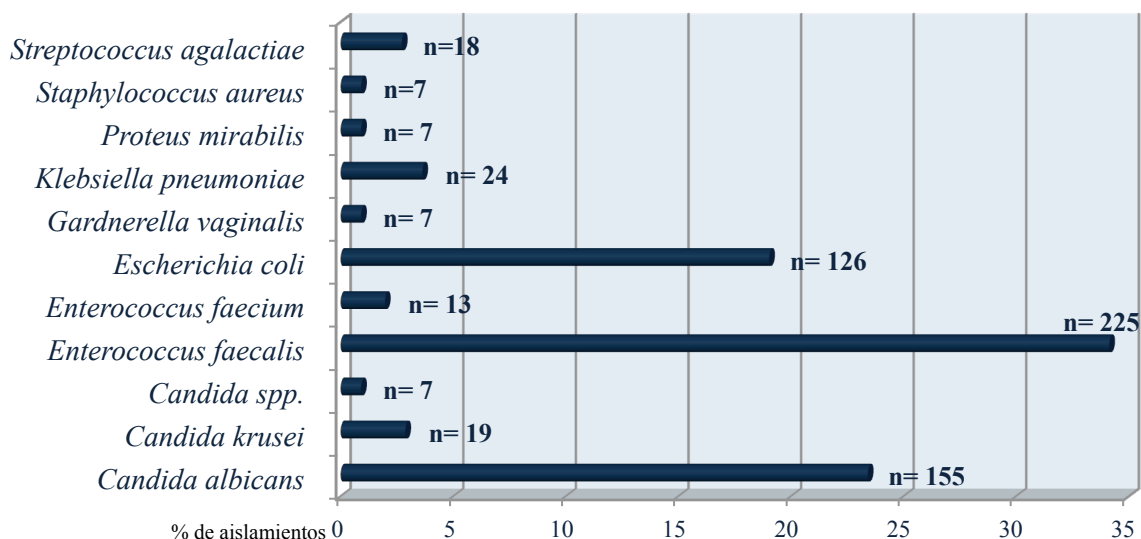
**Tabla 6.** Frecuencia de los factores biológicos de la población estudiada

<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 662]</b>
<b>Embarazada en el muestreo</b>	287 (43.35)
<b>Embarazos previos</b>	621 (93.81)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>	
Infecciones	386 (58.31)
Sangrado	69 (10.42)
Riesgo de aborto espontáneo	116 (17.52)
Parto prematuro	50 (7.55)
Embarazo ectópico	9 (1.36)
<b>Abortos previos</b>	163 (24.62)
<b>Enfermedad inflamatoria pélvica</b>	295 (44.56)
<b>Dispareunia</b>	
Dolor / Ardor	222 (33.52)
Sangrado	28 (4.23)
<b>Flujo vaginal</b>	
Cantidad	
Escaso	101 (15.22)
Moderado	322 (48.62)
Copioso	185 (27.93)
Color	
Blanco	450 (68.02)
Amarillo	194 (29.32)
Verde	45 (6.81)
Marrón	19 (2.80)
<b>Infecciones genitales previas</b>	
Infección urinaria	188 (28.40)
Infección vaginal	420 (63.40)

## 6.2 Bacterias aerobias y hongos

En el 68% (n=450) de la población se detectó por lo menos un microorganismo. Del total de las muestras positivas en el 63.5% (n=286) se aisló un microorganismo, mientras que en el 31.1% (n=140) se aislaron dos, en el 4.6% (n=21) se aislaron tres y solo en el 0.4% (n=2) se aislaron cuatro. En el 53% (n=336) de los casos, la microbiota se encontraba desplazada por estos microorganismos.

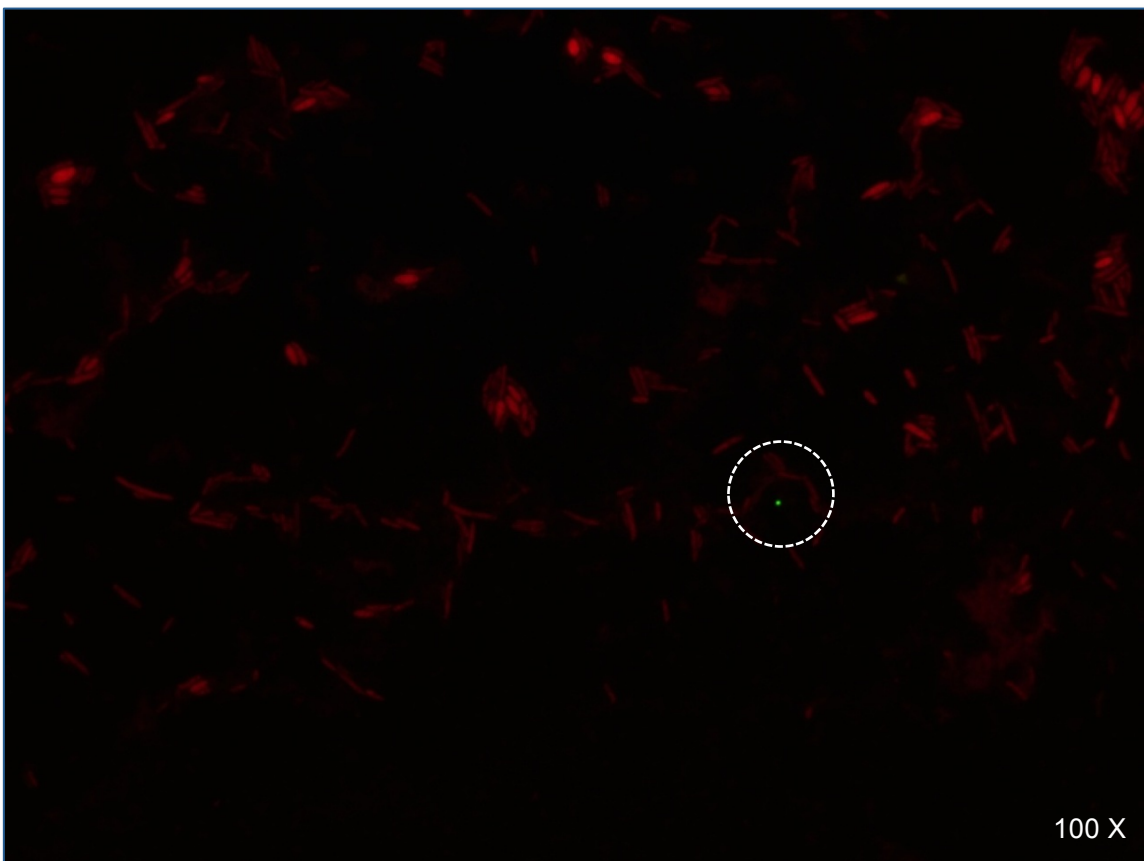
Se detectaron 28 especies en el cultivo microbiológico. Del total de la población estudiada, *Enterococcus faecalis* se detectó en mayor frecuencia con un 33.9% (n=225); seguido de *Candida albicans* con un 23.4% (n= 155) y *Escherichia coli* con un 19% (n=126). En la figura 6 se muestran los principales microorganismos detectados mediante el cultivo microbiológico. Cabe mencionar que se aislaron especies con una frecuencia menor al 1% tales como *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Enterobacter aerogenes*, *Flavimonas oryzihabitans*, *klebsiella oxytoca*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Streptococcus pyogenes*.



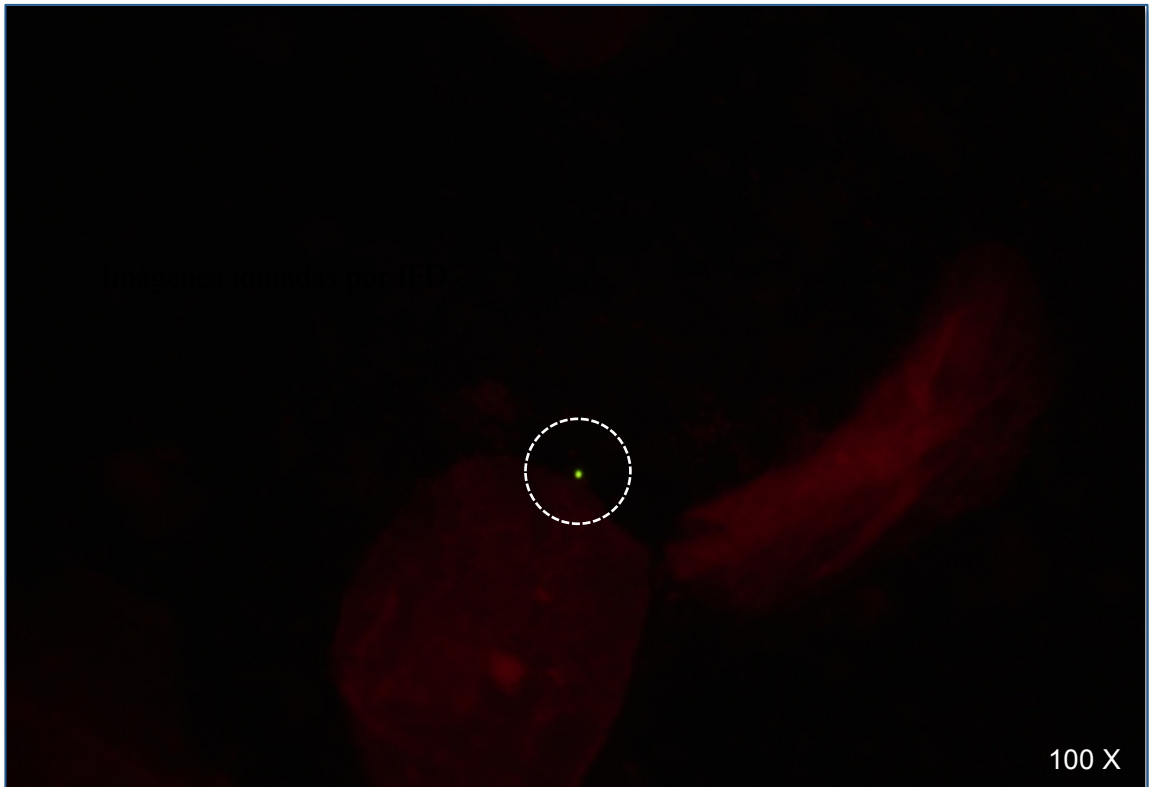
**Figura 6.** Principales microorganismos detectados en el cultivo microbiológico.

### 6.3 *C. trachomatis*

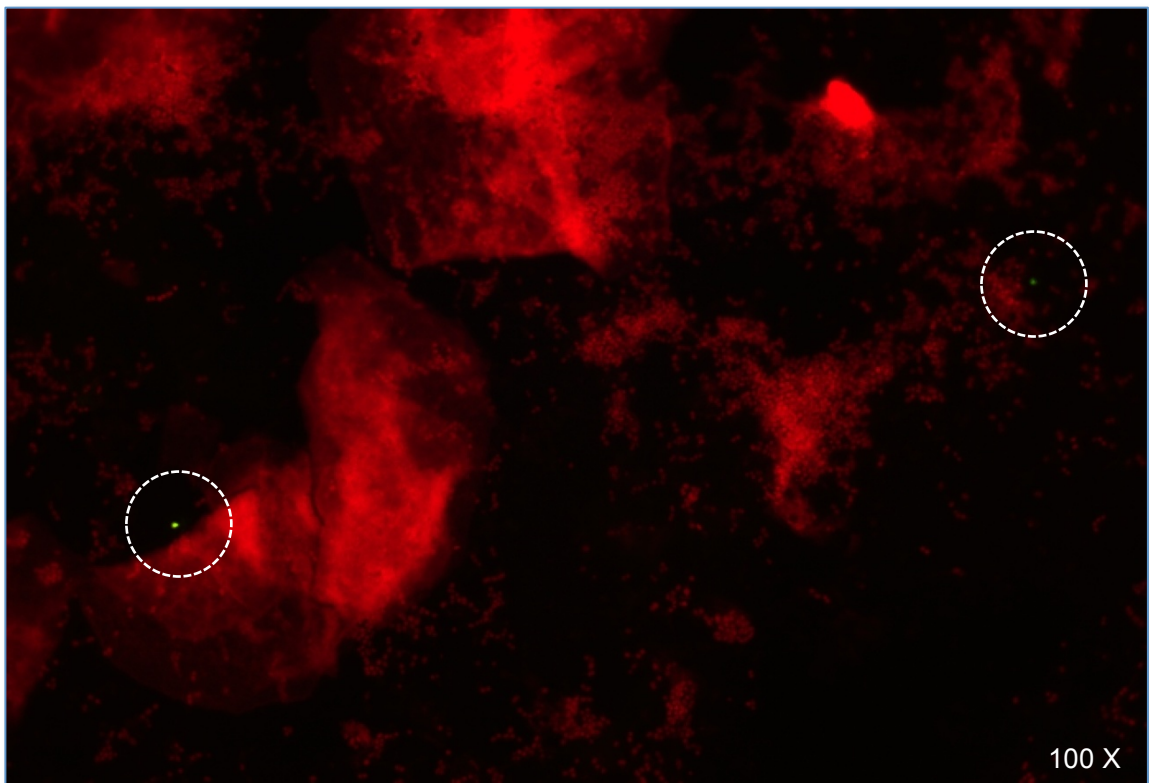
Del total de la población estudiada, en el 16,7% (n = 111) se identificaron cuerpos elementales de *C. trachomatis* mediante el ensayo por IFD (Figuras 7-11); el 14.2% (n=94) fue positiva mediante la amplificación del gen de la superfamilia de fosfolipasa D endonucleasa y mediante la amplificación del gen *ompA* se detectó una prevalencia del 14,5% (n = 96). Según los resultados de la genotipificación mediante RFLP, el genotipo de *C. trachomatis* detectado con mayor frecuencia correspondió al tipo E (n = 38 [39.6%]), seguido por el F (n = 28 [29.2%]), D (n = 15 [15.6%]), K (n = 6 [6.3%]) y L2 (n = 3 [3.1%]), mientras que los genotipos G, I y J fueron identificados con menor frecuencia (n = 2 [2.1%]) (Figura 12).



**Figura 7.** IFD de la paciente No.111 en la cual se observa la presencia de un CE de *C. trachomatis* y la presencia de abundantes *Lactobacillus*.

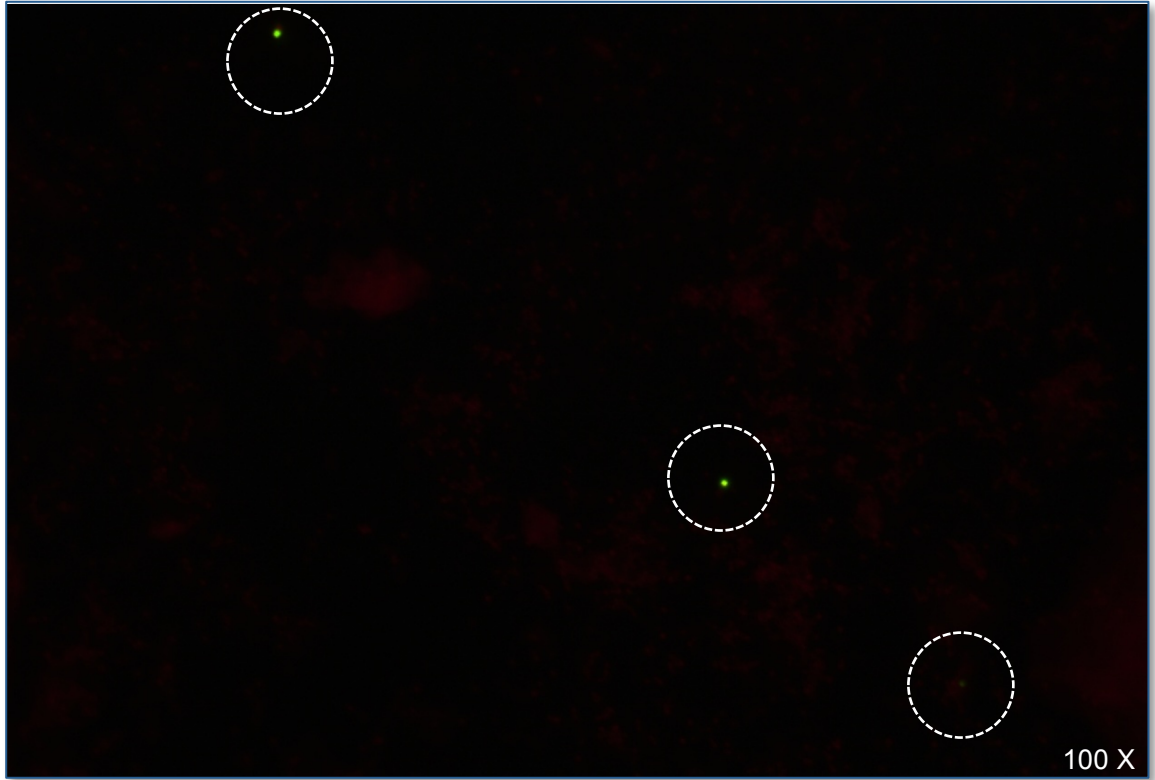


**Figura 8.** IFD de la paciente No.560 en la cual se observa la presencia de un CE de *C. trachomatis* y células epiteliales.

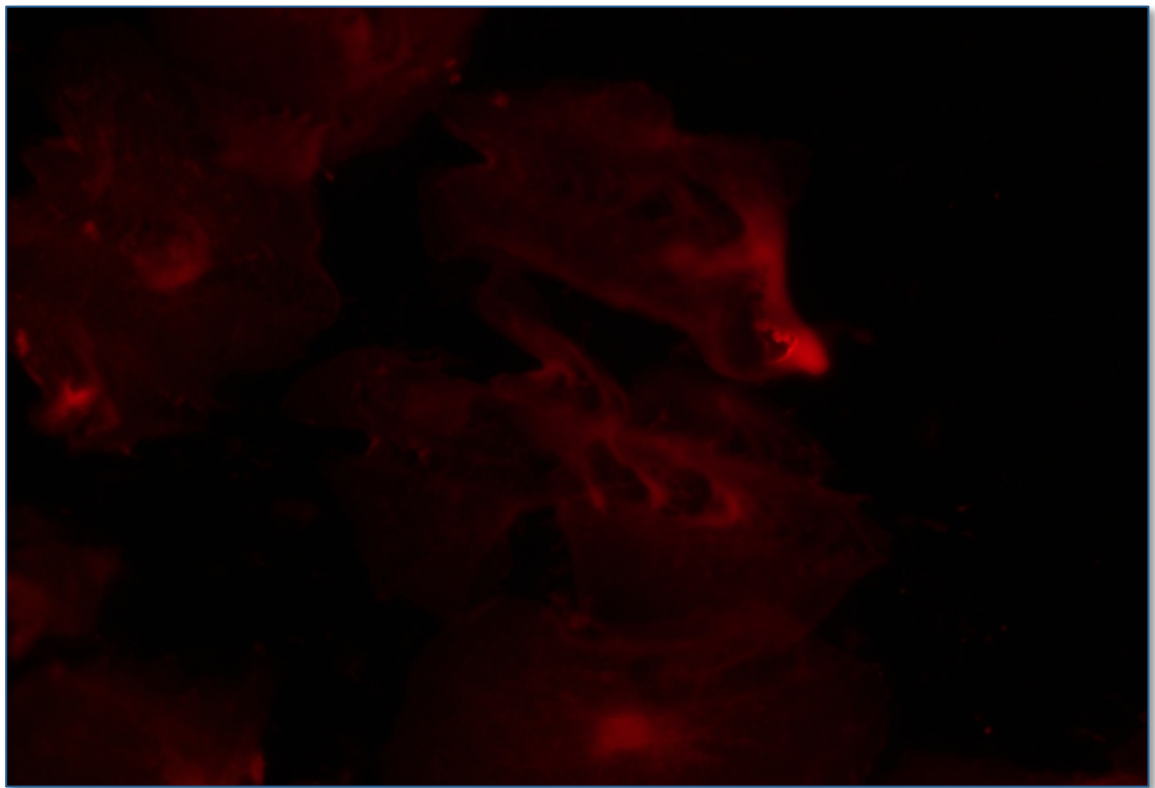


**Figura 9.** IFD de la paciente No.350 en la cual se observa la presencia de dos CE de *C. trachomatis*, células epiteliales y abundantes cocos.

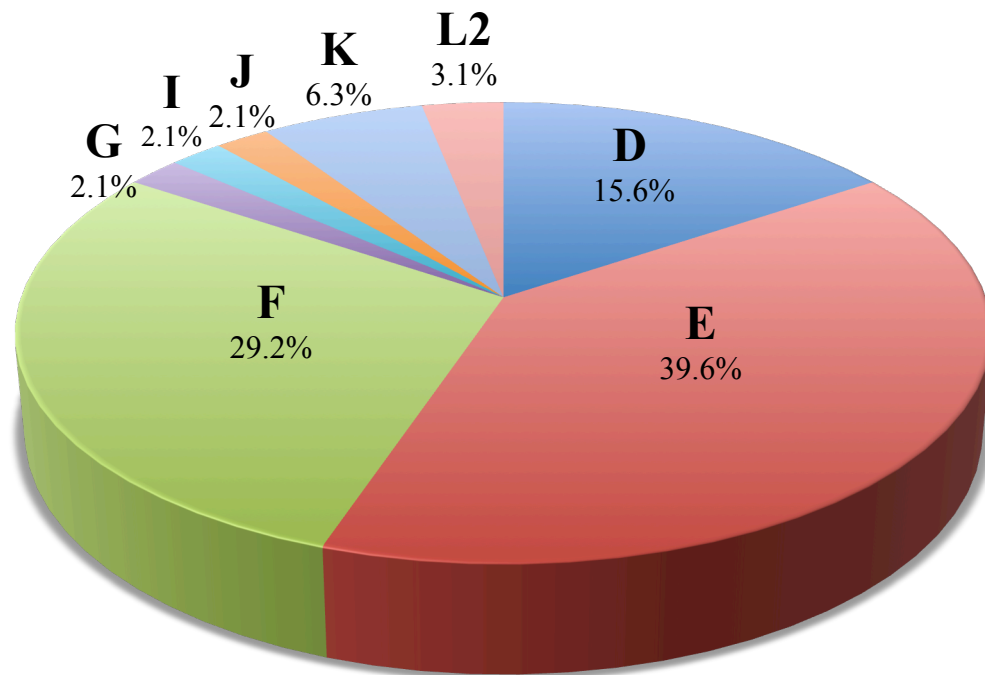




**Figura 10.** IFD de la paciente No. 539 en la cual se observa la presencia de tres CE de *C. trachomatis*.



**Figura 11.** Control negativo de IFD, donde se observan abundantes células epiteliales



**Figura 12.** Frecuencia de los diferentes genotipos de *C. trachomatis* detectados en la población de estudio.

Se observó una asociación de la infección por *C. trachomatis* con los diferentes factores de riesgo. Se observó que la infección por *C. trachomatis* fue más frecuente en las pacientes con  $\geq 40$  años ( $p = 0.01$ ). Las pacientes casadas o viven en pareja presentaron mayor riesgo de infección ( $p = 0.01$ ). Además se observó una asociación de la infección por *C. trachomatis* con el uso de métodos anticonceptivos hormonales ( $p = 0.01$ ), DIU ( $p = 0.03$ ), o que nunca habían utilizado un método anticonceptivo ( $p = 0.02$ ). Se observó mayor frecuencia de infección en pacientes embarazadas ( $p = 0.01$ ), y las que habían tenido infecciones durante el embarazo ( $p = 0.04$ ). Las mujeres infectadas tienen más probabilidades de haber presentado nacimientos prematuros ( $p = 0.03$ ), embarazos ectópicos ( $p = 0.04$ ), PID ( $p = 0.04$ ) o la presencia de flujo vaginal verde ( $p = 0.04$ ) (Tabla 7).

**Tabla 7.** Asociación de *C. trachomatis* con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

Características	[n (%), n = 96]	P	ORa (95% IC)
<b>- FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	10 (10.4)	0.14	0.68 (0.32, 1.33)
20 – 29	35 (36.5)	0.32	0.90 (0.57, 1.41)
30 – 39	23 (24)	0.16	0.77 (0.46, 1.27)
≥ 40	28 (29.2)	0.01	2.69 (1.61, 4.44)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	64 (66.7)	0.26	0.85 (0.53, 1.32)
Empleada / Comerciante	19 (19.8)	0.13	1.37 (0.77, 2.36)
Profesionista	8 (8.3)	0.34	0.84 (0.36, 1.77)
Estudiante	5 (5.2)	0.43	1.05 (0.35, 2.66)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	4 (4.2)	0.43	1.05 (0.32, 2.61)
Divorciada /Separada / Viuda	8 (8.3)	0.34	0.84 (0.36, 1.77)
Casada / Unión Libre	83 (86.5)	0.01	1.99 (1.10, 3.83)
<b>- FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Consumo de alcohol</b>	23 (24)	0.31	1.12 (0.69, 1.77)
<b>Consumo de tabaco</b>	31 (32.3)	0.29	1.14 (0.67, 1.89)
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 18 años	47 (49)	0.43	0.96 (0.62, 1.49)
≥ 18 años	49 (51)	0.17	1.23 (0.79, 1.91)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0	2 (2.1)	0.16	2.38 (0.31, 12.27)
1	40 (41.7)	0.13	0.77 (0.49, 1.20)
2 – 4	43 (44.8)	0.28	1.13 (0.73, 1.75)
≥ 5	11 (11.5)	0.27	1.22 (0.59, 2.38)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	7 (7.3)	0.01	0.39 (0.16, 0.38)
Preservativo	39 (40.6)	0.25	1.16 (0.74, 1.82)
DIU	15 (15.6)	0.03	1.79 (0.93, 3.28)
Oclusión tubar bilateral	5 (5.2)	0.37	0.83 (0.28, 2.06)
No usa	39 (40.6)	0.02	1.55 (0.99, 2.42)

**Tabla 7 cont.** Asociación de *C. trachomatis* con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada.

<b>- FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	31 (32.3)	0.01	0.57 (0.36, 0.91)
<b>Embarazos previos</b>	88 (91.7)	0.19	0.70 (0.32, 1.67)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	49 (51)	0.04	0.69 (0.44, 1.07)
Sangrado	10 (10.4)	0.48	0.99 (0.46, 1.97)
Riesgo de aborto espontáneo	15 (15.6)	0.31	0.85 (0.45, 1.51)
Parto prematuro	12 (12.5)	0.03	1.98 (0.96, 3.88)
Embarazo ectópico	4 (4.1)	0.03	3.46 (0.87, 12.19)
<b>Abortos previos</b>	26 (27.1)	0.25	1.17 (0.71, 1.90)
<b>EIP</b>	36 (37.5)	0.04	0.68 (0.32, 1.33)
<b>Dispareunia</b>			
Dolor / Ardor	27 (28.1)	0.11	0.74 (0.45, 1.19)
Sangrado	3 (3.1%)	0.3	0.69 (0.16, 2.14)
<b>Flujo vaginal</b>			
Cantidad			
Escaso	16 (16.7)	0.33	1.13 (0.61, 2.00)
Moderado	44 (45.8)	0.27	0.87 (0.56, 1.35)
Copioso	26 (27.1)	0.42	0.95 (0.57, 1.53)
Color			
Blanco	65 (67.7)	0.47	0.98 (0.62, 1.58)
Amarillo	24 (25)	0.15	0.77 (0.46, 1.27)
Verde	11 (11.5)	0.04	1.90 (0.89, 3.81)
Marrón	5 (5.2)	0.47	0.98 (0.62, 1.58)
<b>Infecciones previas</b>			
Infección urinaria	23(24)	0.14	0.76 (0.45, 1.25)
Infección vaginal	58(60.4)	0.25	0.86 (0.55, 1.34)

En cuanto a las asociaciones de los genotipos de *C. trachomatis* con las diferentes factores de riesgo se observe que las mujeres con antecedentes de  $\geq 2$  parejas sexuales mostraron una asociación fuerte de infectarse con el genotipo K ( $p = 0.01$ ), Las mujeres embarazadas mostraron mayor asociación de estar infectadas con el genotipo F ( $p = 0.03$ ); el genotipo L2 se asoció con la EIP ( $p = 0.02$ ); el genotipo D se asoció con infecciones en embarazos anteriores ( $p = 0.02$ ); el genotipo E presentó asociaciones con embarazos ectópicos previos ( $p = 0.04$ ) y la presencia de flujo vaginal de color verde ( $p = 0.01$ ). Cabe señalar que no se encontró asociación con embarazos, abortos o partos prematuros previos con ningún genotipo de *C. trachomatis* (Tabla 8)

**Tabla 8.** Correlación de los genotipos de *C. trachomatis* con factores de riesgo en la población estudiada

Genotipo	Total [n (%)]	≥2 parejas sexuales			Embarazadas durante el muestreo		
		n (%)	P	ORa (95% IC)	n (%)	P	ORa (95% IC)
<b>D</b>	15 (15.6)	12 (80)	0	0.72 (0.18, 2.45)	4 (26.6)	0.3	0.72 (0.18, 2.45)
<b>E</b>	38 (39.6)	19 (50)	0	0.37 (0.01, 0.15)	13 (34.2)	0.4	1.154 (0.47, 2.79)
<b>F</b>	28 (29.2)	13 (46)	0	0.02 (0.01, 0.12)	13 (46.4)	0	2.30(0.94, 6.07)
<b>G</b>	2 (2.1)	1 (50)	0.4	0.77 (0.01, 30.8)	1 (50)	0.3	2.11 (0.05, 84.4)
<b>I</b>	2 (2.1)	1 (50)	0.4	0.77 (0.01, 30.87)	0 (0)	0.5	1.04 (0.03, 14.13)
<b>J</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 2.49)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 7.3)
<b>K</b>	6 (6.3)	6 (100)	0	7.92 (0.91, 245.2)	0 (0)	0.2	0.38 (0.01, 3.62)
<b>L2</b>	3 (3.1)	2 (66.6)	0.4	1.57 (0.11, 47.58)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 3.59)
		Enfermedad inflamatoria pélvica			Infecciones durante el embarazo		
		n (%)	p	ORa (95% IC)	n (%)	p	ORa (95% IC)
<b>D</b>	15 (15.6)	3 (20)	0.1	0.36 (0.07, 1.33)	4 (26.6)	0	0.29 (0.07, 0.9)
<b>E</b>	38 (39.6)	13 (34)	0.3	0.79 (0.33, 1.86)	20 (52.6)	0.4	1.11 (0.48, 2.54)
<b>F</b>	28 (29.2)	14 (50)	0	2.07 (0.83, 5.18)	16 (57.1)	0.2	1.4 (0.57, 3.49)
<b>G</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.5	0.82 (0.02, 11.19)	2 (100)	0.1	-
<b>I</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.39)	2 (100)	0.1	-
<b>J</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.79)	2 (100)	0.1	-
<b>K</b>	6 (6.3)	3 (50)	0.3	1.71 (0.28, 10.5)	1 (50)	0.5	0.95 (0.15, 5.38)
<b>L2</b>	3 (3.1)	3 (100)	0	8.38 (0.70, 288.2)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 1.61)
		Embarazos ectópicos previos			Flujo vaginal verde		
		n (%)	p	ORa (95% IC)	n (%)	p	ORa (95% IC)
<b>D</b>	15 (15.6)	0 (0)	0.3	0 (0.0, 6.18)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 1.63)
<b>E</b>	38 (39.6)	4 (10.5)	0	6.57 (0.79, 168.5)	9 (23.6)	0	7.67 (1.7, 55)
<b>F</b>	28 (29.2)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 2.69)	1 (3.5)	0.1	0.21 (0.01, 1.39)
<b>G</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	1 (50)	0.1	8.05 (0.19, 330.7)
<b>I</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 27.63)
<b>J</b>	2 (2.1)	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 27.63)
<b>K</b>	6 (6.3)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 18.84)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.23)
<b>L2</b>	3 (3.1)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 46.62)	0 (0)	0.3	0 (0.0, 13.84)

En la tabla 9 se observan las coinfecciones de as pacientes infectadas con *C. trachomatis* con otras ITS; la identificación de *C. trachomatis* se asoció con la presencia de otras ITS como: VPH (p = 0.01), VIH (p = 0.01), VHC (p = 0.01), *T. vaginales* (p = 0.01) y el VHS tipo 1 (p = 0.01) (Tabla 9).

**Tabla 9.** Correlaciones de *C. trachomatis* con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 96]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	3 (2.88)	0.26	1.48 (0.33, 5.05)
<i>T. pallidum</i>	1 (0.96)	0.46	0.98 (0.04, 6.75)
<i>N. gonorrhoeae</i>	1 (0.96)	0.24	0.44 (0.02, 2.60)
<i>M. genitalium</i>	2 (1.92)	0.44	0.83 (0.12, 3.30)
VPH	23 (22.08)	0.01	2.26 (1.31, 3.83)
VIH	13 (12.48)	0.01	2.60 (1.27, 5.12)
VHC	1 (0.96)	0.07	-
VHS1	29 (27.84)	0.01	8.59 (4.78, 15.49)
VHS 2	2 (1.92)	0.39	1.18 (0.17, 4.94)
<i>T. vaginalis</i>	37 (35.52)	0.01	5.57 (3.39, 9.15)

## 6.4 *T. pallidum*

Del total de la población estudiada, en el 2.26% (n = 15) se detectaron anticuerpos IgG e IgM de *T. pallidum* mediante el inmunoensayo quimioluminiscente con micropartículas y mediante la amplificación del gen inmunógeno de 47 kilodaltones con la PCR múltiple se detectó una frecuencia del 1.05% (n = 7) en la población total. En las pacientes embarazadas durante el muestreo, en el 2.43 (n = 7) se detectaron anticuerpos IgG e IgM de *T. pallidum* y mediante la PCR múltiple se detectó una frecuencia del 0.69 % (n = 2). En la tabla 10 y 11 se observa las correlaciones de *T. pallidum* detectado tanto por serología como por PCR con los diferentes factores de riesgo estudiados en la población.

En las tablas 12 y 13 se observan las coinfecciones de *T. pallidum* con otras ITS; se detectó asociación con : VPH (p = 0.01), VHS-2 (p = 0.01), *M. genitalium* (p = 0.01), *T. vaginales* (p = 0.01) y el VHS-1 (p = 0.02) .

**Tabla 10.** Asociación de *T. pallidum* detectado mediante serología con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 15]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>- FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	2 (13.33)	0.93	0.94 (0.20, 4.23)
20 – 29	5 (33.33)	0.67	0.79 (0.26, 2.35)
30 – 39	4 (26.67)	0.9	0.92 (0.29, 2.95)
≥ 40	4 (26.67)	0.46	1.53 (0.48, 4.89)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	9 (60.00)	0.41	0.64 (0.22, 1.84)
Empleada / Comerciante	4 (26.67)	0.24	1.96 (0.61, 6.29)
Profesionista	1 (6.67)	0.7	0.67 (0.08, 5.21)
Estudiante	1 (6.67)	7.62	1.37 (0.17, 10.7)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	0 (0)	0.24	-
Divorciada /Separada/ Viuda	5 (33.33)	0.46	-
Casada	5 (33.33)	0.83	0.88 (0.30, 2.63)
Unión Libre	5 (33.33)	0.61	0.75 (0.25, 2.24)
<b>- FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	3 (20)	0.91	0.93 (0.25, 3.34)
≥ 16 años	12 (80)	0.91	1.07 (0.29, 3.86)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	9 (60)	0.34	1.64 (0.57, 4.66)
2 – 4	6 (40)	0.86	0.91 (0.32, 2.59)
≥ 5	0 (0)	0.19	-
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	0 (0)	0.09	-
Preservativo	7 (46.67)	0.46	1.46 (0.52, 4.08)
DIU	1 (6.67)	0.65	0.629 (0.08, 4.8)
OTB	0 (0)	0.32	-
No usa	7(46.67)	0.17	1.99 (0.71, 5.58)
Consumo de alcohol	1 (6.67)	0.14	0.25 (0.03, 1.91)
Consumo de tabaco	3 (20.00)	0.38	0.57 (0.15, 2.04)
<b>- FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
Embarazada en el muestreo	7 (46.67)	0.79	1.14 (0.41, 3.20)
Embarazos previos	13 (86.67)	0.26	0.42 (0.09, 1.96)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	7 (46.67)	0.35	0.61 (0.22, 1.72)
Sangrado	0 (0)	0.18	-
Riesgo de aborto espontáneo	1 (6.67)	0.99	-
Parto prematuro	0 (0)	0.26	0.33 (0.04, 2.53)
Embarazo ectópico	0 (0)	0.64	-
Abortos previos	3 (20)	0.99	-
EIP	1 (6.67)	0.86	1.09 (0.39, 3.03)



**Tabla 11.** Asociación de *T. pallidum* detectado mediante PCR con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>Características</b>	<b>[n (%), n =7]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	0 (0)	0.28	
20 – 29	2 (28.57)	0.58	0.63 (0.12, 3.30)
30 – 39	3 (42.86)	0.38	1.93 (0.42, 8.72)
≥ 40	2 (28.57)	0.53	1.67 (0.32, 8.75)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	3 (42.86)	0.12	0.32 (0.07, 1.45)
Empleada / Comerciante	3 (42.86)	0.04	4.06 (0.89, 18.4)
Profesionista	1 (14.29)	0.66	1.59 (0.18, 13.4)
Estudiante	0 (0)	0.54	
<b>Estado civil</b>			
Soltera	3 (42.86)	0.15	2.83 (0.62, 12.8)
Divorciada /Separada/ Viuda	0 (0)	0.62	
Casada	4 (57.14)	0.24	2.39 (0.53, 10.8)
Unión Libre	0 (0)	0.03	
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	1 (14.29)	0.65	0.619 (0.07, 5.1)
≥ 16 años	6 (85.71)	0.65	1.61 (0.19, 13.5)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	3 (42.86)	0.78	0.81 (0.18, 3.64)
2 – 4	2 (28.57)	0.46	0.54 (0.10, 2.83)
≥ 5	2 (28.57)	0.09	3.75 (0.71, 19.7)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	1 (14.29)	0.93	0.91 (0.10, 7.67)
Preservativo	0 (0)	0.03	
DIU	2 (28.57)	0.1	3.63 (0.69, 19.0)
OTB	0 (0)	0.5	
No usa	4 (57.14)	0.12	3.03 (0.67, 13.6)
<b>Consumo de alcohol</b>	1 (14.29)	0.62	0.59 (0.07, 4.95)
<b>Consumo de tabaco</b>	2 (28.57)	0.92	0.92 (1.78, 4.89)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	6 (85.71)	4.28	0.51 (0.10, 2.69)
<b>Embarazos previos</b>	2 (28.57)	0.38	0.40 (0.04, 3.40)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	0 (0)	0.1	0.28 (0.05, 1.46)
Sangrado	0 (0)	0.36	
Riesgo de aborto espontáneo	0 (0)	0.22	
Parto prematuro	0 (0)	0.44	
Embarazo ectópico	0 (0)	0.76	
Abortos previos	2 (28.57)	0.99	
EIP	3 (42.86)	0.92	0.93 (0.20, 4.19)

**Tabla 12.** Correlaciones de *T. pallidum* positivo por serología con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 15]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	3 (20)	0.26	1.48 (0.33, 5.05)
<i>T. pallidum</i>	3 (20)	0	40.18 (8.09, 199.48)
<i>N. gonorrhoeae</i>	0 (0)	0.56	-
<i>M. genitalium</i>	0 (0)	0.53	-
VPH	3 (20)	0.48	-
VIH	1 (6.67)	0.98	0.97 (0.12, 7.61)
VHC	0 (0)	0.87	-
VHS1	1 (6.67)	0.8	0.76 (0.99, 5.95)
VHS 2	1 (6.67)	0.15	4.13 (0.49, 34.21)
<i>T. vaginalis</i>	4 (26.67)	0.162	2.25 (0.70, 7.22)

**Tabla 13.** Correlaciones de *T. pallidum* positivo por serología con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 7]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	1 (14.3)	0.46	0.98 (0.04, 6.75)
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	3 (42.9)	0	40.18 (8.09, 199.48)
<i>N. gonorrhoeae</i>	1 (14.3)	0.02	8.23 (0.92, 73.32)
<i>M. genitalium</i>	1 (14.3)	0.04	7.11 (0.80, 62.78)
VPH	3 (42.9)	0.02	4.77 (1.05, 21.66)
VIH	1 (14.3)	0.42	2.31 (0.27, 19.65)
VHC	0 (0)	0.91	-
VHS1	2 (28.6)	0.06	4.45 (0.84, 23.49)
VHS 2	0 (0.0)	-	-
<i>T. vaginalis</i>	4 (57.1)	0.001	8.37 (1.84, 38.01)

## 6.5 *N. gonorrhoeae*

Del total de la población estudiada, en el 2.11% (n = 14) se detectó *N. gonorrhoeae* mediante la amplificación del pseudo gen *porA* con la PCR múltiple. En la tabla 14 se observan las correlaciones de *N. gonorrhoeae* con los factores de riesgo; Se observó que la infección por esta bacteria fue más frecuente en las pacientes con  $\geq 40$  años (p = 0.01).

En la tabla 15 se observan las coinfecciones de *N. gonorrhoeae* con otras ITS; se detectó una asociación con *T. pallidum* (p = 0.01), *M. genitalium* (p = 0.01) y el VHS-1 (p = 0.01).

**Tabla 14.** Asociación de *N. gonorrhoeae* con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 14]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	1 (7.14)	0.45	0.46 (0.06, 3.59)
20 – 29	6 (42.86)	0.73	1.2 (0.41, 3.50)
30 – 39	1 (7.14)	0.07	0.19 (0.02, 1.48)
≥ 40	6 (42.86)	0.02	3.23 (1.10, 9.49)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	11 (78.57)	0.46	1.61 (0.44, 5.84)
Empleada / Comerciante	2 (14.29)	0.87	0.88 (0.19, 3.99)
Profesionista	1 (7.14)	0.76	0.72 (0.09, 5.65)
Estudiante	0 (0)	0.38	
<b>Estado civil</b>			
Soltera	5 (35.71)	0.17	2.11 (0.69, 6.40)
Divorciada /Separada/ Viuda	0 (0)	0.48	
Casada	4 (28.57)	0.56	0.70 (0.22, 2.28)
Unión Libre	5 (35.71)	0.76	0.84 (0.28, 2.55)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	5 (35.71)	0.17	2.11 (0.696, 6.40)
≥ 16 años	9 (64.29)	0.17	0.47 (0.15, 1.43)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	5 (35.71)	0.35	0.59 (0.19, 1.79)
2 – 4	7 (50)	0.54	1.38 (0.47, 3.98)
≥ 5	2 (14.29)	0.57	1.54 (0.33, 7.07)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	1 (7.14)	0.38	0.41 (0.05, 3.22)
Preservativo	7 (50)	0.33	1.67 (0.58, 4.84)
DIU	1 (7.14)	0.7	0.67 (0.08, 5.26)
OTB	2 (14.29)	0.19	2.67 (0.57, 12.38)
No usa	3 (21.43)	0.44	0.60 (0.16, 2.19)
<b>Consumo de alcohol</b>	4 (28.57)	0.54	1.43 (0.44, 4.65)
<b>Consumo de tabaco</b>	6 (42.86)	0.29	1.75 (0.60, 5.12)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	4 (28.57)	0.25	0.51 (0.16, 1.66)
<b>Embarazos previos</b>	13 (92.86)	0.9	0.87 (0.11, 6.87)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	10 (71.43)	0.31	1.8 (0.56, 5.82)
Sangrado	3 (21.43)	0.17	2.4 (0.65, 8.84)
Riesgo de aborto espontáneo	2 (14.29)	0.74	0.78 (0.17, 3.53)
Parto prematuro	0 (0.00)	0.28	
Embarazo ectópico	0 (0)	0.65	
Abortos previos	3 (21.43)	0.99	
EIP	7 (50)	0.67	1.25 (0.43, 3.60)

**Tabla 15.** Correlaciones de *N. gonorrhoeae* con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 14]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	1 (7.1)	0.24	0.44 (0.02, 2.60 )
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	0 (0)	0.56	-
<i>T. pallidum</i>	1 (7.1)	0.02	8.23 (0.92, 73.32)
<i>M. genitalium</i>	3 (21.4)	0	13.32 (3.31, 53.46)
VPH	2 (14.3)	0.96	1.03 (0.22, 4.69)
VIH	2 (14.3)	0.26	2.34 (0.50, 10.81)
VHC	0 (0)	0.88	-
VHS1	4 (28.6)	0.006	4.58 (1.39, 15.12)
VHS 2	2 (7.1)	0.13	4.45 (0.53, 37.09)
<i>T. vaginalis</i>	0 (0)	0.12	-

## 6.6 *M. genitalium*

Del total de la población estudiada, en el 2.41% (n = 14) se detectó *M. genitalium* mediante la amplificación del gen de adhesión *MgPa* con la PCR múltiple. En la tabla 16 se observan las correlaciones de *M. genitalium* con los factores de riesgo.

En la tabla 17 se observan las coinfecciones de *M. genitalium* con otras ITS; se detectó una asociación con *T. pallidum* (p = 0.01), el VHS-2 (p = 0.01), *T. vaginalis* (p = 0.02), *N. gonorrhoeae* (p = 0.01) y el VHS-1 (p = 0.01).

**Tabla 16.** Asociación de *M. genitalium* con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 16]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	0 (0)	0.1	
20 – 29	7 (43.75)	0.66	1.24 (0.45, 3.39)
30 – 39	4 (25)	0.78	0.85 (0.271, 2.66)
≥ 40	5 (31.25)	0.22	1.93 (0.65, 5.66)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	14 (87.50)	0.11	3.11 (0.70, 13.84)
Empleada / Comerciante	2 (12.50)	0.7	0.75 (0.16, 3.36)
Profesionista	0 (0)	0.18	
Estudiante	0 (0)	0.35	
<b>Estado civil</b>			
Soltera	1 (6.25)	0.14	0.24 (0.03, 1.85)
Divorciada /Separada/ Viuda	0 (0)	0.45	
Casada	6 (37.50)	0.89	1.07 (0.38, 2.98)
Unión Libre	9 (56.25)	0.16	1.99 (0.73, 5.43)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	4 (25)	0.7	1.25 (0.39, 3.93)
≥ 16 años	12 (75)	0.7	0.8 (0.254, 2.52)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	6 (37.50)	0.39	0.64 (0.23, 1.78)
2 – 4	6 (37.50)	0.7	0.82 (0.29, 2.28)
≥ 5	4 (25)	0.03	3.19 (1.00, 10.21)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	1 (6.25)	0.3	0.36 (0.04, 2.75)
Preservativo	4 (25.00)	0.29	0.546 (0.17, 1.71)
DIU	3 (18.75)	0.24	2.09 (0.58, 7.56)
OTB	2 (12.50)	0.27	2.28 (0.50, 10.42)
No usa	6 (37.50)	0.55	1.35 (0.48, 3.78)
<b>Consumo de alcohol</b>	4 (25)	0.54	1.19 (0.37, 3.75)
<b>Consumo de tabaco</b>	5 (31.25)	0.29	1.05 (0.36, 3.06)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	7 (43.75)	0.25	1.01 (0.37, 2.76)
<b>Embarazos previos</b>	16 (100)	0.9	
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	8 (50)	0.31	0.70 (0.26, 1.91)
Sangrado	1 (6.25)	0.17	0.56 (0.07, 4.35)
Riesgo de aborto espontáneo	0 (0)	0.74	1.58 (0.50, 5.01)
Parto prematuro	0 (0)	0.28	
Embarazo ectópico	0 (0)	0.65	
Abortos previos	2 (12.50)	0.99	
EIP	8 (50)	0.67	1.25 (0.46, 3.37)

**Tabla 17.** Correlaciones de *M. genitalium* con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 16]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	2 (12.5)	0.44	0.83 (0.12, 3.30)
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	0 (0)	0.56	-
<i>T. pallidum</i>	1 (6.25)	0.02	7.11 (0.80, 62.78)
<i>N. gonorrhoeae</i>	3 (18.75)		13.32 (3.31, 53.46)
VPH	1 (6.25)	0.96	-
VIH	2 (12.5)	0.26	0.40 (0.05, 3.11)
VHC	0 (0)	0.88	2 (0.44, 9.10)
VHS1	4 (25)	0.006	3.8 (1.18, 12.22)
VHS 2	2 (12.5)	0.13	9.08 (1.82, 43.35)
<i>T. vaginalis</i>	5 (31.25)	0.12	2.84 (0.96, 8.38)



## 6.7 VPH

Del total de la población estudiada, en el 13.9 % (n = 92) se detectó VPH mediante la amplificación del gen L1. Según los resultados de la genotipificación mediante RFLP, el genotipo de VPH detectado con mayor frecuencia correspondió al genotipo 16 (n = 31 [33.7%]), seguido por el 31 (n = 14 [15.2%]), 45 (n = 13 [14.1%]), 66 (n = 11 [12%]) y 58 (n = 10 [10.9%]), en cuanto a los genotipos de alto riesgo carcinogénico; y los genotipos de bajo riesgo con mayor frecuencia fueron el genotipo 6 (n = 28 [30.4%]), seguido por el 62 y el 64 (n = 16 [17.4%]) (Tabla 18). En la tabla 19 se observan las correlaciones de VPH con los factores de riesgo.

**Tabla 18.** Frecuencia de los diferentes genotipos de VPH detectados en la población de estudio

<b>Riesgo</b>	<b>Genotipo</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Alto	16	31	33.7
	18, 51, 73	1	1.1
	31	14	15.2
	33	9	9.8
	35, 39, 53, 82	2	2.2
	45	13	14.1
	52	8	8.7
	58	10	10.9
	59	6	6.5
	66	11	12.0
Bajo	6	28	30.4
	11, 43, 61, 81	2	2.2
	13	7	7.6
	30, 42, 54, 72, 74, 84, 91	1	1.1
	40, 69	3	3.3
	62, 64	16	17.4
	70	7	7.6
Indeterminado	26	1	1.1

**Tabla 19.** Asociación de VPH con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

Características	[n (%), n = 92]	P	ORa(95% CI)
<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	12 (13.04)	0.76	0.91 (0.47, 1.73)
20 – 29	32 (34.78)	0.42	0.83 (0.52, 1.31)
30 – 39	32 (34.78)	0.12	1.44 (0.90, 2.29)
≥ 40	16 (17.39)	0.61	0.86 (0.48, 1.53)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	66 (71.74)	0.63	1.13 (0.69, 1.83)
Empleada / Comerciante	17 (18.48)	0.45	1.24 (0.70, 2.20)
Profesionista	5 (5.43)	0.15	0.51 (0.19, 1.30)
Estudiante	4 (4.35)	0.76	0.85 (0.29, 2.47)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	25 (27.17)	0.12	1.47 (0.89, 2.44)
Divorciada /Separada/ Viuda	4 (4.35)	0.55	1.39 (0.46, 4.21)
Casada	27 (29.35)	0.15	0.71 (0.43, 1.14)
Unión Libre	36 (39.13)	0.92	0.98 (0.62, 1.53)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	25 (27.17)	0.12	1.47 (0.89, 2.44)
≥ 16 años	67 (72.83)	0.12	0.68 (0.04, 1.12)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	36 (39.13)	0.06	0.66 (0.41, 1.02)
2 – 4	40 (43.48)	0.76	1.07 (0.68, 1.66)
≥ 5	16 (17.39)	0.009	2.23 (1.21, 4.13)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	13 (14.13)	0.71	0.89 (0.47, 1.66)
Preservativo	39 (42.39)	0.3	1.26 (0.80, 1.97)
DIU	13 (14.13)	0.16	1.57 (0.82, 3.01)
OTB	4 (4.35)	0.46	0.67 (0.23, 1.94)
No usa	23 (25)	0.19	0.72 (0.43, 1.18)
<b>Consumo de alcohol</b>	23 (25)	0.43	1.24 (0.73, 2.04)
<b>Consumo de tabaco</b>	33 (1.62)	0.2	
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	39 (42.39)	0.84	0.96 (0.61, 1.49)
<b>Embarazos previos</b>	88 (95.65)	0.39	1.57 (0.54, 4.51)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	5 (5.43)	0.7	0.92 (0.58, 1.43)
Sangrado	5 (5.43)	0.09	0.45 (0.17, 1.61)
Riesgo de aborto espontáneo	22 (23.91)	0.08	1.59 (0.93, 2.69)
Parto prematuro	9 (9.78)	0.383	1.39 (0.65, 2.98)
Embarazo ectópico	0 (0)	0.22	
<b>Abortos previos</b>	25 (27.17)	0.35	
<b>EIP</b>	41 (44.57)	0.99	1 (0.64, 1.55)

En la tabla 18 se observan las coinfecciones de VPH con otras ITS; se detectó una asociación con las pacientes que fueron positivas para *C. trachomatis* ( $p = 0.01$ ), VIH ( $p = 0.01$ ), VHC ( $p = 0.01$ ), *T. pallidum* ( $p = 0.01$ ) y *T. vaginalis* ( $p = 0.01$ ).

**Tabla 20.** Correlaciones de VPH con otras ITS en la población estudiada.

Microorganismo	[n (%), n = 92]	<i>P</i>	ORa (95% CI)
<i>C. trachomatis</i>	23 (25.0)	0.01	2.26 (1.31, 3.83)
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	3 (3.26)	0.48	1.56 (0.43, 5.66)
<i>T. pallidum</i>	3 (3.26)	0.02	4.77 (1.05, 21.66)
<i>N. gonorrhoeae</i>	2 (2.17)	0.96	1.03 (0.22, 4.69)
<i>M. genitalium</i>	1 (1.09)	0.37	0.41 (0.05, 3.11)
VIH	11 (11.96)	4.48	2.14 (1.04, 4.39)
VHC	1 (1.09)	0.01	-
VHS1	10 (10.87)	0.37	1.38 (0.67, 2.86)
VHS 2	2 (2.17)	0.78	1.24 (0.26, 5.77)
<i>T. vaginalis</i>	25 (27.17)	0	2.7 (1.60, 4.57)

## 6.8 VIH

Del total de la población estudiada, en el 6.8% (n = 45) se detectó VIH, mediante dos ELISA y se confirmó mediante un Western Blot. En la tabla 21 se observan las asociación de la infección por VIH con los diferentes factores de riesgo.

En la tabla 22 se observan las coinfecciones de las pacientes que fueron positivas para VPH con otras ITS; se detectó una asociación con *C. trachomatis* (p = 0.01), VPH (p = 0.01) y VHC (p = 0.01).

**Tabla 21.** Asociación de VIH con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

Características	[n (%), n = 45]	P	ORa (95% CI)
<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	0 (0)		
20 – 29	6 (13.33)	0	0.22 (0.09, 0.54)
30 – 39	23 (51.11)	0	2.91 (1.58, 5.36)
≥ 40	16 (35.56)	0	2.48 (1.30, 4.73)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	30 (66.67)	0.65	0.86 (0.45, 1.64)
Empleada / Comerciante	14 (31.11)	0	2.61 (1.33, 5.09)
Profesionista	0 (0)	0.02	
Estudiante	1 (2.22)	0.37	0.41 (0.05, 3.11)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	17 (37.78)	0.01	2.43 (1.29, 4.59)
Divorciada /Separada/ Viuda	7 (15.56)	0	7.39 (2.84, 19.21)
Casada	7 (15.56)	0	0.30 (0.13, 0.70)
Unión Libre	14 (31.11)	0.22	0.67 (0.35, 1.28)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	14 (31.11)	0.09	1.76 (0.90, 3.40)
≥ 16 años	31 (68.89)	0.09	0.65 (0.29, 1.10)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	11 (24.44)	0.001	0.32 (0.16, 0.65)
2 – 4	23 (51.11)	0.2	1.47 (0.80, 2.70)
≥ 5	11 (24.44)	0.001	3.37 (1.61, 7.03)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	4 (8.89)	0.21	0.51 (0.18, 1.47)
Preservativo	4 (8.89)	0.32	1.35 (0.73, 2.49)
DIU	20 (44.44)	0.77	0.85 (0.29, 2.47)
OTB	4 (8.89)	0.4	1.57 (0.53, 4.63)
No usa	13 (28.89)	0.77	0.90 (0.46, 1.76)
<b>Consumo de alcohol</b>	11 (24.44)	0.66	1.16 (0.57, 2.36)
<b>Consumo de tabaco</b>	14 (0.02)	0.89	1.04 (0.54, 2.01)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	1 (2.22)	0	0.02 (0.004, 0.19)
<b>Embarazos previos</b>	44 (97.78)	0.24	3.13 (0.42, 23.31)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	19 (42.22)	0.02	0.49 (0.27, 0.91)
Sangrado	4 (8.89)	0.72	0.82 (0.28, 2.38)
Riesgo de aborto espontáneo	8 (17.78)	0.96	1.01 (0.42, 2.23)
Parto prematuro	1 (2.22)	0.16	0.26 (0.03, 1.95)
Embarazo ectópico	0 (0)	0.41	
Abortos previos	12 (26.67)	0.02	
EIP	21 (46.67)	0.76	1.09 (0.59, 2.00)

**Tabla 22.** Correlación de VIH con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 45]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	13 (28.88)	0.01	2.60 (1.27, 5.12)
<i>T. pallidum IgG, IgM</i>	1 (2.22)	0.98	0.97 (0.12, 7.61)
<i>T. pallidum</i>	1 (2.22)	0.42	2.31 (0.27, 19.65)
<i>N. gonorrhoeae</i>	2 (4.44)	0.26	2.34 (0.50, 10.81)
<i>M. genitalium</i>	2 (4.44)	0.35	2 (0.44, 9.10)
<b>VPH</b>	11 (24.44)	0.034	2.14 (1.04, 4.39)
<b>VHC</b>	1 (2.22)	0	
<b>VHS1</b>	2 (4.44)	0.31	0.48 (0.11, 2.05)
<b>VHS 2</b>	0 (0)	0.345	
<i>T. vaginalis</i>	3 (6.67)	0.13	0.41 (0.12, 1.36)

## 6.9 VHC

Del total de la población estudiada, en el 0.15% (n = 1) se detectó el VHC, mediante la técnica de inmunocromatografía, esta muestra se confirmó mediante un ensayo de quimioluminiscencia de micropartículas en el cual se detectaron anticuerpos IgG e IgM de VHC. En la tabla 23 se observan las asociación de la infección por VHC con los diferentes factores de riesgo.

En la tabla 24 se observan las coinfecciones de la paciente que fue positiva para VHC con otras ITS; en la cual se detectó una asociación con *C. trachomatis* (p = 0.01), VPH (p = 0.01) y VHI (p = 0.01).

**Tabla 23.** Asociación de VHC con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>		
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 1]</b>	<b>P</b>
<b>Edad (años)</b>		
14 – 19	0 (0)	0.68
20 – 29	0 (0)	0.42
30 – 39	0 (0)	0.53
≥ 40	1 (100)	0.04
<b>Ocupación</b>		
Hogar	1 (100)	0.5
Empleada / Comerciante	0 (0)	0.66
Profesionista	0 (0)	0.74
Estudiante	0 (0)	0.81
<b>Estado civil</b>		
Soltera	1 (100)	0.05
Divorciada /Separada/ Viuda	0 (0)	0.85
Casada	0 (0)	0.45
Unión Libre	0 (0)	0.41
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>		
<b>Edad de la primer relación sexual</b>		
< 16 años	1 (100)	0.05
≥ 16 años	0 (0)	0.05
<b>No. de parejas sexuales</b>		
0-1	0 (0)	0.33
2 – 4	0 (0)	0.39
≥ 5	1 (100)	0.002
<b>Métodos anticonceptivos</b>		
Hormonales	0 (0)	0.66
Preservativo	1 (100)	0.19
DIU	0 (0)	0.73
OTB	0 (0)	0.8
No usa	0 (0)	0.5
<b>Consumo de alcohol</b>	1 (3.57)	0.05
<b>Consumo de tabaco</b>	1 (2.31)	0.12
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>		
<b>Embarazada en el muestreo</b>	0 (0.766)	0.38
<b>Embarazos previos</b>	1 (0.068)	0.79
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>		
Infecciones	0 (1.40)	0.23
Sangrado	0 (0.12)	0.73
Riesgo de aborto espontáneo	0 (0.21)	0.64
Parto prematuro	0 (0.08)	0.775
Embarazo ectópico	0 (0.01)	0.9
Abortos previos	0 (0.32)	0.99
EIP	1 (1.24)	0.26



**Tabla 24.** Asociaciones de VHC con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 1]</b>	<b>P</b>
<i>C. trachomatis</i>	1 (100.0)	0.01
<i>T. pallidum IgG, IgM</i>	0 (0.0)	0.87
<i>T. pallidum</i>	0 (0.0)	0.91
<i>N. gonorrhoeae</i>	0 (0.0)	0.88
<i>M. genitalium</i>	0 (0.0)	0.87
<b>VPH</b>	1 (100.0)	0.01
<b>VIH</b>	1 (100)	0.01
<b>VHS1</b>	0 (0.0)	0.76
<b>VHS 2</b>	0 (0.0)	0.89
<i>T. vaginalis</i>	0 (0.0)	0.68

## VHS-1

Del total de la población estudiada, en el 8.5 % (n = 56) se detectó el VHS-1 mediante la amplificación del gen glicoproteína G (US4). En la tabla 25 se observan las asociación de la infección por el VHS-1 con los diferentes factores de riesgo.

En la tabla 26 se observan las coinfecciones de las pacientes que fueron positivas para el VHS-1 con otras ITS; se encontró asociación con diferentes microorganismos tales como: *C. trachomatis* (p = 0.01), *T. pallidum* (p = 0.02), *M. genitalium* (p = 0.01), *T. vaginalis* (p = 0.01) y *N. gonorrhoeae* (p = 0.01); a diferencia del tipo 2 que solo presentó asociación con *M. genitalium* (p = 0.01).

**Tabla 25.** Asociación de VHS-1 con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 56]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	9 (16.07)	0.64	1.19 (0.56, 2.51)
20 – 29	22 (39.29)	0.9	1.03 (0.59, 1.81)
30 – 39	17 (30.36)	0.69	1.12 (0.62, 2.04)
≥ 40	8 (14.29)	0.31	0.67 (0.31, 1.46)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	43 (76.79)	0.22	1.48 (0.78, 2.83)
Empleada / Comerciante	4 (7.14)	0.06	0.38 (0.13, 1.08)
Profesionista	5 (8.93)	0.87	0.92 (0.35, 2.41)
Estudiante	4 (7.14)	0.43	1.53 (0.51, 4.52)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	9 (16.07)	0.33	0.69 (0.33, 1.45)
Divorciada /Separada/ Viuda	2 (3.57)	0.91	1.08 (0.24, 4.76)
Casada	22 (39.29)	0.58	1.16 (0.66, 2.04)
Unión Libre	23 (41.07)	0.81	1.07 (0.61, 1.86)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	11 (19.64)	0.77	0.90 (0.45, 1.79)
≥ 16 años	45 (80.36)	0.77	1.10 (0.556 2.220)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	30 (53.57)	0.38	1.27 (0.73, 2.20)
2 – 4	20 (35.71)	0.3	0.74 (0.42, 1.31)
≥ 5	6 (10.71)	0.81	1.11 (0.45, 2.70)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	9 (16.07)	0.88	1.05 (0.50, 2.22)
Preservativo	25 (44.64)	0.25	1.37 (0.79, 2.38)
DIU	6 (10.71)	0.87	1.07 (0.44, 2.60)
OTB	2 (3.57)	0.41	0.55 (0.13, 2.35)
No usa	14 (25)	0.32	0.73 (0.38, 1.36)
<b>Consumo de alcohol</b>	9 (16.07)	0.27	0.66 (0.31, 1.38)
<b>Consumo de tabaco</b>	11 (19.64)	0.07	0.53 (0.27, 1.06)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	28 (50)	0.29	1.34 (0.77, 2.31)
<b>Embarazos previos</b>	52 (92.86)	0.79	0.87 (0.29, 2.53)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	33 (58.93)	0.92	1.02 (0.59, 1.74)
Sangrado	6 (10.71)	0.94	1.03 (0.42, 2.50)
Riesgo de aborto espontáneo	7 (12.50)	0.3	0.65 (0.28, 1.47)
Parto prematuro	8 (14.29)	0.04	2.23 (.01, 5.03)
Embarazo ectópico	2 (3.57)	0.13	3.16 (0.64, 15.63)
Abortos previos	18 (19.15)	11 (19.64)	0.78
EIP	28 (50)	0.39	1.27 (0.73, 2.19)

**Tabla 26.** Asociación de VHS-1 con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 56]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	29 (51.78)	0.01	5.57 (3.39, 9.15)
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	1 (1.79)	0.8	0.76 (0.09, 5.95)
<i>T. pallidum</i>	2 (3.57)	0.05	4.45 (0.84, 23.49)
<i>N. gonorrhoeae</i>	4 (7.14)	0.006	4.58 (1.39, 15.12)
<i>M. genitalium</i>	4 (7.14)	0.01	3.8 (1.18, 12.22)
VPH	10 (17.86)	0.37	(0.67, 2.86)
VIH	2 (3.57)	0.31	0.48 (0.11, 2.05)
VHC	0 (0)	0.76	-
VHS 2	1 (1.79)	0.98	0.98 (0.12, 7.76)
<i>T. vaginalis</i>	35 (62.50)	0	15.42 (8.44, 28.26)

## 6.11 VHS-2

Del total de la población estudiada, en el 1.8 % (n = 12) se detectó el VHS-2 mediante la amplificación del gen glicoproteína D (US6). En la tabla 27 se observan las asociación de la infección por el VHS-2 con los diferentes factores de riesgo.

En la tabla 28 se observan las coinfecciones de las pacientes que fueron positivas para el VHS-2 con otras ITS; se encontró asociación solamente con *M. genitalium* (p = 0.01).

**Tabla 27.** Asociación de VSH-2 con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 12]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	0 (0)	0.15	
20 – 29	3 (25)	0.33	0.52 (0.14, 1.96)
30 – 39	5 (41.67)	0.29	1.85 (0.58, 5.90)
≥ 40	4 (33.33)	0.21	2.12 (0.62, 7.15)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	8 (66.67)	0.82	0.87 (0.25, 2.92)
Empleada / Comerciante	4 (33.33)	0.09	2.71 (0.80, 9.19)
Profesionista	0 (0)	0.25	
Estudiante	0 (0)	0.42	
<b>Estado civil</b>			
Soltera	2 (16.67)	0.7	0.74 (0.16, 3.42)
Divorciada /Separada/ Viuda	1 (8.33)	0.32	2.72 (0.33, 22.07)
Casada	7 (58.33)	0.1	2.53 (0.79, 8.09)
Unión Libre	2 (16.67)	0.1	0.3 (0.07, 1.38)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	2 (16.67)	0.7	0.74 (0.16, 3.42)
≥ 16 años	10 (83.33)	0.7	1.34 (0.29, 6.22)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	5 (41.67)	0.65	0.76 (0.242, 2.44)
2 – 4	6 (50)	0.57	1.38 (0.44, 4.32)
≥ 5	1 (8.33)	0.86	0.83 (0.10, 6.55)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	3 (25)	0.35	1.85 (0.49, 6.97)
Preservativo	5 (41.67)	0.77	1.18 (0.37, 3.78)
DIU	0 (0)	0.24	
OTB	3 (25)	0.005	5.52 (1.43, 21.26)
No usa	1 (8.33)	0.08	0.2 (0.02, 1.56)
<b>Consumo de alcohol</b>	1 (8.33)	0.25	0.31 (0.04, 2.49)
<b>Consumo de tabaco</b>	4 (33.33)	0.81	1.15 (0.34, 3.89)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	3 (25)	0.19	0.43 (0.11, 1.60)
<b>Embarazos previos</b>	12 (100)	0.36	
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	6 (50)	0.55	0.71 (0.22, 2.22)
Sangrado	0 (0)	0.23	
Riesgo de aborto espontáneo	3 (25)	0.49	1.58 (0.42, 5.94)
Parto prematuro	1 (8.33)	0.91	1.11 (0.14, 8.81)
Embarazo ectópico	0 (0)	0.68	
Abortos previos	5 (41.67)	0.86	
EIP	9 (75)	0.032	3.81 (1.02, 14.23)

**Tabla 28.** Asociación de VHS-2 con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 12]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	2 (16.7)	0.39	1.18 (0.17, 4.94)
<i>T. pallidum IgG, IgM</i>	1 (8.3)	0.15	4.13 (0.49, 34.21)
<i>T. pallidum</i>	0 (0)	0.71	-
<i>N. gonorrhoeae</i>	1 (8.3)	0.13	4.45 (0.53, 37.09)
<i>M. genitalium</i>	2 (16.7)	0.01	9.08 (1.82, 45.35)
<b>VPH</b>	2 (16.7)	0.78	1.24 (0.26, 5.77)
<b>VIH</b>	0 (0)	0.34	-
<b>VHC</b>	0 (0)	0.89	-
<b>VHS1</b>	1 (8.3)	0.98	0.98 (0.12, 7.76)
<i>T. vaginalis</i>	2 (16.7)	0.8	1.21 (0.26, 5.62)

## 6.12 *T. vaginalis*

Del total de la población estudiada, en el 14.2 % (n = 94) se detectó *T. vaginalis* mediante la amplificación del gen de la proteína adhesiva con la PCR múltiple. En la tabla 29 se observan las asociación de la infección por el *T. vaginalis* con los diferentes factores de riesgo.

Se detectó que las pacientes infectadas con esta parasitosis son más propensas a tener coinfecciones múltiples, la identificación de *T. vaginalis* se asoció con la presencia de otras ITS como: *C. trachomatis* (p = 0.01), VPH (p = 0.01), VIH (p = 0.02), *T. pallidum* (p = 0.01), *M. genitalium* (p = 0.02) y el VHS tipo 1 (p = 0.01)(Tabla 30).



**Tabla 29.** Asociación de *T. vaginalis* con los factores socio-demográficos, de comportamiento y biológicos en la población estudiada

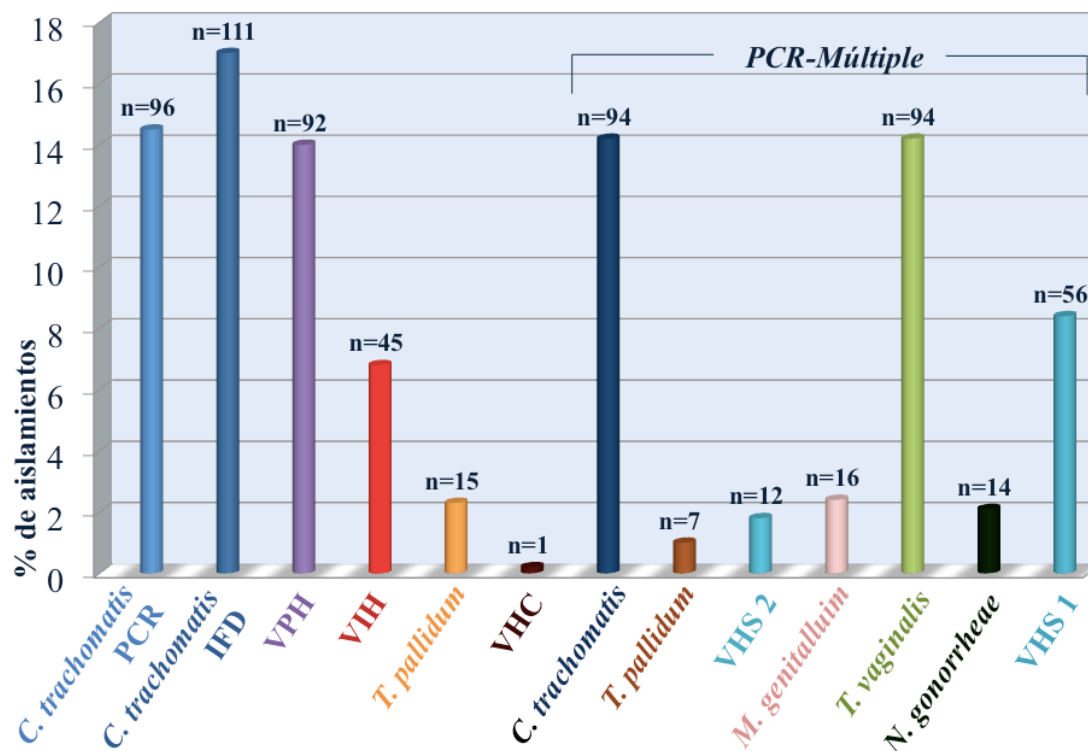
<b>FACTORES SOCIO-DEMOGRÁFICOS</b>			
<b>Características</b>	<b>[n (%), n = 94]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<b>Edad (años)</b>			
14 – 19	14 (14.89)	0.79	1.08 (0.58, 2.00)
20 – 29	40 (42.55)	0.38	1.21 (0.78, 1.89)
30 – 39	25 (26.60)	0.72	0.91 (0.56, 1.49)
≥ 40	15 (15.96)	0.8	0.76 (0.42, 1.37)
<b>Ocupación</b>			
Hogar	65 (69.15)	0.91	0.97 (0.60, 1.56)
Empleada / Comerciante	18 (19.15)	0.34	1.3 (0.74, 2.29)
Profesionista	6(6.38)	0.26	0.61 (0.25, 1.46)
Estudiante	5 (5.32)	0.87	1.08 (0.40, 2.88)
<b>Estado civil</b>			
Soltera	18 (19.15)	0.6	0.86 (0.49, 1.50)
Divorciada /Separada/ Viuda	2 (2.13)	0.48	0.59 (0.13, 2.59)
Casada	30 (31.91)	3.79	0.811 (0.50, 1.29)
Unión Libre	44 (46.81)	0.12	1.41 (0.91, 2.19)
<b>FACTORES DE COMPORTAMIENTO</b>			
<b>Edad de la primer relación sexual</b>			
< 16 años	17 (18.09)	0.43	0.79 (0.45, 1.40)
≥ 16 años	77 (81.91)	0.43	1.25 (0.71, 2.19)
<b>No. de parejas sexuales</b>			
0-1	43 (45.74)	0.63	0.89 (0.58, 1.39)
2 – 4	41 (43.62)	0.755	1.07 (0.69, 1.66)
≥ 5	10 (10.64)	0.73	1.1 (0.54, 2.26)
<b>Métodos anticonceptivos</b>			
Hormonales	20 (21.28)	0.08	1.6 (0.92, 2.76)
Preservativo	33 (35.11)	0.58	0.88 (0.55, 1.39)
DIU	13 (13.83)	0.19	1.52 (0.79, 2.92)
OTB	4 (4.26)	0.43	0.65 (0.22, 1.89)
No usa	24 (25.53)	0.23	0.73 (0.45, 1.21)
<b>Consumo de alcohol</b>	25 (26.60)	0.235	1.35 (0.820, 2,23)
<b>Consumo de tabaco</b>	27 (28.72)	0.73	0.92 (0.56, 1.48)
<b>FACTORES BIOLÓGICOS</b>			
<b>Embarazada en el muestreo</b>	51 (54.26)	0.02	1.66 (1.07, 2.58)
<b>Embarazos previos</b>	87 (92.55)	0.63	0.81 (0.35, 1.89)
<b>Complicaciones en embarazos previos</b>			
Infecciones	54 (57.45)	0.85	0.96 (0.61, 1.49)
Sangrado	5 (5.32)	0.08	0.44 (0.17, 1.13)
Riesgo de aborto espontáneo	14 (14.89)	0.46	0.8 (0.43, 1.46)
Parto prematuro	7 (7.45)	0.96	0.982 (0.428, 2.25)
Embarazo ectópico	2 (2.13)	0.48	1.74 (0.35, 8.51)
Abortos previos	18 (19.15)	0.66	
EIP	44 (46.81)	0.63	1.11 (0.71, 1.72)

**Tabla 30.** Asociación de *T. vaginalis* con otras ITS en la población estudiada.

<b>Microorganismo</b>	<b>[n (%), n = 94]</b>	<b>P</b>	<b>ORa (95% CI)</b>
<i>C. trachomatis</i>	37 (39.36)	0.01	5.57 (3.39, 9.15)
<i>T. pallidum</i> IgG, IgM	4 (4.26)	0.16	2.25 (0.70, 7.22)
<i>T. pallidum</i>	4 (4.26)	0	8.37 (1.84, 38.01)
<i>N. gonorrhoeae</i>	0 (0)	0.12	
<i>M. genitalium</i>	5 (5.32)	0.04	2.84 (0.96, 8.38)
VPH	25 (26.60)	0	2.7 (1.60, 4.57)
VIH	3 (3.19)	0.13	0.41 (0.12, 1.36)
VHC	0 (0)	0.68	
VHS1	35 (37.23)	0	15.45 (8.44, 28.26)
VHS 2	2 (2.13)	0.8	1.21 (0.26, 5.62)

### 6.13 Frecuencia de los microorganismos asociados a ITS

A manera global en el presente trabajo se encontró que el 47.4% (n = 314) de las pacientes estaban infectadas por lo menos de un microorganismo asociado a ITS; el microorganismo con mayor frecuencia detectado en la población estudiada fue *C. trachomatis* con el 15.1 % (n = 94 - 111) en promedio por las diferentes metodologías; el segundo detectado con mayor frecuencia fue *T. vaginalis* con un 14.2%(n = 94); el tercer microorganismo fue VPH con un 13.9% (n = 92); el cuarto microorganismo fue el VHS-1 con un 8.5% (n =56); seguido del VIH con una frecuencia del 6.8% (n = 45); *M. genitalium* se identificó en el 2.4 % (n = 16) de las pacientes; *N. gonorrhoeae* se detectó en el 2.1% (n = 14); el VHS- 2 se detecto en un 1.8% ( n = 12); en menor frecuencia se detectaron *T. pallidum* con un 1.6% (n = 7 -15) en promedio por las dos metodologías usadas; y el VHC se detectó solo en el 0.15% (n = 1) (Figura 13) .



**Figura 13.** Frecuencia de los microorganismos asociados a ITS en la población estudiada por las diferentes metodologías.

## **7. DISCUSIÓN**

## 7. DISCUSIÓN

En cuanto a la prevalencia de las ITS en México, la mayoría de los estudios se han limitado a la evaluación de patógenos individuales, así como las poblaciones con síntomas clínicos de la enfermedad o los comportamientos de alto riesgo (Gonzalez-Pedraza-Aviles et al. 1997; Baltazar Reyes et al. 2005; de Jesus De Haro-Cruz, Deleon-Rodriguez et al. 2011). Este estudio se realizó en mujeres que acudieron a consulta de ginecología y obstetricia para los exámenes de rutina; en este estudio se determinó la frecuencia de las ITS mediante diferentes ensayos en su mayoría fueron basados en la amplificación de ácidos nucleicos.

La frecuencia global de infecciones de transmisión sexual que se observó en la población estudiada fue de 47.4%, (n= 314) que es similar en comparación con otro estudio realizado en Corea, en el cual incluyeron 799 muestras de exudados endocervicales de mujeres coreanas saludables en las cuales se detectó que el 49.2% de la población padecía una o más ITS (Kim et al. 2014). Sin embargo en comparación con otros estudios; la frecuencia reportada en nuestro estudio fue mayor; por ejemplo en el estudio realizado por Mendoza y colaboradores en Paraguay, en 181 mujeres sexualmente activas se detectó una frecuencia de 41.4% (Mendoza et al. 2013). En Brasil un estudio realizado por Oliveira, en el cual incluyó 734 mujeres, detectaron una prevalencia del 19.6% (Oliveira et al. 2008).

También existen reportes en diferentes partes del mundo donde han reportado una frecuencia mayor que la de nosotros; en el estudio realizado por McKechnie en 216 mujeres que asistieron a tres clínicas de salud sexual en Sydney, Australia, reportaron que el 77,7% de la población tenían al menos un microorganismo asociado a las ITS (McKechnie et al. 2011); esta alta frecuencia se puede deber a que las pacientes incluidas en el estudio acudieron a estas clínicas por alguna molestia relacionada con las ITS, a diferencia de nuestro estudio que las pacientes fueron de rutina a consulta. Recientemente un estudio realizado por Magaña y colaboradores en México, detectaron en 201 muestras endocervicales una frecuencia del 57.7%, también siendo superior a lo

que se reporta en este trabajo (Magana-Contreras et al. 2015).

*C. trachomatis* es el agente causal más común de la ITS, el curso de esta infección frecuentemente es asintomático en las mujeres. En este estudio, se determinó la frecuencia y distribución de los genotipos de *C. trachomatis* en pacientes que acudieron a una clínica de ginecología y obstetricia en un hospital público de tercer nivel del estado de Jalisco. Hasta donde conocemos este es el estudio epidemiológico molecular más grande en México, en el que se estudio la frecuencia y genotipos de *C. trachomatis* y su asociación con los factores socio-demográficos, conductuales y biológicos.

La frecuencia de *C. trachomatis* detectada en este estudio fue de 14,5% por PCR. Estudios previos en la población mexicana, mostraron frecuencias de 1,5% a 28%, aunque estos estudios utilizaron diferentes metodologías a la PCR (Esquivel, Briones Ezcarzaga et al. 2003; Guerra-Infante, Flores-Medina et al. 2003). Nuestros resultados se encuentran dentro del rango reportado para México. Aunque la frecuencia de *C. trachomatis* fue mayor que lo previamente reportado en diferentes países del mundo, por ejemplo en un estudio realizado en Australia en el año 2011 en mujeres jóvenes reportaron una frecuencia del 4,9% (Walker et al. 2011); en otro estudio realizado en España se reportó una frecuencia del 4% tanto en mujeres como en hombres (Fernandez-Benitez et al. 2013), en Francia se detectó una frecuencia de 3,6% (Goulet et al. 2010), y en el Reino Unido reportaron una frecuencia del 3% en pacientes que acudieron a clínicas de control de ITS (Fenton et al. 2001).

Las directrices actuales del CDC recomiendan el tamizaje anual de esta bacteria en las mujeres sexualmente activas menores de 25 años de edad y en el caso de las mujeres mayores a 25 años que estén en riesgo de esta infección (Workowski y Bolan 2015). En México, la infección por *C. trachomatis* no es una enfermedad de declaración obligatoria; por lo tanto, las pruebas de rutina no son obligatorias. Este hecho hace difícil obtener datos epidemiológicos fiables de todo el país.

La prevalencia de los genotipos de *C. trachomatis* ha sido identificada en varios países, pero cabe señalar que hay poca información en América Latina. En nuestro estudio los genotipos más frecuentes fueron el E detectado en el 39,6% de las pacientes, seguido del genotipo F con un 29,2%, y el genotipo D con un 15,6%. El único estudio previo realizado en la población mexicana fue realizado por De Haro-Cruz y colaboradores, obtuvieron 152 hisopos de muestras endocervicales de mujeres infértiles, de las cuales en 24 pacientes fueron positivas para *C. trachomatis* siendo una frecuencia del 15,7% en la población estudiada; en cuanto a la distribución de los genotipos realizado por el método de RFLP el tipo F fue el más frecuente con un 54,2% en los casos, seguido de los genotipos E, G, K, L2 con un 8,7% de frecuencia cada uno y los genotipos D, F y I con una frecuencia del 4,2% cada uno (de Jesus De Haro-Cruz, Deleon-Rodriguez et al. 2011).

Los resultados de este estudio son similares a los estudios previamente reportados en América Latina y en otras partes del mundo. Como se mostró en un estudio brasileño en el cual se incluyeron a 141 mujeres, donde el genotipo detectado con mayor frecuencia fue el E con un 39,7% de la población, seguido del genotipo F en un 17,7% y el genotipo D con un 17% (Machado et al. 2011). En otro estudio realizado en Costa Rica, incluyeron a 806 muestras positivas para *C. trachomatis*, en el cual reportaron resultados similares, el genotipo E se reportó con una frecuencia del 31%, seguido del genotipo F con un 21% y el genotipo D también en el 21% de la población (Quint et al. 2007). Otro estudio realizado en Argentina, que incluyó 81 mujeres, el genotipo E también fue el más frecuente (Gallo Vaulet et al. 2010). Se han reportado frecuencias similares en otras partes del mundo como en un estudio realizado en los Países Bajos donde el genotipo E se identificó en el 41,5% de la población estudiada, seguido del genotipo F con un 21,8% y el genotipo D con un 11,9% (Morre et al. 2000); y en China, en donde también el genotipo E fue el más frecuente con un 37,2%, seguido del genotipo F detectado en el 31,3% de la población estudiada (Gao et al. 2007).

En nuestra población, el genotipo L2 se identificó en 3 pacientes sin datos clínicos de LGV. Esta situación se ha descrito previamente en México (de Jesus De

Haro-Cruz, Deleon-Rodriguez et al. 2011). El LGV es una enfermedad de transmisión sexual causada por los serotipos L1, L2 y L3 de *C. trachomatis*, y probablemente afecta a ambos sexos por igual, aunque se ha reportado con mayor frecuencia en los hombres; esto último se puede deber a que las manifestaciones tempranas de LGV son más evidentes en los hombres que en las mujeres. Los hombres a menudo muestran la forma aguda de la enfermedad, mientras que en las mujeres a menudo se desarrollan las complicaciones en las etapas tardías de la enfermedad (Ceovic y Gulin 2015). La mayoría de los casos reportados en Europa y América del Norte se han identificado entre los hombres que tienen sexo con hombres (Ward et al. 2009). Un pequeño número de casos, el genotipo L ha sido reportado en la población heterosexuales en el Reino Unido y Europa; En el 2004 en el Reino Unido se reportó la presencia de LGV en siete mujeres, pero estos casos parecen estar vinculados a sus parejas bisexuales o por algún contacto sexual con personas que regresan de zonas endémicas (Ward et al. 2007).

Curiosamente, las pacientes que estaban casadas o vivían en pareja estaban en mayor riesgo de contraer infección por *C. trachomatis*, esto puede explicarse porque esta población no previene la infección con el uso de un método de protección como el preservativo.

Se detectó una asociación con el uso de métodos anticonceptivos hormonales y el riesgo de padecer la infección; confirmando los estudios previamente realizados por Mohllajee y colaboradores (Mohllajee et al. 2006). El uso de anticonceptivos hormonales se ha asociado con una mayor tasa de colonización de las bacteria en el cuello uterino, esto se cree que sea por la producción de estrógenos (Hart 1993).

Estudios recientes mostraron que el uso del DIU es seguro para todas las mujeres, incluidas las personas con alto riesgo de infecciones de transmisión sexual (Birgisson et al. 2015). En este estudio, se encontró que las pacientes que refirieron el uso del DIU presentaron una mayor asociación con la infección con *C. trachomatis*, esto puede deberse a algún traumatismo causado por el uso de DIU, el cual aumenta la probabilidad que la infección.



Es de especial preocupación la fuerte asociación entre las pacientes que se encontraban embarazadas al momento de realizar la toma de muestra con la presencia de la infección con *C. trachomatis*. Cabe señalar que el diagnóstico rápido en esta población es una piedra angular para la prevención de la infección en el recién nacido (Borborema-Alfaia et al. 2013).

En el presente estudio se detectó una asociación de las pacientes infectadas por *C. trachomatis* con la EIP. Varios estudios han demostrado que las mujeres que dan positivo para *C. trachomatis* tienen un mayor riesgo de EPI a lo largo de su vida reproductiva en comparación con las mujeres que dan negativo a la identificación de la bacteria (Bakken y Ghaderi 2009), también se ha sugerido que el riesgo de EPI puede aumentar las infecciones repetidas (Haggerty et al. 2010).

La posible asociación de los genotipos de *C. trachomatis* con síntomas clínicos específicos o patogenicidad de la enfermedad no se ha descrito por completo. En estudios previos han encontrado asociaciones; por ejemplo en un estudio realizado por Morré reportan que el genotipo K se asoció con la presencia de flujo vaginal (Morre et al. 2000); En este trabajo se detectó que el genotipo K se presentaba con mayor frecuencia en mujeres con múltiples parejas. Por otra parte, el genotipo F se detectó con mayor frecuencia en las mujeres embarazadas; en estudios previos el genotipo F se ha asociado a la presencia de descarga mucopurulenta endocervical y la inflamación de la uretra en el caso de los hombres, pero no en las mujeres (Workowski et al. 1994). Las mujeres que refirieron dolor abdominal tenían más probabilidades de estar infectados con el genotipo F. En este estudio se encontró una asociación entre el genotipo E y pacientes que habían tenido embarazos previos, así como con las pacientes que informaron la presencia de flujo vaginal de color verde, y embarazos ectópicos previos. En un estudio previo, realizado en la Universidad de Buenos Aires por Gallo y colaboradores, se obtuvieron 199 muestras positivas para *C. trachomatis* recolectadas en un periodo del 2006 al 2009, dando como resultado la asociación del genotipo E con la conjuntivitis en los recién nacidos (Gallo Vaulet, Entrocassi et al. 2010).

La ventaja del método de RFLP es su capacidad para detectar infecciones mixtas, pero esta capacidad puede ser sobrestimada, debido a que la PCR favorezca el genotipo más abundante, y los otros pueden no ser detectados o puede mostrar sólo bandas tenues (Yang et al. 1993).

Otra alternativa que se pudo haber usado fue la secuenciación del ADN de *OmpA*, la cual tiene una resolución más alta y puede discriminar cepas clínicamente en las poblaciones de alto riesgo (Dean et al. 1995). Sin embargo, cuando se aplica a poblaciones al azar, la resolución de la secuenciación del gen *OmpA* restringe la cantidad de información epidemiológica. Las metodologías alternativas sugeridas que para la genotipificación se incluya, una combinación de inmunoensayo enzimático PCR de ADN con hibridación inversa (Quint et al. 2007), PCR multiplex, PCR en tiempo real (Stevens et al. 2010) y una matriz de suspensión de microesferas (Huang et al. 2008). Otra técnica utilizada son los microarreglos, los cuales son una tecnología que ha surgido recientemente como una alternativa prometedora para el diagnóstico microbiano. Si bien la mayoría de los equipos disponibles en el mercado sigue siendo caro y fuera del alcance de los laboratorios de diagnóstico normales, el ArrayTube™ y ArrayStrip™ plataformas han demostrado funcionar con aplicaciones de diagnóstico de rutina (Borel et al. 2008; Monecke et al. 2008). Otra alternativa es la tipificación de secuencias de multilocus (MLST) implica la purificación de ADN, amplificación por PCR de varias regiones genéticas diferentes, secuenciación del ADN, y análisis bioinformático; esta es una técnica ampliamente utilizada para la genotipificación bacteriana y su éxito se debe en parte a la disponibilidad de las herramientas de análisis gratuitos, como eBURST, y la práctica de la toma de datos de fácil acceso a través de bases de datos públicos en línea (van Belkum et al. 2007). Los sistemas de MLST se basan generalmente en la evolución de los genes de limpieza, que los hacen adecuados para los estudios evolutivos. Dos de tales sistemas se han desarrollado para *C. trachomatis* en el año 2008 (Pannekoek et al. 2008) 2009 (Dean et al. 2009). Estos dos sistemas sin embargo, ofrecen una resolución comparable a la de *OmpA*. Otros sistemas de MLST se basan en más genes variables para aumentar la

resolución. Un sistema de ese tipo para *C. trachomatis* fue desarrollado por Klint y colaboradores en el 2007 (Klint et al. 2007). El cual se basa en cinco regiones genéticas muy variables que llevan el nombre de los genes o en un marco hipotético de lectura abierto que constituyen la mayoría de la región: *hctB* CT058, CT144, CT172, y *pbpB*. Este sistema proporciona resolución tres veces mayor que *OmpA*. Este sistema se ha utilizado en una variedad de estudios, tales como el estudio epidemiológico de la distribución de tracoma en África (Harding-Esch et al. 2010), para determinar la propagación clonal de la nueva variante *C. trachomatis* (Klint et al. 2011); el análisis de las manifestaciones clínicas de la infección urogenital (Christerson et al. 2011); la investigación de la alta incidencia de *C. trachomatis* en el Norte de Noruega (Gravningen et al. 2012) y la propagación clonal de LGV entre hombres que tienen sexo con hombres en Europa (Christerson et al. 2010). Las complicación de estas metodologías es que son difíciles de realizar en un entorno de diagnóstico de rutina; entre sus limitaciones es que son de alto costo, laboriosas y se requiere de equipo especial para su desarrollo.

Las diferencias entre las frecuencias reportadas de la infección por *C. trachomatis* entre regiones se puede deber a los patrones de comportamiento sexual y los esfuerzos de control de la infección por esta bacteria, pero también podría ser el resultado de variaciones en el diseño del estudio y las tasas de participación. Datos fiables sobre la frecuencia de estas infecciones son escasos y más acerca de la frecuencia por edad y región específica, incluyendo la distribución de los genotipos, así como su asociación con ciertas patologías. La infección por *C. trachomatis* no es una de las enfermedades de declaración obligatoria en México, en consecuencia, el diagnóstico de la infección no es de rutina, por lo que la frecuencia de esta ITS no se conoce a fondo en nuestra población.

*T. pallidum* es el responsable de la sífilis, la cual es una ETS que suele afectar de manera importante a las mujeres en edad reproductiva y a sus hijos, por su capacidad de transmisión vertical. La OMS ha estimado que existe una incidencia de sífilis entre la población adulta de Latinoamérica y el Caribe de tres millones anuales, estimando una

prevalencia de 1.3% en mujeres en nuestro continente (Arnesen, Martinez et al. 2015). En México los estudios en cuanto a la identificación de *T. pallidum* se enfocan principalmente en grupos de riesgo.

La detección temprana de la sífilis durante el embarazo es fundamental para la salud de la madre y la del feto permitiendo el inicio del tratamiento de forma oportuna. Se estima que 1.8 millones de mujeres embarazadas en todo el mundo están infectadas con sífilis y menos del 10% son diagnosticados y tratados. La estrategia para la eliminación de la sífilis congénita fue lanzada por la OMS en el 2012, cuando se asoció con estrategias para la prevención de la transmisión vertical del VIH. La Organización Panamericana de la Salud tiene como objetivo la eliminación de la sífilis congénita en América; eliminación se define como la ocurrencia de <0.5 casos por 1.000 nacidos vivos.

En la población que se encontraba embarazada al momento de realizar la toma de muestra en el 2.4 % (n = 7) se detectaron anticuerpos IgG e IgM de *T. pallidum* y en el 0.69 % (n = 2) se detectó la bacteria mediante PCR; esta frecuencia en las pacientes embarazadas es menor a la previamente reportada en nuestro país; aunque es difícil obtener el dato real de la frecuencia de sífilis en embarazadas en nuestra país, según datos del Comité de Monitoreo y Evaluación del Consejo Nacional para la Prevención y Control del Sida en el año 2013, de las 2,279,365 de mujeres que se asistieron a atención prenatal, a 1,309,615 se les realizó la prueba de sífilis. Esto representa una cobertura del 57.5% en el total de los casos; detectándose en el 0.22% de la población estudiada la presencia de *T. pallidum* (Vazquez-Campuzano et al. 2014).

La diferencia de las frecuencias de *T. pallidum* por las metodologías empleadas se puede deber al periodo de ventana de la infección, que dura aproximadamente 3 semanas; ya que la quimioluminiscencia es una prueba que detecta los anticuerpos que son generados por el organismo frente a la bacteria; normalmente el organismo tarda cierto tiempo en generarlos después de haber estado expuestos a la bacteria. Si la infección es muy reciente probablemente no haya creado anticuerpos por lo que esta

prueba pueda no detectarlos, a diferencia del diagnóstico molecular que nos permite reducir el periodo de ventana hasta pocos días después de haber estado expuesto a la bacteria esto se debe por la alta sensibilidad del método.

*N. gonorrhoeae* es la responsable de la gonorrea; la cual es una enfermedad endémica en muchos países no industrializados, mientras que en los industrializados se ha detectado una baja en su incidencia y prevalencia.

La OMS estima una prevalencia del 0.8% en mujeres en América; según datos de *National Health and Nutrition Examination Survey* (NHANES) la frecuencia de gonorrea entre mujeres de 15 a 39 años fue de 0.32%, estos reportes indican que la frecuencia de 2.11% encontrada en la población estudiada es alta; Sin embargo se reportó lo contrario en el trabajo realizado por Muvunyi y colaboradores, donde en el 4.1% de 242 muestras vaginales detectaron *N. gonorrhoeae* mediante la amplificación del pseudo gen *porA* con PCR múltiple, cabe señalar que es la misma metodología utilizada en este estudio, en la cual se ha demostrado que esta PCR tiene una sensibilidad y especificidad del 100% (Muvunyi et al. 2011).

En un estudio realizado por Mendoza, no detectaron la presencia de esta bacteria, esto pudo deberse a que realizaron la identificación mediante cultivo microbiológico (Mendoza, Mongelos et al. 2013); que fue lo mismo que nos sucedió a nosotros en la identificación de *N. gonorrhoeae* por este método; aunque esta metodología tiene una alta especificidad y sensibilidad, tiene algunos inconvenientes, especialmente cuando no se procesa de inmediato la muestra, cabe señalar que esta bacteria no sobrevive más de 24 horas; se necesita de un medio especial para su transporte, esto fue la causa más probable que sucedió en nuestro estudio, ya que las muestras fueron recolectadas en el Servicio de Ginecológica y Obstetricia del Hospital Civil de Guadalajara “Fray Antonio Alcalde” y fueron enviadas al Laboratorio Central del Departamento de Patología Clínica del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” en Monterrey, lo que hizo que el mantenimiento de las condiciones no fueran óptimas para el cultivo microbiológico.

*M. genitalium* es reconocido como un agente etiológico de la uretritis no gonocócica en los hombres, mientras que en las mujeres se reconoce como agente etiológico de la inflamación del cuello uterino, la infertilidad y la EPI.

Falk y colaboradores en un estudio realizado en mujeres que acudieron a una clínica de enfermedades de transmisión sexual en Orebro, Suecia, a partir de muestras de orina y exudados cervicales encontraron una frecuencia del 6% de *M. genitalium* (Falk et al. 2005); siendo mayor que lo que se encontró en este estudio. En cambio Walker y colaboradores mediante un estudio de cohorte realizado en mujeres australianas de 16 a 24 años que acudieron a una clínica de atención primaria detectaron una frecuencia 2.4% (Walker, Fairley et al. 2011); similar a la de nuestra población. Sin embargo en Brasil, Rodrigues y colaboradores informaron una frecuencia de sólo el 0,9% (Rodrigues et al. 2011); lo cual es una frecuencia menor a la que detectada en este estudio; mismo situación sucedió con el reciente trabajo publicado en México por Magaña y colaboradores en el cual detectaron *M. genitalium* solo en el 0.5% de 201 muestras endocervicales (Magana-Contreras, Contreras-Paredes et al. 2015).

En general la prevalencia de infecciones por *M. genitalium* reportada a nivel mundial varía desde el 1 a 10% en la mayoría de las poblaciones (Manhart et al. 2007). *M. genitalium* es detectado con mayor frecuencia en poblaciones con factores de riesgo, alcanzando cifras de 20 a 40% en trabajadoras sexuales (Cohen et al. 2007). Tal es el caso de Casin y colaboradores en el cual observaron una alta frecuencia de *M. genitalium* en mujeres que asistieron a una clínica de ETS en París, donde reportó una frecuencia del 39%.(Casin et al. 2002).

El VPH es considerado como la causa de infección vírica más común en el tracto reproductivo (Rosen, Walter et al. 2015). Esta infección se ha detectado con mayor frecuencia en las mujeres jóvenes, y los datos epidemiológicos indican que al menos el 70% de las mujeres sexualmente activas estarán infectadas al menos una vez durante su vida; las infecciones por VPH genitales son en su mayoría transitoria y sólo una pequeña

proporción de mujeres infectadas tienen infecciones persistentes que pueden progresar a cáncer de cuello uterino (Bosch et al. 2008).

A nivel mundial la OMS estima una frecuencia del 10% en mujeres sanas; en Centro América y México la OMS estima una frecuencia del 20.5%; la cual es mayor a la que nosotros detectamos en nuestro estudio. En otros estudios realizados en México en población abierta han reportado una frecuencia de VPH entre 4.8% y 43.6% (Illades-Aguilar et al. 2010; Orozco-Colin et al. 2010; Lopez Rivera et al. 2012). En estudios recientes en nuestro país, Salcedo y colaboradores detectaron una frecuencia del 33.8% en muestras con citología normal en mujeres que acudieron al Instituto Mexicano del Seguro Social (Salcedo et al. 2014); Magaña y colaboradores reportaron una frecuencia del 18.4% en mujeres asintomáticas (Magana-Contreras, Contreras-Paredes et al. 2015); Las frecuencias de ambos trabajos es mayor que la reportada en nuestra población; caso contrario lo reportado por López Rivera y colaboradores en el cual tomaron 929 muestras de mujeres sanas que acudieron a la Clínica de Especialidades de la Mujer de la Secretaría de la Defensa Nacional, en la Ciudad de México; reportando una frecuencia del 9.1% (Lopez et al. 2014).

Una posible explicación de la diferencia en la prevalencia de VPH reportados en nuestro país se puede deber a las diferentes metodologías utilizadas para la detección de VPH, ya que tienen diferente sensibilidad y especificidad.

La frecuencia y distribución de los genotipos de VPH, es importante la planificación de estrategias de diagnóstico y prevención hacia las enfermedades relacionadas con este virus. Los tipos 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58 del VPH, y 59 son los tipos más comunes en la población general de mujeres en todo el mundo, que representan el 70% de las infecciones por VPH (Clifford et al. 2005).

El genotipo con mayor frecuencia reportado en este estudio fue el tipo 16, el cual es el genotipo más común encontrado en mujeres sanas en todo el mundo (Bruni et

al. 2010). La OMS reporta que los genotipos 16 y 31 más frecuentes en nuestra región, siendo similar a lo que encontramos en este estudio.

Algunos estudios han reportado que el tipo 58 es el genotipo más frecuente en las regiones del sur de México, con una prevalencia del 55,9% (Gonzalez-Pedraza et al. 2003); la frecuencia de este genotipo fue menor en nuestra población con un 10.9%.

El genotipo 52 se considera que es el tipo más común en ciertas regiones de África Oriental, Taiwán e Italia, y se ha asociado con las poblaciones inmigrantes (Meloni et al. 2014); en nuestra población este genotipo se reportó en el 8.7% de la población, siendo el sexto lugar en cuanto a frecuencia de los genotipos de alto riesgo.

Sin embargo, algunos informes han demostrado que la prevalencia y distribución de genotipo HPV varía enormemente en todo el mundo (de Sanjose et al. 2013).

En nuestro estudio el genotipo 18 solo se detectó en una paciente, representando el 1.1% de la población positiva con VPH; dato similar fue publicado recientemente en Mayo de 2015 por Magaña en el cual no detectaron ningún caso con este genotipo (Magana-Contreras, Contreras-Paredes et al. 2015). Cabe señalar que el genotipo 18 está asociado a comportamientos más agresivos y se detecta principalmente en lesiones de alto grado (Lizano et al. 2006). Esto también se puede deber a la aplicación previa de la vacuna en nuestra población; en México las vacunas que se suministran abarcan los genotipos 6, 11, 16 y 18.

Recientemente la FDA aprobó la vacuna Gardasil 9, la cual tiene el potencial de prevenir aproximadamente el 90% de las lesiones causadas en cuello uterino, vulva, vagina y ano, por los genotipos 16, 18, 31, 33, 45, 52 y 58, y para la prevención de las verrugas genitales causadas por los genotipos 6 o 11 (Printz 2015); cabe señalar que estos genotipos fueron los detectados con mayor frecuencia en nuestro estudio, con estas frecuencias: 16 (33.7%), 31 (15.2%), 33 (9.8%), 45 (14.1%), 52 (8.7%), 58 (10.9%) y 6



(30.4%). El aplicar esta vacuna en nuestro país tendría un impacto sustancial en la reducción de las tasas de incidencia del cáncer cervical en la población en general.

El VIH afecta el sistema inmunitario y debilita los sistemas de vigilancia y defensa contra infecciones y algunos tipos de cáncer; la fase más avanzada de la infección por este virus se conoce como SIDA (Bennett et al. 2015).

La frecuencia reportada en nuestra población es del 6.8%, esta frecuencia es muy alta a comparación con la nivel mundial, y en nuestra región; la OMS en el año 2013 estimó una prevalencia global del 0.8% en la población adulta, en América latina parece indicar una estabilización de la epidemia. El número de nuevas infecciones disminuyó notablemente entre el 2001 y el 2011, de 93,000 a 83,000 en América Latina. Asimismo, el número de muertes por causas relacionadas con el SIDA cayó durante los mismos años, de 82,000 a 54,000, gracias a la provisión de tratamientos antirretrovirales (Mimiaga et al. 2015). Sin embargo, los números varían considerablemente según el país y dentro de cada país según el área geográfica. La tasa de prevalencia de VIH en América Latina representa alrededor de un 0.4% (Coelho et al. 2015).

Según estimaciones conjuntas realizadas por Onusida-Censida, a finales del 2013 existían 180 mil personas viviendo con VIH y SIDA. La prevalencia de VIH en la población mayor a 5 años fue del 0.2 %, lo que significa que dos de cada mil personas de esas edades estaba viviendo con el VIH. Se considera una prevalencia baja y su tendencia se ha estabilizado en los últimos diez años (Bazzi, Rangel et al. 2015).

La alta frecuencia de VIH encontrada en nuestro estudio se puede deber al tipo de población que acude a la consulta de ginecología del Hospital Civil de Guadalajara, ya que existen colaboraciones con diferentes instituciones que apoyan a mujeres infectadas con este virus; esto puede ser un sesgo en nuestra población. Esta bien descrito que ciertos grupos de la población presentan mayor vulnerabilidad y riesgo al VIH: Entre ellos, los hombres que tienen sexo con hombres, los y las trabajadores sexuales y sus clientes, y los usuarios de drogas inyectables. Recientemente Bautista y

colaborados en nuestro país reportaron la prevalencia para hombres que tienen sexo con hombres de 16.1% (Bautista-Arredondo et al. 2013); en un estudio realizado en Argentina en personas transgénero la frecuencia del VIH asciende al 27.6% (Carobene et al. 2014); en otro estudio realizado en TS mujeres de Honduras se estima la frecuencia en 9.6% (Kim et al. 2013); y en usuarios de drogas inyectables alrededor de 9.1% en Paraguay (Aguayo et al. 2008).

Según el Informe Nacional de Avances en la Respuesta al VIH y el SIDA de México en el 2014 del total de personas infectadas por el VIH, se ha estimado que el 50% no lo saben. En 1983 se reportó el primer caso de SIDA en México. Desde esa fecha, y hasta el 30 de septiembre del 2014, existe un registro acumulado de 223 mil 995 personas que se han infectado por el VIH o desarrollado el sida. El 80.2 % de los casos corresponden a hombres y el 19.8 % a mujeres, lo que significa una proporción de 4:1. Por edades, el 2.1 % ocurrieron en menores de 15 años de edad; el 33.5 % en jóvenes de 15 a 29 años; el 63.8 % en adultos de 30 años y más; y en el 0.6 % se desconoce la edad; estos resultados son similares a los encontrados en nuestro estudio.

El 95.1% de los casos de VIH son resultado de relaciones sexuales no protegidas, cabe señalar que el 55.5 % (n = 25) de nuestra población positiva para VIH, refirió nunca usar preservativo como método de protección; el 2.9% se produjeron por vía sanguínea y el 2.0% por transmisión perinatal.

En Jalisco la incidencia acumulada en el periodo de 1983 a 2014 fue de 185 casos de VIH aproximadamente por cada 100 mil habitantes.

Las condiciones estructurales de desigualdad social propician una mayor vulnerabilidad en las mujeres, la cual es de tipo biológico, epidemiológico, social y cultural. A nivel biológico, se ha comprobado que en las relaciones heterosexuales la mujer es de dos a cuatro veces más vulnerable a la infección por el VIH que el hombre. La transmisión del hombre a la mujer es más probable, puesto que durante el coito vaginal el área superficial del aparato genital femenino expuesta a las secreciones

sexuales del compañero es más grande que la del hombre. Además, la concentración de VIH generalmente es más alta en el semen del hombre que en las secreciones sexuales de la mujer.

La hepatitis C es una enfermedad del hígado causada por el virus del mismo nombre; ese virus puede causar una infección, tanto aguda como crónica, cuya gravedad varía entre una dolencia leve que dura algunas semanas, y una enfermedad grave de por vida; la infección crónica por el VHC es un problema de salud mundial (Fabrizi et al. 2015).

A nivel global se estima que el 2.35% de la población, es decir, de 150 a 160 millones de personas están infectadas por VHC y se proyecta un aumento en la prevalencia de tres veces para el año 2020 (Messina et al. 2015). En México no hay cifras exactas sobre el número de personas que se diagnostican anualmente con la enfermedad porque no existe un reporte. La frecuencia del VHC es de 1.2 a 1.4% en la población abierta en nuestro país (Cruz-Ruiz et al. 2013); este porcentaje es mayor a lo encontrado en nuestra población el cual se reportó solo en el 0.15% (n = 1) de las pacientes; esto se puede deber a la edad de la población, ya que la mayoría de las personas infectadas con el VHC en México fueron contagiadas por transfusiones cuando aún no se detectaba la presencia del virus, antes de 1995. En México ya no se considera la transfusión de sangre como factor de riesgo; actualmente la forma principal de contagio se da por el uso de drogas intravenosas y ninguna de nuestras pacientes refirió usar este tipo de drogas. Otro factor que puede estar asociado a la baja frecuencia del virus es que solo el 5.7% (n = 38) de la población, siendo la minoría, tienen más de 50 años, los cuales pertenecen al grupo llamado “Baby Boomers” nacidos entre 1945 y 1965, se estima que a este grupo pertenecen más del 75% de los adultos infectados con el virus, ya que se cree que la mayoría de los boomers se infectaron en los años 1970 y 1980, cuando las tasas de hepatitis C fueron las más altas (Newland 2015).

Nuestra paciente que dio positivo para el VHC, no refirió síntomas relacionados con esta infección. Según la Fundación Mexicana para la Salud Hepática en nuestro país

más del 80% de los casos evolucionan de una enfermedad aguda a crónica y posteriormente a una cirrosis. Los medicamentos han evolucionando favorablemente a partir de 1991 cuando se describió por primera vez el virus. Cuando se empezó a tratar la enfermedad se usaba sólo interferón pero el porcentaje de curación iba entre el 5 y el 8%. Después se le agregó la ribavirina, pero con eso ni al 25% de los casos se lograban curar, posterior a esto se le agregó al interferón un azúcar para que circulara más tiempo en la sangre y las inyecciones se pudieran espaciar; así surgió lo que se conoce hoy como interferón pegilado, que mejoró los niveles de tratamiento hasta un 45%; después las probabilidades de eliminación del virus se incrementaron hasta el 70% sumando los antivirales directos de primera generación. La esperanza actualmente es que sea sustituido con la segunda generación de antivirales directos, y se logre un tratamiento combinado, donde los resultados a nivel mundial han mostrado hasta 100% de efectividad en la eliminación del virus. Incluso se dice que la hepatitis C va a ser la primera infección por virus que se pueda curar con tratamiento en la historia de la medicina (Soriano et al. 2015).

En México el Seguro popular está considerando a la hepatitis C como una enfermedad catastrófica y tiene autorizado el tratamiento estándar pero con la posibilidad abierta de incluir estos nuevos tratamientos para el acceso a la población en general.

La infección por el virus del herpes simple, generalmente llamada herpes, puede deberse al VHS-1 o al VHS-2. El VHS-1 se transmite sobre todo por contacto boca a boca, mientras que el VHS-2 se transmite por vía sexual y puede producir úlceras genitales dolorosas (Gluck et al. 2015).

A nivel mundial, la tasa de infección del VSH-1 y VSH-2 es de alrededor de 90%. A pesar de que muchas personas infectadas desarrollan lesiones labiales o genitales, la mayoría no son diagnosticada ya que no muestran síntomas físicos.

La frecuencia reportada en nuestro estudio fue del 1.8% para el VHS-2 y 8.5% para el VHS-1; esta cifra es inferior con lo reportado a nivel mundial; la OMS en el 2012 estimó una prevalencia global de 11.3% en cuanto al VHS-2, estimando que 417 millones de personas de 15 a 49 años viven con la infección en todo el mundo; en América se estima una prevalencia del 14,4%; la NHANES estima una prevalencia del 21.7% en mujeres; lo similar se observa en un estudio realizado por Uribe y colaboradores en la ciudad de México donde reportaron una frecuencia del 17.3%.

La baja frecuencia detectada, puede estar asociada a que la mayoría de los estudios previos tanto en nuestro país como en el resto del mundo son realizados por metodologías serológicas en las cuales buscan anticuerpos contra HSV-1 y HSV-2, existen muy pocos estudios realizados mediante TAAN.

Según estimaciones de la OMS, la frecuencia de *T. vaginalis* en América es del 22 % en mujeres, siendo menor a lo que se detectó en este estudio, ya que solo en el 14.2% de las mujeres estudiadas se detectó el parásito; a diferencia de las estimaciones reportadas por la NHANES en Estados Unidos, la frecuencia detectadas fue del 3.15% en mujeres de 15 a 49 años.

En un estudio realizado en nuestro país por López-Monteón y colaboradores, realizaron la detección de *T. vaginalis* por PCR de 252 muestras de orina en una población de bajo riesgo atendidas en una clínica de primer nivel en el centro de Veracruz, detectaron que en el 23.4 % de la población se detectó *T. vaginalis* (Lopez-Monteon, Gomez-Figueroa et al. 2013), siendo mayor que la que se reportó.

## **8. CONCLUSIONES**

## 8. CONCLUSIONES

- ✓ Es el estudio epidemiológico molecular más grande de la frecuencia de las ITS en México y su asociación con los diferentes factores de riesgo.
- ✓ La frecuencia del VHC, VPH, VHS -1, VHS-2, *M. genitalium* y *T. vaginalis* fue menor que la reportada a nivel mundial.
- ✓ Se detectó una alta frecuencia de VIH, *C. trachomatis*, *T. pallidum* y *N. gonorrhoeae* que la reportada a nivel mundial.
- ✓ Los genotipos de *C. trachomatis* con mayor frecuencia detectados en las pacientes fueron el tipo E y F.
- ✓ Los genotipo del VPH con mayor frecuencia detectado fueron los tipos 16 y 6.
- ✓ Las pacientes infectadas con *T. vaginalis* son más propensas a tener coinfecciones múltiples. ( $p < 0.05$ ).
- ✓ El microorganismo más comunmente reportado en el cultivo fue *E. faecalis*.

## **9. PERSPECTIVAS**



## PERSPECTIVAS

- ✓ Dar seguimiento a las pacientes incluidas en este estudio, principalmente a las que se encontraban embarazadas durante el muestreo y a sus hijos; así como valorar la posibilidad de infecciones transitorias.
- ✓ Estudiar a las parejas sexuales de las pacientes incluidas, para determinar la frecuencia de microorganismos asociados con ITS y una mejor comprensión de la transmisión de estas infecciones.
- ✓ Evaluar la inmunogenética de las diferentes ITS en mujeres que acuden a consulta de ginecología y obstetricia mediante el estudio de polimorfismos genéticos de diversas citocinas que estén vinculadas con este tipo de infecciones.
- ✓ Secuenciar las muestras positivas de VPH para la identificación de nuevos genotipos en la población estudiada.
- ✓ La implementación de técnicas al laboratorio de diagnóstico para la identificación de microorganismos asociados a ITS, para conocer de manera mas global la frecuencia de las ITS en nuestro país en diferentes poblaciones, con el fin de implementar medidas de prevención para el control de estas infecciones.
- ✓ Estudiar los perfiles de sensibilidad de las ITS frente a diversos antimicrobianos.
- ✓ El desarrollo y mejora de vacunas para el control y erradicación de patologías causadas por estos microorganismos.

## **10. BIBLIOGRAFÍA**

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- (2014). "Recommendations for the laboratory-based detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae--2014." MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Centers for Disease Control **63**(RR-02): 1-19.
- (2015). "HIV Drug Therapy in the Americas 16-18 April 2015, Mexico City, Mexico." Journal of the International AIDS Society **18**(3 Suppl 2): 20177.
- Abbai, N. S., H. Wand, et al. (2015). "Socio-demographic and behavioural characteristics associated with HSV-2 sero-prevalence in high risk women in KwaZulu-Natal." BMC research notes **8**: 185.
- Abildgaard, S. K., S. Ottosen, et al. (2014). "[Visual symptoms by syphilis.]" Ugeskrift for laeger **176**(25A).
- Aguayo, N., V. A. Laguna-Torres, et al. (2008). "Epidemiological and molecular characteristics of HIV-1 infection among female commercial sex workers, men who have sex with men and people living with AIDS in Paraguay." Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical **41**(3): 225-231.
- Anaya-Ruiz, M., A. K. Vincent, et al. (2014). "Cervical cancer trends in Mexico: incidence, mortality and research output." Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP **15**(20): 8689-8692.
- Arnesen, L., G. Martinez, et al. (2015). "Gestational syphilis and stillbirth in Latin America and the Caribbean." International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics **128**(3): 241-245.
- Bakken, I. J. and S. Ghaderi (2009). "Incidence of pelvic inflammatory disease in a large cohort of women tested for Chlamydia trachomatis: a historical follow-up study." BMC infectious diseases **9**: 130.
- Baltazar Reyes, M. C., L. Rivera Rivera, et al. (2005). "[Prevalence of sexually transmitted infections and associated risk factors among female commercial sex workers in Cuautla, Morelos]." Ginecologia y obstetricia de Mexico **73**(1): 36-47.
- Bauer, D. W., J. B. Huffman, et al. (2013). "Herpes virus genome, the pressure is on." Journal of the American Chemical Society **135**(30): 11216-11221.
- Bautista-Arredondo, S., M. A. Colchero, et al. (2013). "Is the HIV epidemic stable among MSM in Mexico? HIV prevalence and risk behavior results from a nationally representative survey among men who have sex with men." PloS one **8**(9): e72616.
- Bazan, J. A., P. Carr Reese, et al. (2015). "High prevalence of rectal gonorrhea and Chlamydia infection in women attending a sexually transmitted disease clinic." Journal of women's health **24**(3): 182-189.
- Bazzi, A. R., G. Rangel, et al. (2015). "Incidence and Predictors of HIV and Sexually Transmitted Infections Among Female Sex Workers and Their Intimate Male Partners in Northern Mexico: A Longitudinal, Multilevel Study." American journal of epidemiology **181**(9): 723-731.

- Bennett, D. S., K. Traub, et al. (2015). "Shame among people living with HIV: a literature review." *AIDS care*: 1-5.
- Bennett, H., P. McEwan, et al. (2015). "Assessing the Long-Term Impact of Treating Hepatitis C Virus (HCV)-Infected People Who Inject Drugs in the UK and the Relationship between Treatment Uptake and Efficacy on Future Infections." *PloS one* **10**(5): e0125846.
- Birgisson, N. E., Q. Zhao, et al. (2015). "Positive Testing for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* and the Risk of Pelvic Inflammatory Disease in IUD Users." *Journal of women's health* **24**(5): 354-359.
- Borborema-Alfaia, A. P., N. S. Freitas, et al. (2013). "Chlamydia trachomatis infection in a sample of northern Brazilian pregnant women: prevalence and prenatal importance." *The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of the Brazilian Society of Infectious Diseases* **17**(5): 545-550.
- Borel, N., E. Kempf, et al. (2008). "Direct identification of chlamydiae from clinical samples using a DNA microarray assay: a validation study." *Mol Cell Probes* **22**(1): 55-64.
- Bosch, F. X., A. N. Burchell, et al. (2008). "Epidemiology and natural history of human papillomavirus infections and type-specific implications in cervical neoplasia." *Vaccine* **26 Suppl 10**: K1-16.
- Bosnjak, Z., S. Dzijan, et al. (2012). "Distribution of *Chlamydia trachomatis* serotypes in clinical urogenital samples from north-eastern Croatia." *Curr Microbiol* **64**(6): 552-560.
- Brotman, R. M., E. J. Erbeling, et al. (2007). "Findings associated with recurrence of bacterial vaginosis among adolescents attending sexually transmitted diseases clinics." *Journal of pediatric and adolescent gynecology* **20**(4): 225-231.
- Brotman, R. M., J. Ravel, et al. (2014). "Microbiome, sex hormones, and immune responses in the reproductive tract: challenges for vaccine development against sexually transmitted infections." *Vaccine* **32**(14): 1543-1552.
- Bruni, L., M. Diaz, et al. (2010). "Cervical human papillomavirus prevalence in 5 continents: meta-analysis of 1 million women with normal cytological findings." *The Journal of infectious diseases* **202**(12): 1789-1799.
- Burcea, M., A. Gheorghe, et al. (2015). "Incidence of Herpes Simplex Virus Keratitis in HIV/AIDS patients compared with the general population." *Journal of medicine and life* **8**(1): 62-63.
- Burckhardt, F., P. Warner, et al. (2006). "What is the impact of change in diagnostic test method on surveillance data trends in *Chlamydia trachomatis* infection?" *Sex Transm Infect* **82**(1): 24-30.
- Burstein, G. R. and K. A. Workowski (2003). "Sexually transmitted diseases treatment guidelines." *Curr Opin Pediatr* **15**(4): 391-397.
- Carobene, M., F. Bolcic, et al. (2014). "HIV, HBV, and HCV molecular epidemiology among trans (transvestites, transsexuals, and transgender) sex workers in Argentina." *Journal of medical virology* **86**(1): 64-70.
- Casin, I., D. Vexiau-Robert, et al. (2002). "High prevalence of *Mycoplasma genitalium* in the lower genitourinary tract of women attending a sexually transmitted disease clinic in Paris, France." *Sexually transmitted diseases* **29**(6): 353-359.
- Ceovic, R. and S. J. Gulin (2015). "Lymphogranuloma venereum: diagnostic and treatment challenges." *Infection and drug resistance* **8**: 39-47.

- Chang, L., P. Ci, et al. (2013). "Distribution of genital wart human papillomavirus genotypes in China: a multi-center study." *Journal of medical virology* **85**(10): 1765-1774.
- Chisholm, C. and L. Lopez (2011). "Cutaneous infections caused by Herpesviridae: a review." *Archives of pathology & laboratory medicine* **135**(10): 1357-1362.
- Chou, R., A. G. Cantor, et al. (2012). "Screening for HIV in pregnant women: systematic review to update the 2005 U.S. Preventive Services Task Force recommendation." *Annals of internal medicine* **157**(10): 719-728.
- Christerson, L., H. J. de Vries, et al. (2010). "Typing of lymphogranuloma venereum *Chlamydia trachomatis* strains." *Emerg Infect Dis* **16**(11): 1777-1779.
- Christerson, L., H. J. de Vries, et al. (2011). "Multilocus sequence typing of urogenital *Chlamydia trachomatis* from patients with different degrees of clinical symptoms." *Sex Transm Dis* **38**(6): 490-494.
- Clifford, G. M., S. Gallus, et al. (2005). "Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a pooled analysis." *Lancet* **366**(9490): 991-998.
- Clifford, G. M., J. S. Smith, et al. (2003). "Human papillomavirus types in invasive cervical cancer worldwide: a meta-analysis." *British journal of cancer* **88**(1): 63-73.
- Coelho, A. V., R. R. De Moura, et al. (2015). "Meta-analysis and time series modeling allow a systematic review of primary HIV-1 drug-resistant prevalence in Latin America and Caribbean." *Current HIV research* **13**(2): 125-142.
- Cohen, C. R., M. Nosek, et al. (2007). "Mycoplasma genitalium infection and persistence in a cohort of female sex workers in Nairobi, Kenya." *Sexually transmitted diseases* **34**(5): 274-279.
- Collingro, A., P. Tischler, et al. (2011). "Unity in variety--the pan-genome of the Chlamydiae." *Mol Biol Evol* **28**(12): 3253-3270.
- Coriat, R. and P. Podevin (2008). "Fulminant autoimmune hepatitis after successful interferon treatment in an HIV-HCV co-infected patient." *International journal of STD & AIDS* **19**(3): 208-210.
- Cornett, J. K. and T. J. Kirn (2013). "Laboratory diagnosis of HIV in adults: a review of current methods." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **57**(5): 712-718.
- Cruz-Ruiz, M. A., F. Lopez Diaz, et al. (2013). "Prevalence of antibodies for the hepatitis C virus in the lowland (bajio) region of Mexico." *Archives of medical research* **44**(5): 390-393.
- Da Ros, C. T. and S. Schmitt Cda (2008). "Global epidemiology of sexually transmitted diseases." *Asian J Androl* **10**(1): 110-114.
- Daley, G., D. Russell, et al. (2014). "Mycoplasma genitalium: a review." *International journal of STD & AIDS* **25**(7): 475-487.
- Darville, T. and T. J. Hiltke (2010). "Pathogenesis of genital tract disease due to *Chlamydia trachomatis*." *J Infect Dis* **201** Suppl 2: S114-125.
- de Jesus De Haro-Cruz, M., I. Deleon-Rodriguez, et al. (2011). "Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women." *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica* **29**(2): 102-108.

- de Sanjose, S., L. Alemany, et al. (2013). "Worldwide human papillomavirus genotype attribution in over 2000 cases of intraepithelial and invasive lesions of the vulva." *European journal of cancer* **49**(16): 3450-3461.
- de Villiers, E. M. (2013). "Cross-roads in the classification of papillomaviruses." *Virology* **445**(1-2): 2-10.
- Dean, D., W. J. Bruno, et al. (2009). "Predicting phenotype and emerging strains among Chlamydia trachomatis infections." *Emerg Infect Dis* **15**(9): 1385-1394.
- Dean, D., E. Oudens, et al. (1995). "Major outer membrane protein variants of Chlamydia trachomatis are associated with severe upper genital tract infections and histopathology in San Francisco." *J Infect Dis* **172**(4): 1013-1022.
- Dixson, A. F. (2015). "Human Sexual Behavior and the Origins of Gonorrhea." *Archives of sexual behavior*.
- Domeika, M., A. Hallen, et al. (2002). "Chlamydia trachomatis infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment." *Sex Transm Infect* **78**(2): 115-119.
- Donders, G. (2010). "Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: a review." *Obstetrical & gynecological survey* **65**(7): 462-473.
- Dove, A. (1998). "'European CDC' lobbies for support. Center for Disease Control and Prevention." *Nat Med* **4**(11): 1214-1215.
- Drake, C., J. Barenfanger, et al. (2005). "Comparison of Easy-Flow Copan Liquid Stuart's and Starplex Swab transport systems for recovery of fastidious aerobic bacteria." *Journal of clinical microbiology* **43**(3): 1301-1303.
- Esquivel, C. A., M. L. Briones Ezcarzaga, et al. (2003). "Prevalence of Chlamydia trachomatis infection in registered female sex workers in northern Mexico." *Sexually transmitted diseases* **30**(3): 195-198.
- Fabrizi, F., V. Dixit, et al. (2015). "Hepatitis C virus increases the risk of kidney disease among HIV-positive patients: Systematic review and meta-analysis." *Journal of medical virology*.
- Fabrizi, F., S. Verdesca, et al. (2015). "Hepatitis C Virus Infection Increases the Risk of Developing Chronic Kidney Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Digestive diseases and sciences*.
- Falk, L., H. Fredlund, et al. (2005). "Signs and symptoms of urethritis and cervicitis among women with or without Mycoplasma genitalium or Chlamydia trachomatis infection." *Sexually transmitted infections* **81**(1): 73-78.
- Faro, S. (1994). "Trichomonas vaginalis in Pregnancy." *Infectious diseases in obstetrics and gynecology* **1**(6): 257-258.
- Farrell, D. J., M. V. Haran, et al. (1996). "Comparison of PCR/nucleic acid hybridization and EIA for the detection of Chlamydia trachomatis in different populations in a regional centre." *Pathology* **28**(1): 74-78.
- Fenton, K. A., C. Korovessis, et al. (2001). "Sexual behaviour in Britain: reported sexually transmitted infections and prevalent genital Chlamydia trachomatis infection." *Lancet* **358**(9296): 1851-1854.
- Fernandez-Benitez, C., P. Mejuto-Lopez, et al. (2013). "Prevalence of genital Chlamydia trachomatis infection among young men and women in Spain." *BMC infectious diseases* **13**: 388.

- Figueroa, J. P., C. J. Cooper, et al. (2015). "Understanding the high prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among socio-economically vulnerable men who have sex with men in Jamaica." *PloS one* **10**(2): e0117686.
- Floridia, M., E. Tamburrini, et al. (2015). "Consequences of presentation with advanced HIV disease in pregnancy: data from a national study in Italy." *Journal of acquired immune deficiency syndromes*.
- Fontenot, H. B. and H. C. Fantasia (2015). "HPV9 Vaccine for the Prevention of Human Papillomavirus-Related Cancers." *Nursing for women's health* **19**(4): 365-370.
- Forstl, M., V. Stepanova, et al. (2005). "[Chlamydia infections in urogenital tract--application of direct immunofluorescence in the diagnostics of Chlamydia trachomatis in the East Bohemian Region of Czech Republic during 1997-2003]." *Ceska Gynekol* **70**(2): 128-133.
- Fraser, C. M., J. D. Gocayne, et al. (1995). "The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*." *Science* **270**(5235): 397-403.
- Frost, E. H., S. Deslandes, et al. (1991). "Typing Chlamydia trachomatis by detection of restriction fragment length polymorphism in the gene encoding the major outer membrane protein." *J Infect Dis* **163**(5): 1103-1107.
- Gallo, M. F., M. Macaluso, et al. (2012). "Bacterial vaginosis, gonorrhea, and chlamydial infection among women attending a sexually transmitted disease clinic: a longitudinal analysis of possible causal links." *Annals of epidemiology* **22**(3): 213-220.
- Gallo Vaulet, L., C. Entrocassi, et al. (2010). "Distribution study of Chlamydia trachomatis genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires, Argentina: association between genotype E and neonatal conjunctivitis." *BMC research notes* **3**: 34.
- Gao, X., X. S. Chen, et al. (2007). "Distribution study of Chlamydia trachomatis serovars among high-risk women in China performed using PCR-restriction fragment length polymorphism genotyping." *Journal of clinical microbiology* **45**(4): 1185-1189.
- Gaydos, C. A., M. Theodore, et al. (2004). "Comparison of three nucleic acid amplification tests for detection of Chlamydia trachomatis in urine specimens." *J Clin Microbiol* **42**(7): 3041-3045.
- Geisler, W. M. (2011). "Diagnosis and management of uncomplicated Chlamydia trachomatis infections in adolescents and adults: summary of evidence reviewed for the 2010 Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines." *Clin Infect Dis* **53 Suppl 3**: S92-98.
- Gluck, B., S. Mobius, et al. (2015). "Novel method for genotyping clinical herpes simplex virus type 1 isolates." *Archives of virology*.
- Gonzalez-Pedraza, A., C. Ortiz, et al. (2003). "[Role of bacteria associated with sexually transmitted infections in the etiology of lower urinary tract infection in primary care]." *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica* **21**(2): 89-92.
- Gonzalez-Pedraza-Aviles, A., A. Inzunza-Montiel, et al. (1997). "[A comparison of 2 clinical laboratory methods in the diagnosis of bacterial vaginosis]." *Atencion primaria / Sociedad Espanola de Medicina de Familia y Comunitaria* **19**(7): 357-360.

- Goulet, V., B. de Barbeyrac, et al. (2010). "Prevalence of Chlamydia trachomatis: results from the first national population-based survey in France." *Sexually transmitted infections* **86**(4): 263-270.
- Gravningen, K., L. Christerson, et al. (2012). "Multilocus sequence typing of genital Chlamydia trachomatis in Norway reveals multiple new sequence types and a large genetic diversity." *PLoS One* **7**(3): e34452.
- Greub, G. (2010). "International Committee on Systematics of Prokaryotes. Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the closed meeting, 21 June 2010, Hof bei Salzburg, Austria." *Int J Syst Evol Microbiol* **60**(Pt 11): 2694.
- Guan, F., G. Shi, et al. (2014). "Progress on ovine lentivirus and its resistant genes." *Yi chuan = Hereditas / Zhongguo yi chuan xue hui bian ji* **36**(12): 1204-1210.
- Guerra-Infante, F., S. Flores-Medina, et al. (2003). "[Risk factors and reproductive sequelae associated with Chlamydia trachomatis infection in infertile women]." *Salud publica de Mexico* **45 Suppl 5**: S672-680.
- Gulland, A. (2015). "Cuba is first country to eliminate mother to child HIV transmission." *BMJ* **351**: h3607.
- Gupta, R. and R. V. Vora (2013). "Congenital syphilis, still a reality." *Indian journal of sexually transmitted diseases* **34**(1): 50-52.
- Haggerty, C. L., S. L. Gottlieb, et al. (2010). "Risk of sequelae after Chlamydia trachomatis genital infection in women." *The Journal of infectious diseases* **201 Suppl 2**: S134-155.
- Hamill, M., P. Benn, et al. (2007). "The clinical manifestations of anorectal infection with lymphogranuloma venereum (LGV) versus non-LGV strains of Chlamydia trachomatis: a case-control study in homosexual men." *Int J STD AIDS* **18**(7): 472-475.
- Harding-Esch, E. M., T. Edwards, et al. (2010). "Trachoma prevalence and associated risk factors in the gambia and Tanzania: baseline results of a cluster randomised controlled trial." *PLoS Negl Trop Dis* **4**(11): e861.
- Harkins, A. L. and E. Munson (2011). "Molecular Diagnosis of Sexually Transmitted Chlamydia trachomatis in the United States." *ISRN Obstet Gynecol* **2011**: 279149.
- Hart, G. (1993). "Risk profiles and epidemiologic interrelationships of sexually transmitted diseases." *Sexually transmitted diseases* **20**(3): 126-136.
- Havlir, D. V. and J. S. Currier (2015). "CROI 2015: Complications of HIV Infection and Antiretroviral Therapy." *Topics in antiviral medicine* **23**(1): 56-65.
- Hernandez-Avila, J. E., L. S. Palacio-Mejia, et al. (2015). "Implementation and Operational Research: Effect of Universal Access to Antiretroviral Therapy on HIV/AIDS Mortality in Mexico 1990-2011." *Journal of acquired immune deficiency syndromes* **69**(3): e100-108.
- Hernandez-Rodriguez, C., R. Romero-Gonzalez, et al. (2011). "Vaginal microbiota of healthy pregnant Mexican women is constituted by four Lactobacillus species and several vaginosis-associated bacteria." *Infectious diseases in obstetrics and gynecology* **2011**: 851485.
- Homayouni, A., P. Bastani, et al. (2014). "Effects of probiotics on the recurrence of bacterial vaginosis: a review." *Journal of lower genital tract disease* **18**(1): 79-86.



- Huang, C. T., W. W. Wong, et al. (2008). "Genotyping of Chlamydia trachomatis by microsphere suspension array." *J Clin Microbiol* **46**(3): 1126-1128.
- Ikenberg, H. (2014). "Laboratory diagnosis of human papillomavirus infection." *Current problems in dermatology* **45**: 166-174.
- Illades-Aguilar, B., C. Alarcon-Romero Ldel, et al. (2010). "Prevalence and distribution of human papillomavirus types in cervical cancer, squamous intraepithelial lesions, and with no intraepithelial lesions in women from Southern Mexico." *Gynecologic oncology* **117**(2): 291-296.
- Isobe, K., K. Aoki, et al. (1996). "Serotyping of Chlamydia trachomatis from inclusion conjunctivitis by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis." *Jpn J Ophthalmol* **40**(2): 279-285.
- Jackson, J. M., P. Seth, et al. (2015). "Association of Depressive Symptoms and Substance Use With Risky Sexual Behavior and Sexually Transmitted Infections Among African American Female Adolescents Seeking Sexual Health Care." *American journal of public health*: e1-e6.
- Johnson, H. L., K. G. Ghanem, et al. (2011). "Sexually transmitted infections and adverse pregnancy outcomes among women attending inner city public sexually transmitted diseases clinics." *Sexually transmitted diseases* **38**(3): 167-171.
- Kakar, S., P. Bhalla, et al. (2010). "Chlamydia trachomatis causing neonatal conjunctivitis in a tertiary care center." *Indian J Med Microbiol* **28**(1): 45-47.
- Kalichman, S. C., C. Cherry, et al. (2015). "HIV sexual transmission risks in the context of clinical care: a prospective study of behavioural correlates of HIV suppression in a community sample, Atlanta, GA, USA." *Journal of the International AIDS Society* **18**(1): 19930.
- Kasi, P. M., A. I. Gilani, et al. (2004). "Blinding trachoma: a disease of poverty." *PLoS Med* **1**(2): e44.
- Katz, A. R., M. V. Lee, et al. (2012). "Sexually transmitted disease (STD) update: a review of the CDC 2010 STD treatment guidelines and epidemiologic trends of common STDs in Hawai'i." *Hawai'i journal of medicine & public health : a journal of Asia Pacific Medicine & Public Health* **71**(3): 68-73.
- Kenyon, C., J. Buyze, et al. (2014). "Classification of incidence and prevalence of certain sexually transmitted infections by world regions." *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* **18**: 73-80.
- Kenyon, C., R. Colebunders, et al. (2013). "The global epidemiology of bacterial vaginosis: a systematic review." *American journal of obstetrics and gynecology* **209**(6): 505-523.
- Khatoun, R., N. Jahan, et al. (2014). "Evaluation of Different Staining Techniques in the Diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection in Females of Reproductive Age Group." *Journal of clinical and diagnostic research : JCDR* **8**(12): DC05-08.
- Kietpeerakool, C., P. Kleebkaow, et al. (2015). "Human Papillomavirus Genotype Distribution among Thai Women with High-Grade Cervical Intraepithelial Lesions and Invasive Cervical Cancer: a Literature Review." *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* **16**(13): 5153-5158.
- Kim, A. A., S. Morales, et al. (2013). "Short communication: HIV incidence among vulnerable populations in Honduras: results from an integrated behavioral and biological survey among female sex workers, men who have sex with men, and

- Garifuna in Honduras, 2006." *AIDS research and human retroviruses* **29**(3): 516-519.
- Kim, Y., J. Kim, et al. (2014). "Prevalence of sexually transmitted infections among healthy Korean women: implications of multiplex PCR pathogen detection on antibiotic therapy." *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy* **20**(1): 74-76.
- Kinkel, H. T., D. Karmacharya, et al. (2015). "Prevalence of HIV, Hepatitis B and C Infections and an Assessment of HCV-Genotypes and Two IL28B SNPs among People Who Inject Drugs in Three Regions of Nepal." *PloS one* **10**(8): e0134455.
- Kissinger, P. (2015). "Trichomonas vaginalis: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues." *BMC infectious diseases* **15**(1): 307.
- Klint, M., H. H. Fuxelius, et al. (2007). "High-resolution genotyping of Chlamydia trachomatis strains by multilocus sequence analysis." *J Clin Microbiol* **45**(5): 1410-1414.
- Klint, M., R. Hadad, et al. (2011). "Prevalence trends in Sweden for the new variant of Chlamydia trachomatis." *Clin Microbiol Infect* **17**(5): 683-689.
- Koch, L. H., R. G. Fisher, et al. (2009). "Congenital herpes simplex virus infection: two unique cutaneous presentations associated with probable intrauterine transmission." *Journal of the American Academy of Dermatology* **60**(2): 312-315.
- Koumans, E. H., M. Sternberg, et al. (2007). "The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health." *Sexually transmitted diseases* **34**(11): 864-869.
- Kucinskiene, V., I. Sutaite, et al. (2006). "Prevalence and risk factors of genital Chlamydia trachomatis infection." *Medicina (Kaunas)* **42**(11): 885-894.
- Kurnatowska, A. and A. Komorowska (1990). "[Analysis of the relations between selected symptoms of inflammation of the genital and urinary organs and invasion of Trichomonas vaginalis]." *Wiadomosci parazytologiczne* **36**(5-6): 219-227.
- Kurth, A., W. L. Whittington, et al. (2004). "Performance of a new, rapid assay for detection of Trichomonas vaginalis." *Journal of clinical microbiology* **42**(7): 2940-2943.
- Kusters, J. G., E. A. Reuland, et al. (2015). "A multiplex real-time PCR assay for routine diagnosis of bacterial vaginosis." *European journal of clinical microbiology & infectious diseases : official publication of the European Society of Clinical Microbiology*.
- Lacour, D. E. and C. Trimble (2012). "Human papillomavirus in infants: transmission, prevalence, and persistence." *Journal of pediatric and adolescent gynecology* **25**(2): 93-97.
- Lan, J., J. M. Walboomers, et al. (1993). "Direct detection and genotyping of Chlamydia trachomatis in cervical scrapes by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis." *J Clin Microbiol* **31**(5): 1060-1065.
- LeFevre, M. L. (2014). "Screening for Chlamydia and gonorrhea: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement." *Annals of internal medicine* **161**(12): 902-910.

- Leon-Maldonado, L., B. Allen-Leigh, et al. (2014). "[Counseling for HPV detection when used to screen for cervical cancer: a qualitative study on the needs of women from Michoacan, Mexico]." *Salud publica de Mexico* **56**(5): 519-527.
- Liu, M., Z. He, et al. (2014). "Prevalence, incidence, clearance, and associated factors of genital human papillomavirus infection among men: a population-based cohort study in rural China." *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology* **23**(12): 2857-2865.
- Lizano, M., E. De la Cruz-Hernandez, et al. (2006). "Distribution of HPV16 and 18 intratypic variants in normal cytology, intraepithelial lesions, and cervical cancer in a Mexican population." *Gynecologic oncology* **102**(2): 230-235.
- Lopez Rivera, M. G., M. O. Flores, et al. (2012). "Prevalence of human papillomavirus in women from Mexico City." *Infectious diseases in obstetrics and gynecology* **2012**: 384758.
- Lopez, R. V., J. E. Levi, et al. (2014). "Human papillomavirus (HPV) 16 and the prognosis of head and neck cancer in a geographical region with a low prevalence of HPV infection." *Cancer causes & control : CCC* **25**(4): 461-471.
- Lopez-Monteon, A., F. S. Gomez-Figueroa, et al. (2013). "Codetection of *Trichomonas vaginalis* and *Candida albicans* by PCR in urine samples in a low-risk population attended in a clinic first level in central Veracruz, Mexico." *BioMed research international* **2013**: 281892.
- Lou, L. X., Y. Chen, et al. (2014). "National HIV/AIDS mortality, prevalence, and incidence rates are associated with the Human Development Index." *American journal of infection control* **42**(10): 1044-1048.
- Maartens, G., C. Celum, et al. (2014). "HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention." *Lancet* **384**(9939): 258-271.
- Mabey, D. C., K. A. Sollis, et al. (2012). "Point-of-care tests to strengthen health systems and save newborn lives: the case of syphilis." *PLoS medicine* **9**(6): e1001233.
- Machado, A. C., C. I. Bandea, et al. (2011). "Distribution of *Chlamydia trachomatis* genovars among youths and adults in Brazil." *Journal of medical microbiology* **60**(Pt 4): 472-476.
- Magana-Contreras, M., A. Contreras-Paredes, et al. (2015). "Prevalence of sexually transmitted pathogens associated with HPV infection in cervical samples in a Mexican population." *Journal of medical virology*.
- Manhart, L. E., K. K. Holmes, et al. (2007). "Mycoplasma genitalium among young adults in the United States: an emerging sexually transmitted infection." *American journal of public health* **97**(6): 1118-1125.
- Manos, M. M., J. Waldman, et al. (1994). "Epidemiology and partial nucleotide sequence of four novel genital human papillomaviruses." *The Journal of infectious diseases* **170**(5): 1096-1099.
- Martinez, G. M. (2010). "[Microbiologic diagnosis of sexually transmitted diseases: Part II. STD of viral origin]." *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia* **27**(1): 60-64.
- McGowin, C. L., R. E. Rohde, et al. (2014). "Epidemiological and clinical rationale for screening and diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections." *Clinical*

- laboratory science : journal of the American Society for Medical Technology **27**(1): 47-52.
- McKechnie, M. L., R. J. Hillman, et al. (2011). "The prevalence of urogenital micro-organisms detected by a multiplex PCR-reverse line blot assay in women attending three sexual health clinics in Sydney, Australia." *Journal of medical microbiology* **60**(Pt 7): 1010-1016.
- Meloni, A., R. Pilia, et al. (2014). "Prevalence and molecular epidemiology of human papillomavirus infection in Italian women with cervical cytological abnormalities." *Journal of public health research* **3**(1): 157.
- Mendez-Sanchez, N., Y. Gutierrez-Grobe, et al. (2010). "Epidemiology of HCV infection in Latin America." *Annals of hepatology* **9 Suppl**: 27-29.
- Mendoza, L., P. Mongelos, et al. (2013). "Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from Paraguay: a cross-sectional analytical study." *BMC infectious diseases* **13**: 531.
- Messina, J. P., I. Humphreys, et al. (2015). "Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes." *Hepatology* **61**(1): 77-87.
- Michel, L., V. Villes, et al. (2010). "Role of treatment for depressive symptoms in relieving the impact of fatigue in HIV-HCV co-infected patients: ANRS Co13 Hepavih, France, 2006-2008." *Journal of viral hepatitis* **17**(9): 650-660.
- Miller, J. M., Jr., R. T. Maupin, et al. (2003). "Initial and repeated screening for gonorrhea during pregnancy." *Sexually transmitted diseases* **30**(9): 728-730.
- Mimiaga, M. J., K. B. Biello, et al. (2015). "High Prevalence of Multiple Syndemic Conditions Associated with Sexual Risk Behavior and HIV Infection Among a Large Sample of Spanish- and Portuguese-Speaking Men Who Have Sex with Men in Latin America." *Archives of sexual behavior*.
- Mohammadzadeh, F., M. Dolatian, et al. (2015). "Diagnostic value of Amsel's clinical criteria for diagnosis of bacterial vaginosis." *Global journal of health science* **7**(3): 8-14.
- Mohllajee, A. P., K. M. Curtis, et al. (2006). "Hormonal contraceptive use and risk of sexually transmitted infections: a systematic review." *Contraception* **73**(2): 154-165.
- Monecke, S., P. Slickers, et al. (2008). "Assignment of *Staphylococcus aureus* isolates to clonal complexes based on microarray analysis and pattern recognition." *FEMS Immunol Med Microbiol* **53**(2): 237-251.
- Morre, S. A., J. M. Ossewaarde, et al. (1998). "Serotyping and genotyping of genital *Chlamydia trachomatis* isolates reveal variants of serovars Ba, G, and J as confirmed by *omp1* nucleotide sequence analysis." *J Clin Microbiol* **36**(2): 345-351.
- Morre, S. A., J. M. Ossewaarde, et al. (2000). "Analysis of genetic heterogeneity in *Chlamydia trachomatis* clinical isolates of serovars D, E, and F by amplified fragment length polymorphism." *Journal of clinical microbiology* **38**(9): 3463-3466.
- Morre, S. A., L. Rozendaal, et al. (2000). "Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations?" *Journal of clinical microbiology* **38**(6): 2292-2296.

- Morshed, K., D. Polz-Gruszka, et al. (2014). "Human Papillomavirus (HPV) - structure, epidemiology and pathogenesis." *Otolaryngologia polska. The Polish otolaryngology* **68**(5): 213-219.
- Munoz-Espinosa, L. E., M. E. Trujillo-Trujillo, et al. (2015). "Increase of drug use and genotype 3 in HCV-infected patients from Central West and Northeast Mexico." *Annals of hepatology* **14**(5): 642-651.
- Muvunyi, C. M., N. Dhont, et al. (2011). "Evaluation of a new multiplex polymerase chain reaction assay STDFinder for the simultaneous detection of 7 sexually transmitted disease pathogens." *Diagnostic microbiology and infectious disease* **71**(1): 29-37.
- Napierala Mavedzenge, S., E. E. Muller, et al. (2015). "Mycoplasma genitalium is associated with increased genital HIV type 1 RNA in Zimbabwean women." *The Journal of infectious diseases* **211**(9): 1388-1398.
- Ndugwa Kabwama, S. and G. Berg-Beckhoff (2015). "The association between HIV/AIDS-related knowledge and perception of risk for infection: a systematic review." *Perspectives in public health*.
- Newland, J. (2015). "World Hepatitis Day: A reminder to screen baby boomers." *The Nurse practitioner* **40**(7): 8.
- Nunez-Forero, L., L. Moyano-Ariza, et al. (2015). "Diagnostic accuracy of rapid tests for sexually transmitted infections in symptomatic women." *Sexually transmitted infections*.
- O'Sullivan, J. F. (1967). "Trichomonas vaginalis; a review." *Irish journal of medical science* **6**(497): 207-212.
- Oehme, A., R. Sonak, et al. (1990). "[Antibodies to cell culture cells as an interference factor in chlamydia serology]." *Immun Infekt* **18**(1): 9-10.
- Ohnishi, M., D. Golparian, et al. (2011). "Is Neisseria gonorrhoeae initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone." *Antimicrobial agents and chemotherapy* **55**(7): 3538-3545.
- Oliphant, J. and S. Azariah (2013). "Cervicitis: limited clinical utility for the detection of Mycoplasma genitalium in a cross-sectional study of women attending a New Zealand sexual health clinic." *Sexual health* **10**(3): 263-267.
- Oliveira, F. A., K. Lang, et al. (2008). "Risk factors for sexually transmitted infections in women in rural Northeast Brazil." *Journal of infection in developing countries* **2**(3): 211-217.
- Orozco-Colin, A., A. Carrillo-Garcia, et al. (2010). "Geographical variation in human papillomavirus prevalence in Mexican women with normal cytology." *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases* **14**(12): e1082-1087.
- Owusu-Edusei, K., Jr., C. E. Introcaso, et al. (2013). "Hospitalization cost of congenital syphilis diagnosis from insurance claims data in the United States." *Sexually transmitted diseases* **40**(3): 226-229.
- Ozolins, D., M. M. D'Elios, et al. (2012). "Diagnostics, surveillance and management of sexually transmitted infections in Europe have to be improved: lessons from the European Conference of National Strategies for Chlamydia Trachomatis and Human Papillomavirus (NSCP conference) in Latvia, 2011." *J Eur Acad Dermatol Venereol*.

- Pannekoek, Y., G. Morelli, et al. (2008). "Multi locus sequence typing of Chlamydiales: clonal groupings within the obligate intracellular bacteria Chlamydia trachomatis." *BMC Microbiol* **8**: 42.
- Patman, G. (2014). "Hepatitis: Exosomal route of HCV transmission exists in patients." *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology* **11**(12): 704.
- Peate, I. (1998). "Syphilis: signs, symptoms, treatment and nursing management." *British journal of nursing* **7**(14): 817-823.
- Pedersen, L. N., B. Herrmann, et al. (2009). "Typing Chlamydia trachomatis: from egg yolk to nanotechnology." *FEMS Immunol Med Microbiol* **55**(2): 120-130.
- Peterman, T. A., J. D. Heffelfinger, et al. (2005). "The changing epidemiology of syphilis." *Sexually transmitted diseases* **32**(10 Suppl): S4-10.
- Petersen, E. E., A. Clad, et al. (2003). "The extended Chlamydia trachomatis diagnosis in patients with pelvic inflammatory disease--a better approach for the diagnosis of upper genital tract infections." *Clin Lab* **49**(5-6): 277-281.
- Prince, A. L., D. M. Chu, et al. (2015). "The perinatal microbiome and pregnancy: moving beyond the vaginal microbiome." *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* **5**(6).
- Printz, C. (2015). "FDA approves Gardasil 9 for more types of HPV." *Cancer* **121**(8): 1156-1157.
- Quint, K., C. Porras, et al. (2007). "Evaluation of a novel PCR-based assay for detection and identification of Chlamydia trachomatis serovars in cervical specimens." *Journal of clinical microbiology* **45**(12): 3986-3991.
- Quint, K. D., L. J. van Doorn, et al. (2007). "A highly sensitive, multiplex broad-spectrum PCR-DNA-enzyme immunoassay and reverse hybridization assay for rapid detection and identification of Chlamydia trachomatis serovars." *J Mol Diagn* **9**(5): 631-638.
- Recine, N., E. Palma, et al. (2015). "Restoring vaginal microbiota: biological control of bacterial vaginosis. A prospective case-control study using Lactobacillus rhamnosus BMX 54 as adjuvant treatment against bacterial vaginosis." *Archives of gynecology and obstetrics*.
- Robson, L., J. Morris, et al. (2015). "Barriers to preventing unintended pregnancies and sexually transmitted infections as experienced by women in Fort Dauphin, southeast Madagascar." *The European journal of contraception & reproductive health care : the official journal of the European Society of Contraception*: 1-12.
- Rodrigues, F. S., S. Peixoto, et al. (2015). "Proposal of a new cutoff for Nugent criteria in the diagnosis of bacterial vaginosis." *Journal of microbiological methods* **115**: 144-146.
- Rodrigues, M. M., P. A. Fernandes, et al. (2011). "Frequency of Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis and Ureaplasma species in cervical samples." *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics and Gynaecology* **31**(3): 237-241.
- Rodriguez, D. C., C. Magis-Rodriguez, et al. (2013). "[Barriers to the utilization of HIV/AIDS surveillance data in Mexico]." *Salud publica de Mexico* **55**(4): 408-415.
- Rodriguez, P., A. Vekris, et al. (1991). "Typing of Chlamydia trachomatis by restriction endonuclease analysis of the amplified major outer membrane protein gene." *J Clin Microbiol* **29**(6): 1132-1136.

- Rosen, B. J., L. Walter, et al. (2015). "Prevalence and correlates of oral human papillomavirus infection among healthy males and females in Lima, Peru." *Sexually transmitted infections*.
- Ross, S. E., B. Carter, et al. (2009). "Seroprevalence of herpes simplex virus-2 infection among women seeking medical care for signs and symptoms of vaginitis." *Herpes : the journal of the IHMF* **15**(3): 46-50.
- Ryndock, E. J. and C. Meyers (2014). "A risk for non-sexual transmission of human papillomavirus?" *Expert review of anti-infective therapy* **12**(10): 1165-1170.
- Salcedo, M., P. Pina-Sanchez, et al. (2014). "Human papillomavirus genotypes among females in Mexico: a study from the mexican institute for social security." *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* **15**(23): 10061-10066.
- Sanchez Anguiano, L. F., A. M. Lechuga Quinones, et al. (2013). "[Knowledge and acceptance of vaccine against human papillomavirus among mothers of students from Durango city, Mexico]." *Ginecologia y obstetricia de Mexico* **81**(2): 77-85.
- Santiago, E., L. Camacho, et al. (2006). "Full HPV typing by a single restriction enzyme." *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* **37**(1): 38-46.
- Satterwhite, C. L., M. R. Joesoef, et al. (2008). "Estimates of Chlamydia trachomatis infections among men: United States." *Sexually transmitted diseases* **35**(11 Suppl): S3-7.
- Savage, E. J., H. Mohammed, et al. (2014). "Improving surveillance of sexually transmitted infections using mandatory electronic clinical reporting: the genitourinary medicine clinic activity dataset, England, 2009 to 2013." *Euro surveillance : bulletin European sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin* **19**(48): 20981.
- Sayada, C., E. Denamur, et al. (1991). "Rapid genotyping of the Chlamydia trachomatis major outer membrane protein by the polymerase chain reaction." *FEMS Microbiol Lett* **67**(1): 73-78.
- Schuppe, H. C., U. Pichlmeier, et al. (2003). "Antibodies to Chlamydia trachomatis heat shock protein (cHSP60) and major outer membrane protein (MOMP) in men with impaired fertility." *Clin Lab* **49**(5-6): 273-275.
- Serruya, S. J., P. Duran, et al. (2015). "Maternal and congenital syphilis in selected Latin America and Caribbean countries: a multi-country analysis using data from the Perinatal Information System." *Sexual health*.
- Shiffman, M. L., A. M. James, et al. (2015). "Treatment of Chronic HCV With Sofosbuvir and Simeprevir in Patients With Cirrhosis and Contraindications to Interferon and/or Ribavirin." *The American journal of gastroenterology* **110**(8): 1179-1185.
- Shigemura, K. and M. Fujisawa (2015). "History and epidemiology of antibiotic susceptibilities of Neisseria gonorrhoeae." *Current drug targets* **16**(3): 272-280.
- Soriano, V., P. Labarga, et al. (2015). "Hepatitis C cure with antiviral therapy - benefits beyond the liver." *Antiviral therapy*.
- Stephens, R. S., M. R. Tam, et al. (1982). "Monoclonal antibodies to Chlamydia trachomatis: antibody specificities and antigen characterization." *J Immunol* **128**(3): 1083-1089.

- Stevens, M. P., J. Twin, et al. (2010). "Development and evaluation of an ompA quantitative real-time PCR assay for *Chlamydia trachomatis* serovar determination." *J Clin Microbiol* **48**(6): 2060-2065.
- Stoltey, J. E. and S. E. Cohen (2015). "Syphilis transmission: a review of the current evidence." *Sexual health*.
- Supho, B., A. Supoken, et al. (2014). "Cervical pathology in high-risk human papillomavirus- positive, cytologically normal women." *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* **15**(18): 7977-7980.
- Tapsall, J., D. Whiley, et al. (2006). "Applications of molecular testing in clinical laboratories for the diagnosis and control of gonorrhoea." *Future microbiology* **1**(3): 317-324.
- Teva, I., M. P. Bermudez, et al. (2012). "[Current epidemiological situation of HIV/AIDS in Latin America: analysis of differences among countries]." *Revista medica de Chile* **140**(1): 50-58.
- Thurman, A. R., T. Kimble, et al. (2015). "Bacterial Vaginosis and Subclinical Markers of Genital Tract Inflammation and Mucosal Immunity." *AIDS research and human retroviruses*.
- Toft, L., M. Tolstrup, et al. (2014). "Comparison of the immunogenicity of Cervarix(R) and Gardasil(R) human papillomavirus vaccines for oncogenic non-vaccine serotypes HPV-31, HPV-33, and HPV-45 in HIV-infected adults." *Human vaccines & immunotherapeutics* **10**(5): 1147-1154.
- Tomberg, J., M. Unemo, et al. (2013). "Identification of amino acids conferring high-level resistance to expanded-spectrum cephalosporins in the penA gene from *Neisseria gonorrhoeae* strain H041." *Antimicrobial agents and chemotherapy* **57**(7): 3029-3036.
- Tornesello, M. L., N. de Rosa, et al. (2012). "Assessment of *Chlamydia trachomatis* infection among Eastern European and West African women immigrants in South Italy." *Sex Transm Infect* **88**(1): 70-71.
- Torres-Poveda, K., A. I. Burguete-Garcia, et al. (2011). "Liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in Mexico: impact of chronic infection by hepatitis viruses B and C." *Annals of hepatology* **10**(4): 556-558.
- Trigg, B. G., P. R. Kerndt, et al. (2008). "Sexually transmitted infections and pelvic inflammatory disease in women." *The Medical clinics of North America* **92**(5): 1083-1113, x.
- van Belkum, A., P. T. Tassios, et al. (2007). "Guidelines for the validation and application of typing methods for use in bacterial epidemiology." *Clin Microbiol Infect* **13 Suppl 3**: 1-46.
- Van Doorslaer, K. (2013). "Evolution of the papillomaviridae." *Virology* **445**(1-2): 11-20.
- van Sighem, A., F. Nakagawa, et al. (2015). "Estimating HIV Incidence, Time to Diagnosis, and the Undiagnosed HIV Epidemic Using Routine Surveillance Data." *Epidemiology* **26**(5): 653-660.
- Vazquez, F., L. Otero, et al. (2012). "Overview of molecular biological methods for the detection of pathogens causing sexually transmitted infections." *Methods in molecular biology* **903**: 1-20.



- Vazquez-Campuzano, R., J. A. Galnares-Olalde, et al. (2014). "[Twelve years of experience in the diagnosis of syphilis in Mexico. Period 2001-2012]." *Gaceta medica de Mexico* **150 Suppl 1**: 5-10.
- Veltri, J. C., K. A. Geiringer, et al. (2002). "Using community pharmacies to conduct an HSV-1 prevalence study." *Pharmacoepidemiology and drug safety* **11(5)**: 373-378.
- Wagner, M., L. Bennetts, et al. (2015). "Global availability of data on HPV genotype-distribution in cervical, vulvar and vaginal disease and genotype-specific prevalence and incidence of HPV infection in females." *Infectious agents and cancer* **10**: 13.
- Wald, A. (2006). "Genital HSV-1 infections." *Sexually transmitted infections* **82(3)**: 189-190.
- Walker, J., C. K. Fairley, et al. (2011). "'The difference in determinants of Chlamydia trachomatis and Mycoplasma genitalium in a sample of young Australian women'." *BMC infectious diseases* **11**: 35.
- Wang, S. P. and J. T. Grayston (1991). "Serotyping of Chlamydia trachomatis by indirect fluorescent-antibody staining of inclusions in cell culture with monoclonal antibodies." *J Clin Microbiol* **29(7)**: 1295-1298.
- Ward, H., S. Alexander, et al. (2009). "The prevalence of lymphogranuloma venereum infection in men who have sex with men: results of a multicentre case finding study." *Sexually transmitted infections* **85(3)**: 173-175.
- Ward, H., I. Martin, et al. (2007). "Lymphogranuloma venereum in the United kingdom." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **44(1)**: 26-32.
- Whiley, D. M. and M. M. Lahra (2015). "Review of 2005 Public Health Laboratory Network Neisseria gonorrhoeae nucleic acid amplification tests guidelines." *Communicable diseases intelligence quarterly report* **39(1)**: E42-45.
- Willcox, R. R. and T. Guthe (1966). "Treponema pallidum. A bibliographical review of the morphology, culture and survival of T. pallidum and associated organisms." *Bulletin of the World Health Organization* **35 Suppl**: 5-169.
- Workowski, K. A. and S. Berman (2010). "Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010." *MMWR Recomm Rep* **59(RR-12)**: 1-110.
- Workowski, K. A. and G. A. Bolan (2015). "Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015." *MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Centers for Disease Control* **64(RR-03)**: 1-137.
- Workowski, K. A., W. C. Levine, et al. (2002). "U.S. Centers for Disease Control and Prevention guidelines for the treatment of sexually transmitted diseases: an opportunity to unify clinical and public health practice." *Ann Intern Med* **137(4)**: 255-262.
- Workowski, K. A., C. E. Stevens, et al. (1994). "Clinical manifestations of genital infection due to Chlamydia trachomatis in women: differences related to serovar." *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* **19(4)**: 756-760.
- Wu, J., W. Liu, et al. (2015). "A Structural Overview of RNA-Dependent RNA Polymerases from the Flaviviridae Family." *International journal of molecular sciences* **16(6)**: 12943-12957.

- Yang, C. J., S. Y. Chang, et al. (2015). "Unexpectedly high prevalence of *Treponema pallidum* infection in the oral cavity of human immunodeficiency virus-infected patients with early syphilis who had engaged in unprotected sex practices." *Clinical microbiology and infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* **21**(8): 787 e781-787.
- Yang, C. L., I. Maclean, et al. (1993). "DNA sequence polymorphism of the *Chlamydia trachomatis* omp1 gene." *J Infect Dis* **168**(5): 1225-1230.
- Yasmeen, A. and S. E. Ibhanesebhor (2014). "Severe congenital herpes simplex virus infection." *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* **99**(2): F157.
- Yaya, I., B. Saka, et al. (2015). "HIV status disclosure to sexual partners, among people living with HIV and AIDS on antiretroviral therapy at Sokode regional hospital, Togo." *PloS one* **10**(2): e0118157.
- Young, H., J. Pryde, et al. (2009). "The Architect Syphilis assay for antibodies to *Treponema pallidum*: an automated screening assay with high sensitivity in primary syphilis." *Sexually transmitted infections* **85**(1): 19-23.
- Yuan, Y., Y. X. Zhang, et al. (1989). "Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars." *Infect Immun* **57**(4): 1040-1049.
- Zarei, O., S. Rezania, et al. (2013). "Mycoplasma genitalium and cancer: a brief review." *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP* **14**(6): 3425-3428.

## **11. RESUMEN BIOGRÁFICO**

## 11. RESUMEN BIOGRÁFICO

**Néstor Guadalupe Casillas Vega**

Candidato para el Grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS con orientación en Microbiología

**Tesis:**

**“Frecuencia de infecciones de transmisión sexual en pacientes que acuden a consulta ginecológica y su correlación clínica”**

**Campo de estudio:** Microbiología y Biología Molecular

**Datos Personales:** Nacido en Torreón, Coahuila el 9 de Enero de 1987, hijo de José Guadalupe Casillas Flores y Guillermina Vega Rosales.

**Educación:** Egresado de la Universidad Autónoma de Nuevo León, en el año 2009 de la Facultad de Medicina con el grado de Químico Clínico Biólogo y en el año 2012 con el grado de Maestro en Ciencias con especialidad en Microbiología Médica.

**Experiencia profesional:** Profesor e investigador de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Nuevo León desde el 2009 hasta la fecha; presentación de trabajos y conferencias en congresos nacionales e internacionales.; estancias de investigación en el extranjero y autor de capítulos de libros.

## **12. ANEXOS**

## BMC Women's Health

# Frequency and genotypes of *Chlamydia trachomatis* in patients attending the obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico and correlation with sociodemographic, behavioral, and biological factors.

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	BMWH-D-15-00073
<b>Full Title:</b>	Frequency and genotypes of <i>Chlamydia trachomatis</i> in patients attending the obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico and correlation with sociodemographic, behavioral, and biological factors.
<b>Article Type:</b>	Research article
<b>Section/Category:</b>	Gynecology, gynecological disease, and reproductive health
<b>Funding Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>Background: <i>Chlamydia trachomatis</i> is the causative agent of the most common bacterial sexually transmitted infection worldwide. The aim of this study was to investigate the frequency and genotypes of <i>C. trachomatis</i> in patients attending an obstetrics and gynecology clinic in Jalisco, Mexico and correlates them with sociodemographic, behavioral, and biological factors.</p> <p>Methods: <i>C. trachomatis</i> detection was performed in endocervical samples from 662 patients by direct fluorescence assay (DFA) and two PCR assays that amplified the phospholipase D endonuclease superfamily (PRPHA) and <i>OmpA</i> genes. Positive samples were genotyped using PCR-restriction fragment length polymorphism assays. Sociodemographic, behavioral, and biological data were collected.</p> <p>Results: The mean age of the study population was 31 (range, 14-78) years. <i>C. trachomatis</i> positivity was detected by DFA in 16.7% (n = 111), PRPHA gene amplification in 14.2% (n = 94), and <i>OmpA</i> gene amplification in 14.5% (n = 96) of the population. Eight <i>C. trachomatis</i> genotypes were detected: E (39.6%), F (29.2%), D (15.6%), K (6.3%), L2 (3.1%), G, J, and I (2.1% each). <i>C. trachomatis</i> infection was associated with age, marital status, pregnancy, and hormonal contraceptive use (all p = 0.01); intrauterine device use and previous premature birth (both p = 0.03); and infection during pregnancy, previous ectopic pregnancy, pelvic inflammatory disease (PID), and green vaginal discharge (all p = 0.04). <i>C. trachomatis</i> genotype K was more likely to be detected in women histories of <math>\geq 2</math> sexual partners, genotype F was more likely in pregnant women, genotype L2 was more likely in women with PID, genotype D was more likely in women who had had infection during previous pregnancies, and genotype E was more likely in those with previous ectopic pregnancies and green vaginal discharge (all p = 0.01).</p> <p>Conclusions: The frequency of <i>C. trachomatis</i> in our population was higher than previously reported worldwide, but within the range reported for Mexico. Genotype E was detected most frequently in the study population. Infection by <i>C. trachomatis</i> and <i>C. trachomatis</i> genotypes K, F, D, and E was strongly associated with multiple sociodemographic, behavioral, and biological factors. <i>C. trachomatis</i> genotype L2 was detected in women with PID.</p>
<b>Corresponding Author:</b>	Elvira Garza-González, Ph.D.  MEXICO
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Néstor Casillas-Vega, MSc
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Néstor Casillas-Vega, MSc

	Rayo Morfín-Otero, Ph.D.
	Santos García, Ph.D.
	Jorge Llaca-Díaz, MSc
	Eduardo Rodríguez-Noriega, Ph.D.
	Adrián Camacho-Ortiz, Ph.D.
	Ma de la Merced Ayala-Castellanos, M.D.
	Héctor J. Maldonado-Garza, Ph.D.
	Jesús Ancer-Rodríguez, Ph.D.
	Guadalupe Gallegos-Ávila, Ph.D.
	Alberto Niderhauser-García, Ph.D.
	Elvira Garza-González, Ph.D.
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Opposed Reviewers:</b>	

**Nawsheen Boodhun**  
**Executive Editor**  
***BMC Women's Health***

Dear Editor,

In this submission, please find the manuscript entitled “**Frequency and genotypes of *Chlamydia trachomatis* in patients attending the obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico**” that we are submitting to the *BMC Women's Health* journal for consideration as a full-length paper.

All authors have participated either in the study design, data analysis, and/or manuscript redaction and have read and approved the final manuscript and agree with its submission.

The authors agree totally with the contents of the submitted paper, as well as with the order of presentation of all the authors. The authors also agree that the corresponding author may act on their behalf throughout the editorial review and publication process.

In case the paper is accepted for publication, we hereby subscribe to the terms and conditions stipulated in the Guidelines for the publication of manuscripts in the *BMC Women's Health* journal; we therefore agree to transfer the paper’s copyright and consequently authorize its publication in any language and in any form of reproduction — physical or electronic— by the *BMC Women's Health* journal or by any other individual or legal entity that may be granted permission to reproduce it.

We hereby state that the submitted article is original and has not been totally or partially published, nor has been simultaneously submitted for publication by any of its coauthors or by any other authors to any other national or foreign journal.

The paper does not contain any materials that might possibly infringe the copyright of a third party.

#### **Conflict of Interest Statement**

As well, all the authors declare that there is no economic, personal, political or academic relation that could influence our judgment. In particular, we have not received



any benefit in cash or kind, any hospitality, or any subsidy derived from any source that may have or be perceived to have an interest in the outcome of the manuscript.

Thank you in advance for considering this manuscript.

Sincerely,

Elvira Garza-González

Avenida Madero s/n Colonia Mitras Centro

Monterrey, Nuevo Leon, 64460, Mexico

Phone: +52 (81) 83 29 41 66

E-mail: [elvira\\_garza\\_gzz@yahoo.com](mailto:elvira_garza_gzz@yahoo.com)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 **Title:** Frequency and genotypes of *Chlamydia trachomatis* in patients attending the  
2 obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico and correlation with sociodemographic,  
3 behavioral, and biological factors.

4 **Running title:** Frequency of *C. trachomatis* in Mexico.

5 **Authors:** Néstor Casillas-Vega<sup>1</sup>, Rayo Morfín-Otero<sup>2</sup>, Santos García<sup>3</sup>, Jorge Llaca-Díaz<sup>4</sup>,  
6 Eduardo Rodríguez-Noriega<sup>2</sup>, Adrián Camacho-Ortiz<sup>5</sup>, Ma de la Merced Ayala-  
7 Castellanos<sup>2</sup>, Héctor J. Maldonado-Garza<sup>1</sup>, Jesús Ancer-Rodríguez<sup>6</sup>, Guadalupe Gallegos-  
8 Ávila<sup>6</sup>, Alberto Niderhauser-García<sup>6</sup>, Elvira Garza-González<sup>1,4\*</sup>

#### 9 **Affiliations**

- 10 1. Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González,  
11 Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- 12 2. Hospital Civil de Guadalajara, Fray Antonio Alcalde, y el Instituto de Patología  
13 Infecciosa y Experimental, Centro Universitario de Ciencias de la Salud,  
14 Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.
- 15 3. Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas  
16 Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás, Nuevo León, México.
- 17 4. Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio  
18 González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León,  
19 México.
- 20 5. Coordinación de Epidemiología Hospitalaria, Hospital Universitario Dr. José  
21 Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey México.
- 22 6. Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de  
23 Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.

24 \*Corresponding author

25 E-mail: [nestor.casillas.vega@hotmail.com](mailto:nestor.casillas.vega@hotmail.com) (NCV), [rayomorfin@gmail.com](mailto:rayomorfin@gmail.com) (RMO),  
26 [santos@microbiosymas.com](mailto:santos@microbiosymas.com) (SG), [jorgellaca@hotmail.com](mailto:jorgellaca@hotmail.com) (JLD), [idfcolima@yahoo.com](mailto:idfcolima@yahoo.com)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

27 (ERN), [acamacho\\_md@yahoo.com](mailto:acamacho_md@yahoo.com) (ACO), [marimer66@yahoo.com.mx](mailto:marimer66@yahoo.com.mx) (MMAC),  
28 [hectormaldonadog@yahoo.com](mailto:hectormaldonadog@yahoo.com) (HJMG), [jesus.ancer@uanl.mx](mailto:jesus.ancer@uanl.mx) (JAR),  
29 [guadalupe.gallegos@gmail.com](mailto:guadalupe.gallegos@gmail.com) (GGA), [albertoniderhauser@gmail.com](mailto:albertoniderhauser@gmail.com) (ANG),  
30 [elvira\\_garza\\_gzz@yahoo.com](mailto:elvira_garza_gzz@yahoo.com) (EGG).

31

32 **Postal address of the submitting author:** Av. Gonzalitos and Madero, Mitras Centro PC  
33 64460 Monterrey ,Nuevo León (EGG)

1  
2  
3  
4 **34 ABSTRACT**

5  
6 **35 Background:** *Chlamydia trachomatis* is the causative agent of the most common bacterial  
7  
8  
9 **36** sexually transmitted infection worldwide. The aim of this study was to investigate the  
10  
11 **37** frequency and genotypes of *C. trachomatis* in patients attending an obstetrics and  
12  
13  
14 **38** gynecology clinic in Jalisco, Mexico and correlates them with sociodemographic, behavioral,  
15  
16 **39** and biological factors.

17  
18 **40 Methods:** *C. trachomatis* detection was performed in endocervical samples from 662  
19  
20  
21 **41** patients by direct fluorescence assay (DFA) and two PCR assays that amplified the  
22  
23  
24 **42** phospholipase D endonuclease superfamily protein (PLDESP) and *OmpA* genes. Positive  
25  
26 **43** samples were genotyped using PCR–restriction fragment length polymorphism assays.  
27  
28  
29 **44** Sociodemographic, behavioral, and biological data were collected.

30  
31 **45 Results:** The mean age of the study population was 31 (range, 14–78) years. *C. trachomatis*  
32  
33 **46** positivity was detected by DFA in 16.7% ( $n = 111$ ), PLDESP gene amplification in 14.2%  
34  
35 **47** ( $n = 94$ ), and *OmpA* gene amplification in 14.5% ( $n = 96$ ) of the population. Eight *C.*  
36  
37 **48** *trachomatis* genotypes were detected: E (39.6%), F (29.2%), D (15.6%), K (6.3%), L2  
38  
39  
40 **49** (3.1%), G, J, and I (2.1% each). *C. trachomatis* infection was associated with age, marital  
41  
42  
43 **50** status, pregnancy, and hormonal contraceptive use (all  $p = 0.01$ ); intrauterine device use  
44  
45 **51** and previous premature birth (both  $p = 0.03$ ); and infection during pregnancy, previous  
46  
47  
48 **52** ectopic pregnancy, pelvic inflammatory disease (PID), and green vaginal discharge (all  $p =$   
49  
50  
51 **53** 0.04). *C. trachomatis* genotype K was more likely to be detected in women histories of  $\geq 2$   
52  
53 **54** sexual partners, genotype F was more likely in pregnant women, genotype L2 was more  
54  
55 **55** likely in women with PID, genotype D was more likely in women who had had infection  
56  
57  
58 **56** during previous pregnancies, and genotype E was more likely in those with previous  
59  
60 **57** ectopic pregnancies and green vaginal discharge (all  $p = 0.01$ ).  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Conclusions:** The frequency of *C. trachomatis* in our population was higher than previously reported worldwide, but within the range reported for Mexico. Genotype E was detected most frequently in the study population. Infection by *C. trachomatis* and *C. trachomatis* genotypes K, F, D, and E was strongly associated with multiple sociodemographic, behavioral, and biological factors. *C. trachomatis* genotype L2 was detected in women with PID.

**Key Words:** *Chlamydia trachomatis*, genotype, pregnancy, Mexico, lymphogranuloma venereum

1  
2  
3  
4 **68 INTRODUCTION**

5  
6 69 *Chlamydia trachomatis* is the causative agent of the most common bacterial sexually  
7  
8  
9 70 transmitted infection (STI) worldwide [1], and the most frequently reported of all notifiable  
10  
11 71 infections in the United States and Europe. In the United States alone, an estimated 2 to 5  
12  
13 72 million new cases of *C. trachomatis* infection occur each year [2,3]. The infection is  
14  
15 73 asymptomatic in almost 80% of women, and untreated genital infections lead to serious  
16  
17 74 complications, such as pelvic inflammatory disease (PID) and infertility [4]. Asymptomatic  
18  
19 75 infected people not only are at risk of developing serious long-term sequelae, but also  
20  
21 76 transmit the infection. In these individuals, diagnosis of *C. trachomatis* infection is difficult  
22  
23 77 because the pathogen load is low [5].

24  
25  
26  
27  
28 78 Nucleic acid amplification tests are the preferred method for the diagnosis of *C.*  
29  
30 79 *trachomatis* genital infection because of their high sensitivity and specificity [4]. *C.*  
31  
32 80 *trachomatis* typing is based on assays of the major outer membrane protein (MOMP). This  
33  
34 81 analysis differentiates 18 genotypes based on changes in the single copy of the *OmpA* gene,  
35  
36 82 which encodes the MOMP [6]. Genotypes A to C are associated with trachoma, genotypes  
37  
38 83 D to K are associated with common urogenital and ocular pathogens in adults, and  
39  
40 84 genotypes L1 to L3 are associated with lymphogranuloma venereum (LGV). In developed  
41  
42 85 countries, genotypes D, E, and F are most commonly associated with genital infections [7-  
43  
44 86 9].

45  
46  
47  
48  
49  
50 87 Previous studies have documented *C. trachomatis* frequencies ranging from 1.5% to  
51  
52 88 28% in female populations in Mexico [10,11]. The only Mexican study that has included  
53  
54 89 reporting on *C. trachomatis* genotypes showed that 24 of 152 (15.8%) infertile patients  
55  
56 90 were positive for *C. trachomatis*, and that the most prevalent genotype was F [12]. Thus,  
57  
58 91 additional studies describing the frequency and genetic distribution of *C. trachomatis* in  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4 92 Mexico are needed. The aim of this study was to investigate the frequency and genotypes of  
5  
6 93 *C. trachomatis* in patients attending the obstetrics and gynecology clinic of the Fray  
7  
8  
9 94 Antonio Alcalde Civil Hospital in Jalisco, Mexico and correlates them with  
10  
11 95 Sociodemographic, behavioral, and biological factors.  
12  
13  
14 96

## 16 97 **MATERIALS AND METHODS**

### 18 98 **Ethics Statement**

20  
21 99 This study was performed with the approval of the Local Ethics Committee of the Hospital  
22  
23 100 Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" in Jalisco, Mexico (approval no. 062/13).  
24  
25 101 Written informed consent was obtained from all patients or, for minors, from caretakers or  
26  
27 102 guardians.  
28  
29  
30

### 31 103 32 33 104 **Study Population and Data Collection**

34  
35 105 This study was conducted in the obstetrics and gynecology department of the Hospital Civil  
36  
37 106 de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" from September 2013 to August 2014. Only  
38  
39 107 patients attending the clinic for the first time were invited to participate. Sociodemographic  
40  
41 108 and clinical data were collected for each patient.  
42  
43  
44

### 45 109 46 47 110 **Specimen Collection and DNA Isolation**

48  
49 111 Endocervical samples were collected using two sterile Dacron-tipped swabs and placed in  
50  
51 112 2-sucrose phosphate medium. Tubes were kept refrigerated until analyzed.  
52  
53

54  
55 113 To obtain *C. trachomatis* DNA, one swab was subjected to enzymatic lysis with  
56  
57 114 lysozyme and proteinase K. Genomic DNA was extracted using a standard phenol-  
58  
59 115 chloroform-isoamyl alcohol protocol.  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

116

117 **Direct Fluorescence Assay**

118 *C. trachomatis* was detected by direct fluorescence assay (DFA) using a monoclonal anti-  
119 *Chlamydia* antibody (BioMérieux, France). The endocervical samples were transferred to  
120 clean slides, which were incubated with fluorescent monoclonal antibody for 30 min at a  
121 controlled temperature of 25°C. The samples were observed under a fluorescence  
122 microscope (Axio Scope.A1; Zeiss, NY). Positive and negative controls were included in  
123 all assays.

124

125 **Phospholipase D Endonuclease Superfamily Protein Gene Analysis**

126 Polymerase chain reaction (PCR) assays were performed to amplify the phospholipase D  
127 endonuclease superfamily (PLDESP) gene using the method described by Gimenes *et al.*  
128 [13]. The total volume was 25 µL, consisting of 2.5 µL 10× PCR buffer, 100 ng DNA,  
129 3mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM of each deoxynucleotide triphosphate (dNTP), and 1 U Taq  
130 polymerase (Bioline, London, UK). The primers used were CT-F (5'-  
131 TCTTTTAAACCTCCGGAACCCACTT-3') and CT-R (5'-  
132 GGATGGCATCGCATAGCATTCTTTG-3'). The thermocycler conditions were: 3 min at  
133 94°C; then 35 cycles of 30 s at 94°C, 30 s at 50°C, and 30 s at 72°C; and a final extension  
134 of 5 min at 72°C.

135

136 **OmpA Gene Analysis and Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis**

137 The *OmpA* gene of *C. trachomatis* was amplified using the method described by Lan *et al.*  
138 [14]. The total volume was 25 µL, consisting of 2.5 µL 10× PCR buffer, 100 ng DNA,  
139 3mM MgCl<sub>2</sub>, 200 µM of each dNTP, and 1 U Taq polymerase (Bioline). The primers used



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

140 were SERO1A (5'-ATGAAAAA ACTCTTGAAATCGG-3') and SERO2A (5'-TTT CTA  
141 GAT CTT CAT TCT TGT T-3'). The thermocycler conditions were: 7 min at 94°C; then  
142 40 cycles of 3 min at 95°C, 3 min at 45°C, and 3 min at 72°C; and a final extension of 7  
143 min at 72°C. Then, 0.5 µl of the first-round PCR product was used for semi-nested PCR,  
144 which was performed with the same reagents and conditions except for the primers. The  
145 primers used for this assay were SERO2A and the nested primer PCTM3 (5'-  
146 TCCTTGCAAGCTCTGCCTGTGGGGAATCCT-3'). The PCR products of the second  
147 round were checked on ethidium bromide–stained 1.5% agarose gels.  
148 Positive samples were genotyped by PCR–restriction fragment length polymorphism  
149 (RFLP) assays, as described by Sayada *et al.* [15], using 1000-bp semi-nested PCR  
150 products. The nested PCR product (10 µL) was digested with 2.5 U *Alu* I (Promega,  
151 Madison, WI, USA) overnight at 37°C. Depending on the patterns obtained, the products  
152 were digested with the enzyme *Hinf* I (Promega). Genotypes were identified by their  
153 restriction patterns on ethidium bromide–stained 3.5% agarose gels. We used control DNA  
154 from the *C. trachomatis* strain ATCC VR-902B MOMP gene, partial cds (AmpliRun, ref.  
155 MBC012).

156

### 157 **Statistical Analysis**

158 Descriptive analysis was performed. We used the Wilcoxon rank-sum test to compare mean  
159 values and Fisher's exact test or the chi-squared test to compare dichotomous variables.  
160 Analyses were performed using SPSS (version 18).

161

## 162 **RESULTS**

### 163 **Study Population and Patient Characteristics**

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

164 Of 30,000 female patients estimated who visited the obstetrics and gynecology department,  
165 662 patients were enrolled in this study. Only patients who agreed to participate and were  
166 attending the clinic for the first time were included. The mean age of the study population  
167 was 31 (range, 14–78) years. The largest proportion (38.5%,  $n = 255$ ) of patients was aged  
168 20–29 years. Most (75.5%,  $n = 500$ ) patients were married or living with a partner, and  
169 37.6% ( $n = 249$ ) reported using condoms as a contraceptive method. The majority (69.5%,  
170  $n = 460$ ) of patients were housewives, and 43.3% ( $n = 287$ ) were pregnant at the time of  
171 sample collection (Table 1).

172

### 173 **Detection of Infection**

174 *C. trachomatis* positivity was detected by DFA in 16.7% ( $n = 111$ ) of the study population,  
175 by PLDESP gene amplification in 14.2% ( $n = 94$ ), and by *OmpA* gene amplification in  
176 14.5% ( $n = 96$ ) of the population. According to PCR-RFLP results, the most frequent  
177 *OmpA* genotype corresponded to E (39.6%,  $n = 38$ ), followed by F (29.2%,  $n = 28$ ), D  
178 (15.6%,  $n = 15$ ), K (6.3%,  $n = 6$ ), and L2 (3.1%,  $n = 3$ ). Genotypes G, I, and J were  
179 detected less frequently (2.1%,  $n = 2$  each; Table 2).

180

### 181 **Association of *C. trachomatis* Infection with sociodemographic, behavioral, and** 182 **biological factors**

183 *C. trachomatis* infection was associated with age  $\geq 40$  years, being married or living with a  
184 partner, and the use of hormonal contraceptives (all  $p = 0.01$ ), as well as intrauterine device  
185 (IUD) use ( $p = 0.03$ ) and no history of birth control use ( $p = 0.02$ ). In addition, pregnant  
186 women ( $p = 0.01$ ) and those who had had infections during pregnancy ( $p = 0.04$ ) were more  
187 likely to be infected. Infected women were more likely to have previous histories of giving

1  
2  
3  
4 188 birth prematurely ( $p = 0.03$ ), ectopic pregnancy, PID, or green vaginal discharge (all  $p =$   
5  
6 189 0.04; Table 1).  
7  
8

9 190

### 11 191 **Association of *C. trachomatis* Genotypes with Risk Factors**

12  
13  
14 192 Women with histories of two or more sexual partners were more likely to be infected with  
15  
16 193 *C. trachomatis* genotype K ( $p = 0.01$ ), whereas pregnant women were more likely to be  
17  
18 194 infected with *C. trachomatis* genotype F ( $p = 0.03$ ). Associations were detected between  
19  
20  
21 195 genotype L2 and PID ( $p = 0.02$ ), genotype D and infection during previous pregnancy ( $p =$   
22  
23 196 0.02), and genotype E and previous ectopic pregnancy ( $p = 0.04$ ) and green vaginal  
24  
25 197 discharge ( $p = 0.001$ ; Table 2). We found no association of any *C. trachomatis* genotype with  
26  
27 198 previous pregnancy, abortion, or premature birth (data not shown).  
28  
29

30  
31 199

### 33 200 **DISCUSSION**

34  
35  
36 201 *C. trachomatis* is a causal factor of STI, the course of which is frequently asymptomatic. In  
37  
38 202 this study, the frequency and genotypes of *C. trachomatis* in patients attending a  
39  
40 203 gynecology clinic in the largest public hospital in the state of Jalisco were determined. To  
41  
42 204 our knowledge, this work is the largest molecular epidemiological study of *C. trachomatis*  
43  
44 205 frequency and genotypes in Mexico, and their associations with sociodemographic,  
45  
46 206 behavioral, and biological factors.  
47  
48

49  
50 207 The frequency of *C. trachomatis* detected by PCR in this study was 14.5%. Previous  
51  
52 208 studies in Mexican populations have detected *C. trachomatis* at frequencies ranging from  
53  
54 209 1.5% to 28% [10,11]. Our results thus fall within the reported range for Mexico. The  
55  
56 210 frequency detected in the current study was higher than reported for Australia (4.9%)  
57  
58 211 [16,17], Spain (4%) [17], France (3.6%) [18], and the United Kingdom (3%) [19].  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

212 Current guidelines from the Centers for Disease Control and Infection recommend  
213 annual screening for this bacteria in sexually active women aged  $\leq 25$  years and in those  
214 aged  $> 25$  years who are at risk of infection [20]. In Mexico, *C. trachomatis* infection is not  
215 a notifiable disease; thus, routine testing is not mandatory. This situation makes the  
216 collection of reliable epidemiological data from throughout the country difficult.

217 The prevalence of *C. trachomatis* genotypes has been determined for several countries,  
218 but little such data are available for Latin America. In our study, the most frequent  
219 genotype was E (39.6%), followed by F (29.2%) and D (15.6%). In a previous study of *C.*  
220 *trachomatis* in Mexico, genotype F was most frequent (54.2%), followed by genotypes E,  
221 G, K, and L2 (8.7% each); genotypes D, F, and I were detected at a frequency of 4.2% each  
222 [12]. That study, however, involved the examination of only 152 samples from infertile  
223 women (with only 24 specimens positive for *C. trachomatis*), and few clinical data were  
224 reported [12]. Our results are similar to those reported from Latin America and other parts  
225 of the world. In a Brazilian study that included 141 women, the most frequent genotype  
226 detected was E (39.7%), followed by F (17.7%) and D (17%) [21]. In a Costa Rican study  
227 including 806 *C. trachomatis*-positive samples, genotype E was also most frequent (31%),  
228 followed by F and D (21% each) [22]. Genotype E was most frequent in a study including  
229 81 women conducted in Argentina [23]. Similar frequencies have been reported in other  
230 parts of the world, including the Netherlands (E, 41.5%; F, 21.8%; D, 11.9%) [24], China  
231 (E, 37.2%; F, 31.3%) [25], and Alabama, United States (E, 29%; F and D, 19% each) [26].

232 In our population, genotype L2 was identified in three patients with no clinical data  
233 indicating LGV. This situation has been described previously in Mexico [12]. LGV is a  
234 sexually transmitted disease caused by *C. trachomatis* serotypes L1, L2, and L3. It

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

235 probably affects both sexes equally, although it has been reported more frequently in men,  
236 in whom the early manifestations of the disease are more evident. Men often display the  
237 acute form of LGV, whereas it is often detected in women when late-stage complications  
238 develop [27]. Most cases in Europe and North America have been identified in men who  
239 have sex with men [28]. A small number of genotype L cases has been reported in  
240 heterosexuals in the United Kingdom and Europe, including seven women in the UK since  
241 2004, but these cases appear to be linked to male bisexual partners or sexual contact with  
242 those returning from endemic areas [29].

243 Interestingly, patients who were married or living with a partner were most at risk of  
244 infection with *C. trachomatis* in the present study. This finding may be explained by the  
245 lack of contraceptive use or infection prevention in this population.

246 An association of hormonal contraceptive use with the risk of infection was detected in  
247 the present study, confirming the results of previous studies [30]. Hormonal contraception  
248 is associated with an increased rate of cervical colonization because estrogen supports  
249 bacterial growth [31].

250 Recent studies have shown that IUD use is safe for all women, including those at high  
251 risk of STIs [32]. In this study, patients using IUDs were more likely to be infected with *C.*  
252 *trachomatis* than were those who did not report IUD use, possibly due to the trauma caused  
253 by IUDs.

254 Of special concern is the strong association between *C. trachomatis* infection and  
255 pregnancy at the time of sampling. Prompt diagnosis in this population is a cornerstone for  
256 the prevention of infection in newborns [33].

257 In the current study, *C. trachomatis* infection was associated with PID. Several studies  
258 have demonstrated that women who test positive for *C. trachomatis* have an increased risk

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

259 of PID throughout their reproductive life compared with women who test negative [34,35].  
260 PID has also been suggested to be associated with an increased risk of repeated infection  
261 [36].

262 Possible associations of *C. trachomatis* genotypes with specific clinical symptoms or  
263 the pathogenicity of the disease have not been described completely. In a previous study, *C.*  
264 *trachomatis* genotype K was associated with vaginal discharge [37]; in our sample,  
265 genotype K was detected more frequently in patients with multiple partners. Furthermore,  
266 genotype F was detected more frequently in pregnant women. *C. trachomatis* genotype F  
267 has been associated with reduced mucopurulent endocervical discharge [38] and  
268 inflammation in men, but not in women [39]. Women who reported abdominal pain were  
269 more likely to be infected with genotype F [40]. In this study, genotype E was associated  
270 with previous ectopic pregnancy and green vaginal discharge. In a previous study, genotype  
271 E was associated with conjunctivitis in neonates [23].

272

### 273 **Conclusion**

274 To our knowledge, this study is the only molecular epidemiological research to date on the  
275 frequency and genotypes of *C. trachomatis*, and their associations with sociodemographic,  
276 behavioral, and biological factors, in women attending a gynecology and obstetrics clinic in  
277 Mexico. The frequency of *C. trachomatis* in our population was higher than previously  
278 reported worldwide, but within the range reported for Mexico. Genotype E was detected  
279 most frequent in the study population.

280

### 281 **List of abbreviations**

282 **CI:** Confidence interval

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

283 **DFA:** Direct fluorescence assay

284 **dNTP:** Doxynucleotide triphosphate

285 **IUD:** Intrauterine device

286 **LGV:** Lymphogranuloma venereum

287 **MOMP:** Major outer membrane protein

288 **OR:** Odds ratio

289 **PCR:** Polymerase chain reaction

290 **PID:** Pelvic inflammatory disease

291 **PLDESP:** Phospholipase D endonuclease superfamily protein

292 **RFLP:** Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis

293 **STI:** Sexually transmitted infection

294

295 **Competing interests**

296 The authors declare that they have no competing interests.

297

298 **Authors' contributions**

299 NCV conceived of the study, participated in the design of the study, carried out the direct

300 immunofluorescence methods and molecular studies, performed the statistical analysis and

301 drafted the manuscript. RMO conceived of the study, participated in its design and

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

302 coordination of the study, interpretation of data clinical and drafted the manuscript. SG  
303 conceived of the study, and participated in its design and coordination of the study. JLD  
304 participated in developing methods of direct immunofluorescence. ERN conceived of the  
305 study, and participated in its design and coordination of the study. ACO participated in its  
306 design and drafted the manuscript. MMAC conducted taking the samples, performed the  
307 medical records. HJMG conceived of the study and drafted the manuscript. JAR conceived  
308 and participated of the study. GGA participated in the design of the study. ANG  
309 participated in the design of the study. EGG conceived of the study, participated in its  
310 design and coordination of the study, carried out the direct immunofluorescence methods  
311 and molecular studies, performed the statistical analysis and drafted the manuscript.

312 All authors read and approved the final manuscript.

313

314 **Acknowledgements**

315 The authors would like to thank the study participants and our research team Acevedo-  
316 Duarte L, González-Guzmán M, Martínez-Macías SK, Jiménez-Gutiérrez C, Carbajal-  
317 Rimoldi A. for all his contributions in the research.

318



1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

319 **References**

320 1. Bender N, Herrmann B, Andersen B, Hocking JS, van Bergen J, et al. (2011) Chlamydia  
321 infection, pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy and infertility: cross-national  
322 study. Sexually transmitted infections 87: 601-608.

323 2. European Centre for Disease Prevention and Control (2013) Sexually Transmitted Infections in  
324 Europe, 2011. Stockholm.

325 3. Centers for Disease Control and Prevention (2011) Sexually Transmitted Disease Surveillance,  
326 2010. In: Services. DoHaH, editor. Atlanta, USA.

327 4. Semeniuk H, Zentner A, Read R, Church D (2002) Evaluation of sequential testing strategies  
328 using non-amplified and amplified methods for detection of *Chlamydia trachomatis* in  
329 endocervical and urine specimens from women. Diagn Microbiol Infect Dis 42: 43-51.

330 5. Stamm WE (1999) *Chlamydia trachomatis* infections: progress and problems. J Infect Dis 179  
331 Suppl 2: S380-383.

332 6. Rodriguez P, de Barbeyrac B, Persson K, Dutilh B, Bebear C (1993) Evaluation of molecular  
333 typing for epidemiological study of *Chlamydia trachomatis* genital infections. J Clin  
334 Microbiol 31: 2238-2240.

335 7. Kapil R, Press CG, Hwang ML, Brown L, Geisler WM (2015) Investigating the epidemiology of  
336 repeat *Chlamydia trachomatis* detection after treatment by using *C. trachomatis* OmpA  
337 genotyping. J Clin Microbiol 53: 546-549.

338 8. Kese D, Potocnik M, Maticic M, Kogoj R (2011) Genotyping of *Chlamydia trachomatis* directly  
339 from urogenital and conjunctiva samples using an ompA gene pyrosequencing-based assay.  
340 FEMS Immunol Med Microbiol 63: 210-216.

341 9. Taheri Beni B, Jenab A, Roghanian R, Motamedi H, Golbang N, et al. (2012) Genotyping of  
342 Endocervical *Chlamydia trachomatis* Strains and Detection of Serological Markers of  
343 Acute and Chronic Inflammation in Their Host. Int J Fertil Steril 6: 101-106.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

344 10. Guerra-Infante F, Flores-Medina S, Arteaga-Troncoso G, Zamora-Ruiz A, Lopez-Hurtado M, et  
345 al. (2003) [Risk factors and reproductive sequelae associated with *Chlamydia trachomatis*  
346 infection in infertile women]. *Salud Publica Mex* 45 Supp 5: S672-680.

347 11. Esquivel CA, Briones Ezcarzaga ML, Castruita Limones DE, Lazalde Ramos BP, Salas EV, et  
348 al. (2003) Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in registered female sex workers  
349 in northern Mexico. *Sexually transmitted diseases* 30: 195-198.

350 12. de Jesus De Haro-Cruz M, Deleon-Rodriguez I, Escobedo-Guerra MR, Lopez-Hurtado M,  
351 Arteaga-Troncoso G, et al. (2011) Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical  
352 specimens of infertile Mexican women. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*  
353 29: 102-108.

354 13. Gimenes F, Medina FS, Abreu AL, Irie MM, Esquicati IB, et al. (2014) Sensitive simultaneous  
355 detection of seven sexually transmitted agents in semen by multiplex-PCR and of HPV by  
356 single PCR. *PloS one* 9: e98862.

357 14. Lan J, Walboomers JM, Roosendaal R, van Doornum GJ, MacLaren DM, et al. (1993) Direct  
358 detection and genotyping of *Chlamydia trachomatis* in cervical scrapes by using  
359 polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin*  
360 *Microbiol* 31: 1060-1065.

361 15. Sayada C, Denamur E, Orfila J, Catalan F, Elion J (1991) Rapid genotyping of the *Chlamydia*  
362 *trachomatis* major outer membrane protein by the polymerase chain reaction. *FEMS*  
363 *Microbiol Lett* 67: 73-78.

364 16. Walker J, Fairley CK, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Chen MY, et al. (2011) The difference in  
365 determinants of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* in a sample of young  
366 Australian women. *BMC Infect Dis* 11: 35.

367 17. Fernandez-Benitez C, Mejuto-Lopez P, Otero-Guerra L, Margolles-Martins MJ, Suarez-Leiva P,  
368 et al. (2013) Prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* infection among young men and  
369 women in Spain. *BMC infectious diseases* 13: 388.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

370 18. Goulet V, de Barbeyrac B, Raheison S, Prudhomme M, Semaille C, et al. (2010) Prevalence of  
371 *Chlamydia trachomatis*: results from the first national population-based survey in France.  
372 Sex Transm Infect 86: 263-270.

373 19. Fenton KA, Korovessis C, Johnson AM, McCadden A, McManus S, et al. (2001) Sexual  
374 behaviour in Britain: reported sexually transmitted infections and prevalent genital  
375 Chlamydia trachomatis infection. Lancet 358: 1851-1854.

376 20. Workowski KA, Berman S (2010) Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010.  
377 MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report  
378 Recommendations and reports / Centers for Disease Control 59: 1-110.

379 21. Machado AC, Bandea CI, Alves MF, Joseph K, Igietseme J, et al. (2011) Distribution of  
380 Chlamydia trachomatis genovars among youths and adults in Brazil. Journal of medical  
381 microbiology 60: 472-476.

382 22. Quint K, Porras C, Safaeian M, Gonzalez P, Hildesheim A, et al. (2007) Evaluation of a novel  
383 PCR-based assay for detection and identification of Chlamydia trachomatis serovars in  
384 cervical specimens. Journal of clinical microbiology 45: 3986-3991.

385 23. Gallo Vaulet L, Entrocassi C, Corominas AI, Rodriguez Fermepin M (2010) Distribution study  
386 of *Chlamydia trachomatis* genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires, Argentina:  
387 association between genotype E and neonatal conjunctivitis. BMC Res Notes 3: 34.

388 24. Morre SA, Ossewaarde JM, Savelkoul PH, Stoof J, Meijer CJ, et al. (2000) Analysis of genetic  
389 heterogeneity in Chlamydia trachomatis clinical isolates of serovars D, E, and F by  
390 amplified fragment length polymorphism. Journal of clinical microbiology 38: 3463-3466.

391 25. Gao X, Chen XS, Yin YP, Zhong MY, Shi MQ, et al. (2007) Distribution study of Chlamydia  
392 trachomatis serovars among high-risk women in China performed using PCR-restriction  
393 fragment length polymorphism genotyping. Journal of clinical microbiology 45: 1185-  
394 1189.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

395 26. Geisler WM, Suchland RJ, Stamm WE (2006) Association of Chlamydia trachomatis Serovar Ia  
396 infection with black race in a sexually transmitted diseases clinic patient population in  
397 Birmingham, Alabama. Sexually transmitted diseases 33: 621-624.

398 27. Ceovic R, Gulin SJ (2015) Lymphogranuloma venereum: diagnostic and treatment challenges.  
399 Infection and drug resistance 8: 39-47.

400 28. Ward H, Alexander S, Carder C, Dean G, French P, et al. (2009) The prevalence of  
401 lymphogranuloma venereum infection in men who have sex with men: results of a  
402 multicentre case finding study. Sexually transmitted infections 85: 173-175.

403 29. Ward H, Martin I, Macdonald N, Alexander S, Simms I, et al. (2007) Lymphogranuloma  
404 venereum in the United kingdom. Clinical infectious diseases : an official publication of the  
405 Infectious Diseases Society of America 44: 26-32.

406 30. Mohllajee AP, Curtis KM, Martins SL, Peterson HB (2006) Hormonal contraceptive use and  
407 risk of sexually transmitted infections: a systematic review. Contraception 73: 154-165.

408 31. Hart G (1993) Risk profiles and epidemiologic interrelationships of sexually transmitted  
409 diseases. Sexually transmitted diseases 20: 126-136.

410 32. Birgisson NE, Zhao Q, Secura GM, Madden T, Peipert JF (2015) Positive Testing for Neisseria  
411 gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis and the Risk of Pelvic Inflammatory Disease in  
412 IUD Users. Journal of women's health 24: 354-359.

413 33. Borborema-Alfaia AP, Freitas NS, Astolfi Filho S, Borborema-Santos CM (2013) Chlamydia  
414 trachomatis infection in a sample of northern Brazilian pregnant women: prevalence and  
415 prenatal importance. The Brazilian journal of infectious diseases : an official publication of  
416 the Brazilian Society of Infectious Diseases 17: 545-550.

417 34. Bakken IJ, Ghaderi S (2009) Incidence of pelvic inflammatory disease in a large cohort of  
418 women tested for Chlamydia trachomatis: a historical follow-up study. BMC infectious  
419 diseases 9: 130.

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

420 35. Low N, Egger M, Sterne JA, Harbord RM, Ibrahim F, et al. (2006) Incidence of severe  
421 reproductive tract complications associated with diagnosed genital chlamydial infection: the  
422 Uppsala Women's Cohort Study. *Sex Transm Infect* 82: 212-218.

423 36. Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, et al. (2010) Risk of sequelae after  
424 *Chlamydia trachomatis* genital infection in women. *The Journal of infectious diseases* 201  
425 Suppl 2: S134-155.

426 37. Morre SA, Rozendaal L, van Valkengoed IG, Boeke AJ, van Voorst Vader PC, et al. (2000)  
427 Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or  
428 asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? *Journal of clinical*  
429 *microbiology* 38: 2292-2296.

430 38. Workowski KA, Stevens CE, Suchland RJ, Holmes KK, Eschenbach DA, et al. (1994) Clinical  
431 manifestations of genital infection due to *Chlamydia trachomatis* in women: differences  
432 related to serovar. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious*  
433 *Diseases Society of America* 19: 756-760.

434 39. van de Laar MJ, van Duynhoven YT, Fennema JS, Ossewaarde JM, van den Brule AJ, et al.  
435 (1996) Differences in clinical manifestations of genital chlamydial infections related to  
436 serovars. *Genitourin Med* 72: 261-265.

437 40. Geisler WM, Suchland RJ, Whittington WL, Stamm WE (2003) The relationship of serovar to  
438 clinical manifestations of urogenital *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Dis* 30:  
439 160-165.

445 Table 1. Associations of *C. trachomatis* with sociodemographic, behavioral, and biological  
 446 characteristics of the study population.

Characteristic	Total positive population [n (%), n = 662]	<i>C. trachomatis</i> positive by <i>OmpA</i> [n (%), n = 96]	P	Adjusted OR (95% CI)
<b>SOCIODEMOGRAPHIC FACTORS</b>				
<b>Age group (years)</b>				
14–19	93 (14)	10 (10.4)	0.14	0.68 (0.32, 1.33)
20–29	255 (38.5)	35 (36.5)	0.32	0.90 (0.57, 1.41)
30–39	186 (28.1)	23 (24)	0.16	0.77 (0.46, 1.27)
≥40	129 (19.5)	28 (29.2)	0.01	2.69 (1.61, 4.44)
<b>Occupation</b>				
Housewife	460 (69.5)	64 (66.7)	0.26	0.85 (0.53, 1.32)
Employee/merchant	106 (16)	19 (19.8)	0.13	1.37 (0.77, 2.36)
Professional	63 (9.5)	8 (8.3)	0.34	0.84 (0.36, 1.77)
Student	33 (5)	5 (5.2)	0.43	1.05 (0.35, 2.66)
<b>Marital status</b>				
Single	140 (21.2)	4 (4.2)	0.43	1.05 (0.32, 2.61)
Divorced/widowed/separated	22 (3.3)	8 (8.3)	0.34	0.84 (0.36, 1.77)
Married/living with partner	500 (75.5)	83 (86.5)	0.01	1.99 (1.10, 3.83)
<b>BEHAVIORAL FACTORS</b>				
<b>Alcohol use</b>	145 (21.9)	23 (24)	0.31	1.12 (0.69, 1.77)
<b>Current smoker</b>	200 (30.21)	31 (32.3)	0.29	1.14 (0.67, 1.89)
<b>Age at first intercourse (years)</b>				
<18	330 (49.9)	47 (49)	0.43	0.96 (0.62, 1.49)
≥18	332 (50.2)	49 (51)	0.17	1.23 (0.79, 1.91)
<b>No. of sex partners</b>				
0	7 (1)	2 (2.1)	0.16	2.38 (0.31, 12.27)
1	311 (47)	40 (41.7)	0.13	0.77 (0.49, 1.20)
2–4	279 (42.2)	43 (44.8)	0.28	1.13 (0.73, 1.75)
≥5	65 (9.8)	11 (11.5)	0.27	1.22 (0.59, 2.38)
<b>Contraceptive use</b>				
Hormonal	102 (15.4)	7 (7.3)	0.01	0.39 (0.16, 0.38)
Condom	249 (37.6)	39 (40.6)	0.25	1.16 (0.74, 1.82)
IUD	67 (10.1)	15 (15.6)	0.03	1.79 (0.93, 3.28)
Bilateral tubal occlusion	40 (6)	5 (5.2)	0.37	0.83 (0.28, 2.06)
None	204 (30.8)	39 (40.6)	0.02	1.55 (0.99, 2.42)
<b>BIOLOGICAL FACTORS</b>				
<b>Pregnant at sampling</b>	287 (43.3)	31 (32.3)	0.01	0.57 (0.36, 0.91)

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

<b>Previous pregnancy</b>	621 (93.8)	88 (91.7)	0.19	0.70 (0.32, 1.67)
<b>Complications of previous pregnancy</b>				
Infection	386 (58.3)	49 (51)	0.04	0.69 (0.44, 1.07)
Bleeding	69 (10.4)	10 (10.4)	0.48	0.99 (0.46, 1.97)
Risk of spontaneous abortion	116 (17.5)	15 (15.6)	0.31	0.85 (0.45, 1.51)
Premature birth	50 (7.5)	12 (12.5)	0.03	1.98 (0.96, 3.88)
Ectopic pregnancy	9 (1.35)	4 (4.1)	0.03	3.46 (0.87, 12.19)
<b>Previous abortion</b>	163 (24.6)	26 (27.1)	0.25	1.17 (0.71, 1.90)
<b>PID</b>	295 (44.5)	36 (37.5)	0.04	0.68 (0.32, 1.33)
<b>Dyspareunia</b>				
Pain /burning	222 (33.5)	27 (28.1)	0.11	0.74 (0.45, 1.19)
Bleeding	28 (4.2)	3 (3.1%)	0.3	0.69 (0.16, 2.14)
<b>Vaginal discharge</b>				
Amount				
Scarce	101 (15.2)	16 (16.7)	0.33	1.13 (0.61, 2.00)
Moderate	322 (48.6)	44 (45.8)	0.27	0.87 (0.56, 1.35)
Copious	185 (27.9)	26 (27.1)	0.42	0.95 (0.57, 1.53)
Color				
White	450 (68)	65 (67.7)	0.47	0.98 (0.62, 1.58)
Yellow	194 (29.3)	24 (25)	0.15	0.77 (0.46, 1.27)
Green	45 (6.8)	11 (11.5)	0.04	1.90 (0.89, 3.81)
Brown	19 (2.8)	5 (5.2)	0.47	0.98 (0.62, 1.58)
<b>Previous infection</b>				
Urinary	188 (28.4)	23 (24)	0.14	0.76 (0.45, 1.25)
Vaginal	420 (63.4)	58 (60.4)	0.25	0.86 (0.55, 1.34)

447 OR, odds ratio; CI, confidence interval; IUD, Intrauterine Device; PID, pelvic  
448 inflammatory disease.

1 **Table 2.** Associations of *C. trachomatis* genotypes with risk factors in the study population.  
 2

Genotype	Total [n (%)]	≥2 sex partners			Pregnant at sampling			Pelvic inflammatory disease			Infection in previous pregnancy			Previous ectopic pregnancy			Green vaginal discharge		
		n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)	n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)	n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)	n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)	n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)	n (%)	p	Adjusted OR (95% CI)
D	15 (15.6)	12 (80)	0	0.72 (0.18, 2.45)	4 (26.6)	0.3	0.72 (0.18, 2.45)	3 (20)	0.1	0.36 (0.07, 1.33)	4 (26.6)	0	0.29 (0.07, 0.9)	0 (0)	0.3	0 (0.0, 6.18)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 1.63)
E	38 (39.6)	19 (50)	0	0.37 (0.01, 0.15)	13 (34.2)	0.4	1.154 (0.47, 2.79)	13 (34)	0.3	0.79 (0.33, 1.86)	20 (52.6)	0.4	1.11 (0.48, 2.54)	4 (10.5)	0	6.57 (0.79, 168.5)	9 (23.6)	0	7.67 (1.7, 55)
F	28 (29.2)	13 (46)	0	0.02 (0.01, 0.12)	13 (46.4)	0	2.30(0.94, 6.07)	14 (50)	0	2.07 (0.83, 5.18)	16 (57.1)	0.2	1.4 (0.57, 3.49)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 2.69)	1 (3.5)	0.1	0.21 (0.01, 1.39)
G	2 (2.1)	1 (50)	0.4	0.77 (0.01, 30.8)	1 (50)	0.3	2.11 (0.05, 84.4)	0 (0)	0.5	0.82 (0.02, 11.19)	2 (100)	0.1	-	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	1 (50)	0.1	8.05 (0.19, 330.7)
I	2 (2.1)	1 (50)	0.4	0.77 (0.01, 30.87)	0 (0)	0.5	1.04 (0.03, 14.13)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.39)	2 (100)	0.1	-	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 27.63)
J	2 (2.1)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 2.49)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 7.3)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.79)	2 (100)	0.1	-	0 (0)	0.5	0 (0.0, 88.48)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 27.63)
K	6 (6.3)	6 (100)	0	7.92 (0.91, 245.2)	0 (0)	0.2	0.38 (0.01, 3.62)	3 (50)	0.3	1.71 (0.28, 10.5)	1 (50)	0.5	0.95 (0.15, 5.38)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 18.84)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 5.23)
L2	3 (3.1)	2 (66.6)	0.4	1.57 (0.11, 47.58)	0 (0)	0.2	0 (0.0, 3.59)	3 (100)	0	8.38 (0.70, 288.2)	0 (0)	0.1	0 (0.0, 1.61)	0 (0)	0.4	0 (0.0, 46.62)	0 (0)	0.3	0 (0.0, 13.84)

34 OR, odds ratio; CI, confidence interval.  
 35  
 36  
 37  
 38  
 39  
 40  
 41  
 42  
 43  
 44  
 45  
 46  
 47  
 48  
 49  
 50  
 51  
 52  
 53  
 54  
 55  
 56  
 57  
 58  
 59  
 60  
 61  
 62  
 63  
 64  
 65



1 **Title:** Frequency of nine sexually transmitted pathogens, co-infections and risk factors in  
2 patients attending the obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico.

3

4 **Running title:** Frequency of sexually transmitted infections in Mexico.

5

6 Néstor Casillas-Vega<sup>1</sup>, Rayo Morfín-Otero<sup>2</sup>, Santos García<sup>3</sup>, Jorge Llaca-Díaz<sup>4</sup>, Eduardo  
7 Rodríguez-Noriega<sup>2</sup>, Adrián Camacho-Ortiz<sup>5</sup>, Ma de la Merced Ayala Castellanos<sup>2</sup>, Soraya  
8 Mendoza-Olazarán<sup>1</sup>, Samantha Flores-Treviño<sup>1</sup>, Santiago Peterson-Morfín<sup>2</sup>, Héctor J.  
9 Maldonado-Garza<sup>1</sup>, Francisco J. Bosques-Padilla<sup>1</sup>, Elvira Garza-González<sup>1, 4\*</sup>

10

#### 11 **Affiliations**

12 1. Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González,  
13 Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.

14 2. Hospital Civil de Guadalajara, Fray Antonio Alcalde, y el Instituto de Patología  
15 Infecciosa y Experimental, Centro Universitario de Ciencias de la Salud,  
16 Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.

17 3. Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas  
18 Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás, Nuevo León, México.

19 4. Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio  
20 González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León,  
21 México.

22 5. Coordinación de Epidemiología Hospitalaria, Hospital Universitario Dr. José  
23 Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey México.

24

25 \*Corresponding author

26 E-mail: [nestor.casillas.vega@hotmail.com](mailto:nestor.casillas.vega@hotmail.com) (NCV), [rayomorfin@gmail.com](mailto:rayomorfin@gmail.com) (RMO),  
27 [santos@microbiosymas.com](mailto:santos@microbiosymas.com) (SG), [jorgellaca@hotmail.com](mailto:jorgellaca@hotmail.com) (JLD), [idcolima@yahoo.com](mailto:idcolima@yahoo.com)  
28 (ERN), [acamacho\\_md@yahoo.com](mailto:acamacho_md@yahoo.com) (ACO), [marimer66@yahoo.com.mx](mailto:marimer66@yahoo.com.mx) (MMAC),  
29 [qcbsoraya@yahoo.com.mx](mailto:qcbsoraya@yahoo.com.mx) (SMO), [samflorest@gmail.com](mailto:samflorest@gmail.com) (SFT),  
30 [santiagopetersen@gmail.com](mailto:santiagopetersen@gmail.com) (SPM), [hectormaldonadog@yahoo.com](mailto:hectormaldonadog@yahoo.com) (HJMG),  
31 [fbosques58@hotmail.com](mailto:fbosques58@hotmail.com) (FJBP), [elvira\\_garza\\_gzz@yahoo.com](mailto:elvira_garza_gzz@yahoo.com) (EGG).

32

33

34

35 **ABSTRACT**

36 **Background.** Sexually transmitted infections (STIs) are caused by more than 30  
37 pathogens; Worldwide more than 1 million people acquire an STI every day. The aim of  
38 this study was to determine the frequency of nine pathogens associated with sexually  
39 transmitted infections and co-infections in samples of patients attending obstetrics and  
40 gynecology clinics in a third level Hospital in Jalisco, Mexico and correlate them with  
41 socio-demographic, behavioral, and biological factors.

42 **Methods.** Samples of six hundred sixty two patients attending obstetrics and gynecology  
43 clinics at the Hospital Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", were studied from  
44 September 2013 to August 2014. Bacterial microbiota was detected and identified by  
45 biochemical tests. Antibodies against *Treponema pallidum*, HIV and HCV were determined  
46 by serology; HPV was detected by PCR and its genotype was determined by RFLP.  
47 *Trichomonas vaginalis*, HSV-1, HSV-2, *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*  
48 and *T. pallidum* were detected by multiplex PCR.

49 **Results.** In 53% patients, there was no normal microbiota. The most frequent species  
50 detected in the samples were *Enterococcus faecalis* (33.9% of the samples) followed by  
51 *Candida albicans* (23.4%) and *Escherichia coli* (19%). Antibodies against HIV, HCV and  
52 *T. pallidum* were found in 0.8%, 0.15% and 2.26% of the patients respectively, *T. pallidum*  
53 was positive by PCR in 1.05%. HPV was detected in 13.9% of patients. The most  
54 frequently HPV genotype detected was 16 (33.7%), followed by 31 (15.2%). Of the  
55 population studied, 14.2 % were positive for *T. vaginalis*, 8.5% for HSV-1, 2.41% for *M.*  
56 *genitalium*, 2.11% for *N. gonorrhoeae* and 1.8% for HSV-2. Patients infected with *T.*  
57 *vaginalis* were more likely to have multiple co-infections with HPV, HSV-1, *T. pallidum* ( $p$   
58 = 0.01 for all), HIV, and *M. genitalium* ( $p = 0.02$  for both).

59 Patients of age 14-19 years were less frequently HIV infected and in contrast, patients in  
60 the age range 20-29 y were more likely HIV infected. Patients with  $\geq 5$  sexual partners were  
61 more likely HIV- or HPV-infected.

62 **Conclusion.** The frequency of HCV, HPV, HVS-1, HSV-2, *M. genitalium* and *T. vaginalis*  
63 was lower than that reported worldwide. However, high frequency of HIV, *T. pallidum*, and  
64 *N. gonorrhoeae* was detected. The HPV genotypes most frequently detected were types 16  
65 and 6. Patients infected with *T. vaginalis* were more likely to have multiple co-infections.

66

67 **Key Words:** Sexually transmitted infections, Mexico, co-infections, pregnancy,  
68 gynecology

69

## 70 INTRODUCTION

71 Sexually transmitted infections (STIs) are caused by more than 30 pathogens; among the  
72 highest in frequency and clinical importance are: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria*  
73 *gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma genitalium*, the hepatitis B and C virus  
74 (HBV, HCV), human immunodeficiency virus (HIV), human papilloma virus (HPV),  
75 herpes simplex virus 1 and 2 (HSV-1, HSV-2) and *Trichomonas vaginalis*. These  
76 microorganisms spread mainly through sexual contact. Eight of these pathogens cause  
77 high incidence of disease with four currently curable (these caused by *T. pallidum*, *N.*  
78 *gonorrhoeae*, *C. trachomatis* and *T. vaginalis*) and the other four (caused by HBV, HSV  
79 1/2, HPV and HIV) are incurable viral infections that can be mitigated or lessen with  
80 treatment [2].

81 Worldwide more than one million people acquire an STI every day. Each year, an  
82 estimated about 500 million individuals are infected with one of the four curable STIs.  
83 Furthermore, it is estimated that more than 290 million women are infected with HPV  
84 and more than 530 million people suffer HSV-2 infection [3].

85 Some STIs can have serious consequences beyond the immediate effects of the infection  
86 itself, such as a triple risk of HIV infection; transmission of infection from mother to child  
87 during pregnancy or childbirth (which can lead to stillbirth, neonatal death, low birth  
88 weight and prematurity, septicemia, pneumonia, neonatal conjunctivitis and congenital  
89 deformities); and chronic diseases [4].

90 Other infections, cause great health problems to the population. Syphilis causes  
91 approximately 305,000 fetal and neonatal deaths annually and leaves 215,000 infants at risk  
92 of death from prematurity, low birth weight or congenital disease according to World

93 Health Organization (WHO) [5]. HPV infection causes 530,000 cases of cervical cancer  
94 and 275,000 deaths [6]; *N. gonorrhoeae* primarily is associated to pelvic inflammatory  
95 disease (PID) [7].  
96 STIs are often asymptomatic in women compared with men, which produces a delay in  
97 medical care. Furthermore, microbiological diagnostic tests are less sensitive [8]. Also,  
98 women are at greater risk of complications than men, and this can implicate serious and  
99 permanent consequences, both in their sexual health during pregnancy and in the newborn  
100 [9].

101 In Mexico, ITS are one of the top five diseases on demand for medical care and are among  
102 the top ten causes of general morbidity in the group of 15-44 years old individuals, with an  
103 average of 220,000 cases annually [10].

104 The frequency of STIs and causative agents of in Mexico is poorly known, as there are no  
105 relevant studies about the detection of these microorganisms, correlation of co-infections,  
106 and the various risk factors involved.

107 The aim of this study was to determine the frequency of infections and co-infections of nine  
108 pathogens associated with STIs in patients attending obstetrics and gynecology in a third-  
109 level hospital in Jalisco, Mexico and correlate them with social-demographic, behavioral,  
110 and biological factors.

111

## 112 **MATERIALS AND METHODS**

### 113 **Ethics statement**

114 This study was revised and approved from the Ethics Committee of Hospital Civil de  
115 Guadalajara "Fray Antonio Alcalde" (approval no. 062/13). Written informed consent was  
116 obtained from caretakers, or guardians on behalf of the minors enrolled in this study.

117

### 118 **Study population**

119 Six hundred and sixty-two patients attending obstetrics and gynecology at the Hospital  
120 Civil de Guadalajara "Fray Antonio Alcalde", from September 2013 to August 2014 were  
121 enrolled and included women attending for the first time.. Each patient was conducted an  
122 interview regarding social-demographic data [age, occupation (housewife, employee,  
123 merchant, professional, student), marital status (single, divorced, widow, separated,  
124 married, living with a partner)]; behavioral data [alcohol consumption, smoking, age of first  
125 sexual activity (< 18 years, ≥ 18 years), number of sexual partners (0, 1, 2-4, ≥ 5),  
126 contraceptive methods (hormonal, condom, intrauterine device, bilateral tubal occlusion,  
127 none)]; and biological factors [pregnant during the sampling, previous pregnancies,  
128 complications of previous pregnancy infections, bleeding, the risk of spontaneous abortion,  
129 premature birth, ectopic pregnancy, previous abortions, pelvic inflammatory disease)]  
130 associated with genital infections.

131

### 132 **Sample collection, bacterial culture and DNA extraction**

133 For each patient various samples were collected: two endocervical Dacron swabs  
134 transported in 2-sucrose phosphate medium (2SP) with 10% fetal bovine serum; two  
135 endocervical cotton swabs transported into Stuart's medium., and a serum sample .

136 All samples were analyzed for pathogens following traditional microbiological bacterial  
137 analyses as recommended by the American Society for Microbiology [11].

138 DNA from the cotton swabs was extracted by re-suspending the material in 200  $\mu$ L of 100  
139 mM Tris-HCl. Following vortexing, 150  $\mu$ g of lysozyme was added, and the mixture was  
140 incubated at 37°C overnight, then, genomic DNA was extracted with a standard phenol-  
141 chloroform-isoamyl alcohol protocol.

142

### 143 **Serological assays**

144 IgG and IgM anti-*T. pallidum* antibodies were analyzed in serum samples by  
145 chemoluminescence using the ARCHITECT instrument (Abbott, Illinois, U.S.A) according  
146 to manufacturer's instructions [12]. HIV screening was performed by ELISA using the  
147 methodology described by Rikhtegaran *et al.* [13]; patients who were positive underwent a  
148 second test and was confirmed by Western Blot using the methodology described by Wang  
149 *et al.* [14]. Qualitative detection of HCV antibodies in serum was performed using gold  
150 colloid immunochromatography (Advanced Quality Rapid Anti-HCV Test, Acitrack, D.F.,  
151 Mexico), according to manufacturer's instructions. Positive results were confirmed using  
152 the chemiluminescence assay of microparticles in which IgG and IgM antibodies are  
153 detected using the ARCHITECT instrument according to manufacturer instructions [12].

154

### 155 **VPH detection and genotyping**

156 HPV detection was performed by PCR amplifying a highly conserved region of the L1  
157 gene, as previously described [15]. Primers used were MY09 (5'-  
158 CGTCCMAARGGAWACTGATC-3') y MY11 (5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG-  
159 3'). A positive result was indicated by a product of 450 bp. Samples positive for HPV were  
160 genotyped by RFLP assay [16]. The PCR product (10  $\mu$ L) was digested with 1 U of  
161 HpyCH4V restriction enzyme (New England Biolabs, Ipswich, MA).



162

### 163 **Multiplex PCR for detection of pathogens**

164 Detection of *T. vaginalis*, HSV-1, HSV-2, *M. genitalium*, *N. gonorrhoeae* and *T. pallidum*  
165 were performed using a multiplex PCR reported previously [17]. The final volume (25 uL)  
166 of PCR reaction consisted of 2.5 uL of 10X PCR-buffer, 100 ng of DNA, 3 mM MgCl<sub>2</sub>,  
167 200 uM of each dNTP, and 1 U of Taq polymerase (Bioline, London, UK). Primers used  
168 are shown in Table 1. The conditions of amplification began with an initial denaturation  
169 step of 10 min at 94 ° C; followed by 35 cycles of 1 min, denaturation at 94 ° C, 1 min at 62  
170 ° C, and 1 min 72 ° C; and at the end of the 35 cycle a final extension of 10 min at 72 ° C.

171

### 172 **Statistical analysis**

173 The qualitative variables were summarized by calculating absolute frequency expressed in  
174 percentages. Two by two tables were used to assess the possible association between a risk  
175 factor “exposure” and a result “infection.” Statistics tests included Fisher exact, chi-square.  
176 Odds ratio with confidence intervals were calculated.

177

## 178 **RESULTS**

### 179 **Study population**

180 From 30,000 female patients estimated to visit the obstetrics and gynecology department,  
181 662 patients were enrolled in this study. Only patients who agreed to participate and were  
182 attending the clinic for the first time were included. The mean age of the study population  
183 was 31 years (14 to 78 years). The largest proportion of patients was aged 20–29 years  
184 (38.5%, *n* = 255). The majority of patients were homemakers 69.5% (*n* = 460).

185 At the time of sampling, 43.3% ( $n = 287$ ) of patients were pregnant; most of the patients  
186 (93.8%  $n = 621$ ) had been pregnant at some point in their lives either before or during the  
187 sampling.

188

### 189 **Bacterial culture**

190 In 53% ( $n = 336$ ) of patients there was no normal microbiota. Twenty-eight species were  
191 detected in the bacterial culture: *Enterococcus faecalis* (33.9%,  $n = 225$ ); followed by  
192 *Candida albicans* (23.4%,  $n = 155$ ) and *Escherichia coli* (19%,  $n = 126$ ); *Acinetobacter*  
193 *baumannii*, *Citrobacter freundii*, *Citrobacter diversus*, *Elizabethkingia meningoseptica*,  
194 *Enterobacter aerogenes*, *Flavimonas oryzihabitans*, *Klebsiella oxytoca*, *Morganella*  
195 *morganii*, *Providencia rettgeri*, *Staphylococcus saprophyticus* and *Streptococcus pyogenes*  
196 (1% each). *N. gonorrhoeae* was not detected.

197

### 198 **Detection of pathogens by PCR and by serology**

199 The overall frequency of STI observed in the study population was 47.4%. Of the total  
200 study population, 2.26% ( $n = 15$ ) had IgG and IgM antibodies against *T. pallidum* (7 of  
201 them were pregnant) and 1.05% ( $n = 7$ ) was positive by the multiplex-PCR (two of them  
202 were pregnant) for *T. pallidum*. *N. gonorrhoeae* was detected in 2.11% ( $n = 14$ ) patients by  
203 the multiplex PCR (none was positive by culture).

204 HPV was detected in 13.9% ( $n = 92$ ) of patients. According to the results of genotyping by  
205 RFLP, the HPV genotype 16 was the most frequently detected (33.7%,  $n = 31$ ), followed  
206 by 31 (15.2%,  $n = 14$ ), 45 (14.1%,  $n = 13$ ), 66 (12%,  $n = 11$ ) and 58 (10.9%,  $n = 10$ ).

207 Genotypes detected are shown in Table 2.

208 HIV was detected in 0.8% ( $n = 45$ ) patients by ELISA and all were confirmed by Western  
209 blot. Only one patient (0.15%) was positive (IgG antibodies) for HCV and this result was  
210 confirmed by the chemiluminescence assay.  
211 Of the total population studied, 8.5% ( $n = 56$ ) was positive for HSV type 1 by amplifying  
212 the glycoprotein G (US4) gene; and 1.8% ( $n = 12$ ) were positive for HSV type 2 by  
213 amplifying the glycoprotein D (US6) gene. Furthermore, 14.2 % ( $n = 94$ ) were positive for  
214 *T. vaginalis* by PCR. *M. genitalium* was detected in 2.41% ( $n = 14$ ) of the study population.

215

216 **Association of sexually transmitted pathogens with socio-demographic, behavioral,**  
217 **and biological factors and co-infections**

218 Patients of age 14-19 years were less frequently HIV-infected and in contrast, patients in  
219 the age range 20-29 years or divorced/widowed/separated were more likely HIV infected.  
220 Patients with a 0-1 sexual partner had a lower risk of being HIV-infected, and patients with  
221  $\geq 5$  sexual partners were more likely HIV infected. The same observation was detected for  
222 HPV (Table 3).

223 The infection of HSV-2 correlated with bilateral tubal occlusion as a contraceptive method  
224 ( $p = 0.005$ ) and the presence of pelvic inflammatory disease as a complication of previous  
225 pregnancies ( $p = 0.032$ ).

226 HIV-infected patients were more likely to be co-infected with HPV ( $p = 0.01$ ) and patients  
227 infected with HSV-1 were more likely to be coinfecting with *T. pallidum* ( $p = 0.02$ ), *M.*  
228 *genitalium*, *T. vaginalis* and *N. gonorrhoeae* ( $p = 0.01$  for all); unlike patients infected with  
229 HSV-2, which were more likely to be co-infected only with *M. genitalium* ( $p = 0.01$ ).

230 Finally, patients infected with *T. vaginalis* were more likely to have multiple co-infections:  
231 HPV ( $p = 0.01$ ), HIV ( $p = 0.02$ ), *T. pallidum* ( $p = 0.01$ ), *M. genitalium* ( $p = 0.02$ ) and HSV-  
232 1 ( $p = 0.01$ ) (Table 3).

233

## 234 **DISCUSSION**

235 Most studies regarding the STIs in Mexico have been limited to the assessment of  
236 individual pathogens and populations with clinical symptoms of the disease or high-risk  
237 behaviors [18-20]. This study was performed in women attending gynecology and  
238 obstetrics clinics for routine testing; we determined the frequency of nine pathogens as well  
239 as the frequency of co-infections and analyzed the correlation with some behavioral and  
240 biological factors.

241 The overall frequency of STI observed in the study population was 47.4% ( $n = 314$ ) which  
242 is similar to another study in Korea, which included 799 healthy women. In the Korean  
243 study, 49.2% of the population had one or more STI [21]. However, compared to other  
244 studies; the frequency reported in our study was higher; for example, in a previous study of  
245 a Paraguayan population that included 181 sexually active women, the frequency of STI  
246 was 41.4% [22]. Furthermore, a study of 734 Brazilian women detected a frequency of  
247 19.6% [23].

248 Other reports show a higher frequency than ours; in a study by McKechnie in 216 women  
249 who attended three sexual health clinics in Sydney, Australia, the 77.7% had at least one  
250 microorganism associated with STIs [24]; this population attended the clinic by discomfort  
251 related to STIs, unlike our study patients who were routine medical consultation.

252 A report that included 201 Mexican women showed a frequency of 57.7% of STI [25]. This  
253 data is superior to ours.

254

255 In Mexico studies regarding the detection of *T. pallidum* focused primarily on risk groups.

256 The study by Conde-González *et al.* detected a prevalence of *T. pallidum* antibodies of

257 2.66% in women, which is similar to our result (2.26%) [26].

258 Early detection of syphilis during pregnancy is essential for the health of the mother and

259 fetus, allowing instauration of treatment promptly. In our study, seven pregnant patients

260 had IgG and IgM antibodies, and two were positive by PCR. This frequency in pregnant

261 patients is lower than previously reported in our country [27].

262 The two methodologies (antibodies and PCR) to detect *T. pallidum* originated two values.

263 This difference could be a result of the window period of infection, which lasts

264 approximately three weeks.

265 The WHO estimates a prevalence of 0.8% of gonorrhea among women in America [28];

266 and according to the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) the

267 frequency of gonorrhea among women 15-39 years is 0.32% [29], comparing with data

268 these reports, the frequency of 2.11% detected in our patients is high. In contrast, a

269 frequency of *N. gonorrhoeae* of 4.1% was detected when the same methodology we used

270 here (sensitivity and specificity reported by 100%) [17]. The differences reported may be

271 explained by the different methodologies used to detect the bacteria [30]. In fact, we did not

272 detect *N. gonorrhoeae* by culture. In a study by Mendoza *et al.*, the presence of this species

273 was not detected; this might be due because the identification was made by microbiological

274 culture, which is a less sensitive technique [22].

275

276 *M. genitalium* is detected more often in people with risk factors, reaching percentages from  
277 20 to 40% among sex workers [31]. The prevalence of *M. genitalium* infections reported in  
278 the general population varies from 1-10% in most populations [32], but significant  
279 differences are reported worldwide. For example, a frequency of 39% was reported for *M.*  
280 *genitalium* in women attending an STD clinic in Paris [33], a 6% was reported in women  
281 attending a clinic for STD in Orebro, Sweden [34], a 2.4% in women attending a primary  
282 care clinic in Australia [35], a 0.9% in Brazil [36] and a 0.5% in Mexico [25]. These  
283 differences underline the relevance of study the frequency of this opportunistic pathogen in  
284 different populations.

285

286 Two Mexican studies showed frequencies of 33.8% [37] and 18.4% [25] for HPV. Both  
287 reports showed higher frequencies than ours. A third Mexican report showed a frequency of  
288 9.1% [38]. All reports used different methodologies and studied different populations.

289 These factors may explain the different frequencies observed.

290

291 The genotype most frequently detected in our study was type 16, which is the most  
292 common genotype found in healthy women worldwide [39]. Our results are in agreement  
293 with WHO which reports that the most common genotypes in our region are types 16 and  
294 31. Several studies have reported that type 58 is the most common genotype in the  
295 southern regions of Mexico, with a prevalence of 55.9% [40]; the frequency of this  
296 genotype was lower in our population with a frequency of 10.9%. Genotype 52 is  
297 considered to be the most common type in some regions of East Africa, Taiwan, and Italy,  
298 and has been associated with immigrant populations [41]; in our population this genotype  
299 was reported in 8.7% of the population, this is the sixth in frequency among the high-risk

300 genotypes. In our study, the genotype 18 was detected in only one patient, representing  
301 1.1% of an HPV-positive population; The small prevalence of the 18-genotype was  
302 previously reported for the Mexican population [25]. This is important because genotype 18  
303 is associated with more aggressive behavior and is detected mainly in high-grade lesions  
304 [42]. This low frequency may be associated with the administration of the HPV vaccine in  
305 Mexico that includes genotypes 6, 11, 16 and 18.

306 Recently, the FDA approved the vaccine Gardasil 9, which has the potential to prevent  
307 about 90% of injuries in the cervix, vulva, vagina and anus related to genotypes 16, 18, 31,  
308 33, 45, 52 and 58 and for the prevention of genital warts associated with genotypes 6 or 11.  
309 These genotypes were detected more frequently in our study, with frequencies: 33.7% for  
310 16, 15.2% for 31, 9.8% for 33, 14.1% for 45, 8.7% for 52, 10.9% for 58 and 30.4% for 6.  
311 The administration of this vaccine in our country may have a substantial impact in reducing  
312 incidence rates of cervical cancer in women.

313 The frequency of HIV reported in our population was 6.8%; this rate is very high compared  
314 with the world population and in our region. The WHO in 2013 estimated an overall  
315 prevalence of 0.8% of the adult population in Latin America and this data seems to indicate  
316 a stabilization of the epidemic [43]. The high HIV prevalence found in our study may be  
317 due to specific patients who attend to the gynecology clinic of the Civil Hospital of  
318 Guadalajara, since there are collaborations with several institutions supporting women  
319 infected with this virus; this may be a bias in our population. From data until September 30,  
320 2014, 80.2% of HIV cases are men and 19.8% women, which means a ratio of 4:1. By age,  
321 2.1% occurred in children under 15 years of age; 33.5% in 15- to 29; 63.8% of adults 30  
322 and older; and 0.6% age are unknown; these results are similar to those found in our study.

323 In this study, patients with five or more five sexual partners were more likely to be HIV or  
324 HPV infected. Several studies have consistently shown that the risk of HPV and HIV  
325 infection increase with the number of sexual partners [44-46].

326

## 327 **CONCLUSION**

328 This is the largest molecular epidemiological study of the frequency of STIs in Mexico and  
329 its association with various risk factors. The frequency of HCV, HPV, VHS -1, VHS -2, *M.*  
330 *genitalium* and *T. vaginalis* was lower than that reported worldwide. A high frequency of  
331 HIV was detected *T. pallidum*, and *N. gonorrhoeae* in this study. The HPV genotype most  
332 frequently detected were types 16 and 6. Patients infected with *T. vaginalis* are more likely  
333 to have multiple co-infections. ( $p < 0.05$ ). The most common microorganism found in  
334 samples was *E. faecalis*.

335

## 336 **List of abbreviations**

337 **2-SP:** 2-sucrose phosphate medium

338 **CI:** Confidence interval

339 **dNTP:** Deoxynucleotide triphosphate

340 **ELISA:** Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

341 **HBV:** Hepatitis B virus

342 **HCV:** Hepatitis C virus

343 **HIV:** Human immunodeficiency virus

344 **HPV:** Papilloma virus human

345 **HSV-1:** Herpes simplex virus type 1 and type 2



346 **HSV-2:** Herpes simplex virus type 2  
347 **IUD:** Intrauterine device  
348 **NHANES:** National Health and Nutrition Examination Survey  
349 **OR:** Odds ratio  
350 **PCR:** Polymerase chain reaction  
351 **PID:** Pelvic inflammatory disease  
352 **RFLP:** Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis  
353 **STI:** Sexually transmitted infection  
354 **WHO:** World Health Organization

355

## 356 **Competing interests**

357 The authors declare that they have no competing interests.

358

## 359 **Authors' contributions**

360 NCV conceived of the study, participated in the design of the study, carried out the  
361 serology and molecular studies, performed the statistical analysis and drafted the  
362 manuscript. RMO conceived of the study, participated in its design and coordination of the  
363 study, interpretation of data clinical and drafted the manuscript. SG conceived of the study,  
364 and participated in its design, coordination of the study and revised the manuscript. JLD  
365 coordination of the study and participated in serology methods. ERN conceived of the  
366 study, and participated in its design and coordination of the study. ACO participated in the  
367 study design and revised the manuscript. MMAC conducted taking the samples, performed  
368 the medical records. SMO participated in the molecular studies. SFT participated in the

369 molecular studies and revised the manuscript. SPM performed the medical records. HJMG  
370 conceived of the study and revised the manuscript. FJBP participated in the design of the  
371 study. EGG conceived of the study, participated in its design and coordination of the study,  
372 performed the statistical analysis and drafted the manuscript.  
373 All authors read and approved the final manuscript.

374

## 375 **Acknowledgements**

376 The authors would like to thank the study participants and our research team Acevedo-  
377 Duarte L, González-Guzmán M, Martínez-Macías SK, Jiménez-Gutiérrez C, Carbajal-  
378 Rimoldi A. for all his contributions in the research.

379

## 380 **References**

- 381 1. Kenyon CR, Osbak K, Buyze J (2014) The Prevalence of HIV by Ethnic Group Is  
382 Correlated with HSV-2 and Syphilis Prevalence in Kenya, South Africa, the  
383 United Kingdom, and the United States. *Interdisciplinary perspectives on*  
384 *infectious diseases* 2014: 284317.
- 385 2. Jackson JM, Seth P, DiClemente RJ, Lin A (2015) Association of Depressive  
386 Symptoms and Substance Use With Risky Sexual Behavior and Sexually  
387 Transmitted Infections Among African American Female Adolescents Seeking  
388 Sexual Health Care. *American journal of public health*: e1-e6.
- 389 3. Figueroa JP, Cooper CJ, Edwards JK, Byfield L, Eastman S, et al. (2015)  
390 Understanding the high prevalence of HIV and other sexually transmitted  
391 infections among socio-economically vulnerable men who have sex with men  
392 in Jamaica. *PloS one* 10: e0117686.
- 393 4. Marschalko M, Ponyai K, Karpati S (2015) [Sexually transmitted coinfections. HIV  
394 coinfections]. *Orvosi hetilap* 156: 4-9.
- 395 5. Mabey DC, Sollis KA, Kelly HA, Benzaken AS, Bitarakwate E, et al. (2012) Point-of-  
396 care tests to strengthen health systems and save newborn lives: the case of  
397 syphilis. *PLoS medicine* 9: e1001233.
- 398 6. Wagner M, Bennetts L, Patel H, Welner S, de Sanjose S, et al. (2015) Global  
399 availability of data on HPV genotype-distribution in cervical, vulvar and vaginal  
400 disease and genotype-specific prevalence and incidence of HPV infection in  
401 females. *Infectious agents and cancer* 10: 13.

- 402 7. Trigg BG, Kerndt PR, Aynalem G (2008) Sexually transmitted infections and pelvic  
403 inflammatory disease in women. *The Medical clinics of North America* 92:  
404 1083-1113, x.
- 405 8. Nunez-Forero L, Moyano-Ariza L, Gaitan-Duarte H, Angel-Muller E, Ruiz-Parra A, et  
406 al. (2015) Diagnostic accuracy of rapid tests for sexually transmitted infections  
407 in symptomatic women. *Sexually transmitted infections*.
- 408 9. Robson L, Morris J, Andriatsihosena M (2015) Barriers to preventing unintended  
409 pregnancies and sexually transmitted infections as experienced by women in  
410 Fort Dauphin, southeast Madagascar. *The European journal of contraception &*  
411 *reproductive health care : the official journal of the European Society of*  
412 *Contraception*: 1-12.
- 413 10. Secretaría de Salud (2004) Manual para Capacitadores en el Manejo Sindromático  
414 de las Infecciones de Transmisión Sexual. 2nd ed. Mexico.
- 415 11. Lagier JC, Edouard S, Pagnier I, Mediannikov O, Drancourt M, et al. (2015) Current  
416 and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clinical*  
417 *microbiology reviews* 28: 208-236.
- 418 12. Young H, Pryde J, Duncan L, Dave J (2009) The Architect Syphilis assay for  
419 antibodies to *Treponema pallidum*: an automated screening assay with high  
420 sensitivity in primary syphilis. *Sexually transmitted infections* 85: 19-23.
- 421 13. Rikhtegaran Tehrani Z, Azadmanesh K, Mostafavi E, Soori S, Azizi M, et al. (2015)  
422 Development of an integrase-based ELISA for specific diagnosis of individuals  
423 infected with HIV. *Journal of virological methods* 215-216: 61-66.
- 424 14. Wang JB, Zhang N, Yu HY, Li YL, Duan X, et al. (2013) [Study on the role of western  
425 blot band profile for the detection of recent HIV infection]. *Zhonghua liu xing*  
426 *bing xue za zhi = Zhonghua liuxingbingxue zazhi* 34: 998-1002.
- 427 15. Manos MM, Waldman J, Zhang TY, Greer CE, Eichinger G, et al. (1994)  
428 Epidemiology and partial nucleotide sequence of four novel genital human  
429 papillomaviruses. *The Journal of infectious diseases* 170: 1096-1099.
- 430 16. Santiago E, Camacho L, Junquera ML, Vazquez F (2006) Full HPV typing by a single  
431 restriction enzyme. *Journal of clinical virology : the official publication of the*  
432 *Pan American Society for Clinical Virology* 37: 38-46.
- 433 17. Gimenes F, Medina FS, Abreu AL, Irie MM, Esquicati IB, et al. (2014) Sensitive  
434 simultaneous detection of seven sexually transmitted agents in semen by  
435 multiplex-PCR and of HPV by single PCR. *PLoS One* 9: e98862.
- 436 18. de Jesus De Haro-Cruz M, Deleon-Rodriguez I, Escobedo-Guerra MR, Lopez-  
437 Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, et al. (2011) Genotyping of *Chlamydia*  
438 *trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women.  
439 *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica* 29: 102-108.
- 440 19. Baltazar Reyes MC, Rivera Rivera L, Cruz Valdez A, Hernandez Giron CA (2005)  
441 [Prevalence of sexually transmitted infections and associated risk factors  
442 among female commercial sex workers in Cuautla, Morelos]. *Ginecologia y*  
443 *obstetricia de Mexico* 73: 36-47.
- 444 20. Gonzalez-Pedraza-Aviles A, Inzunza-Montiel A, Ortiz-Zaragoza C, Ponce-Rosas R,  
445 Irigoyen-Coria A (1997) [A comparison of 2 clinical laboratory methods in the  
446 diagnosis of bacterial vaginosis]. *Atencion primaria / Sociedad Espanola de*  
447 *Medicina de Familia y Comunitaria* 19: 357-360.

- 448 21. Kim Y, Kim J, Lee KA (2014) Prevalence of sexually transmitted infections among  
449 healthy Korean women: implications of multiplex PCR pathogen detection on  
450 antibiotic therapy. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of*  
451 *the Japan Society of Chemotherapy* 20: 74-76.
- 452 22. Mendoza L, Mongelos P, Paez M, Castro A, Rodriguez-Riveros I, et al. (2013)  
453 Human papillomavirus and other genital infections in indigenous women from  
454 Paraguay: a cross-sectional analytical study. *BMC infectious diseases* 13: 531.
- 455 23. Oliveira FA, Lang K, Ehrig V, Heukelbach J, Fraga F, et al. (2008) Risk factors for  
456 sexually transmitted infections in women in rural Northeast Brazil. *Journal of*  
457 *infection in developing countries* 2: 211-217.
- 458 24. McKechnie ML, Hillman RJ, Jones R, Lowe PC, Couldwell DL, et al. (2011) The  
459 prevalence of urogenital micro-organisms detected by a multiplex PCR-reverse  
460 line blot assay in women attending three sexual health clinics in Sydney,  
461 Australia. *Journal of medical microbiology* 60: 1010-1016.
- 462 25. Magana-Contreras M, Contreras-Paredes A, Chavez-Blanco A, Lizano M, Cruz-  
463 Hernandez Y, et al. (2015) Prevalence of sexually transmitted pathogens  
464 associated with HPV infection in cervical samples in a Mexican population.  
465 *Journal of medical virology*.
- 466 26. Conde-González CJ VJ, Juárez-Figueroa LA, Palma O, Olamendi-Portugal M, Olaiz-  
467 Fernández G, Sepúlveda J. (2007) Anti-Treponema pallidum seroprevalence  
468 and sociodemographic characteristics in Mexican adult population, 2000..  
469 *Salud Publica Mex*.
- 470 27. Vazquez-Campuzano R, Galnares-Olalde JA, Blachman-Braun R, Berebichez-  
471 Fridman R (2014) [Twelve years of experience in the diagnosis of syphilis in  
472 Mexico. Period 2001-2012]. *Gaceta medica de Mexico* 150 Suppl 1: 5-10.
- 473 28. Lewis DA, Latif AS, Ndowa F (2007) WHO global strategy for the prevention and  
474 control of sexually transmitted infections: time for action. *Sexually transmitted*  
475 *infections* 83: 508-509.
- 476 29. Munson E, Firmani MA (2009) Molecular diagnosis of Neisseria gonorrhoeae  
477 infection in the United States. *Expert opinion on medical diagnostics* 3: 327-  
478 343.
- 479 30. Muvunyi CM, Dhont N, Verhelst R, Crucitti T, Reijans M, et al. (2011) Evaluation of  
480 a new multiplex polymerase chain reaction assay STDFinder for the  
481 simultaneous detection of 7 sexually transmitted disease pathogens.  
482 *Diagnostic microbiology and infectious disease* 71: 29-37.
- 483 31. Cohen CR, Nosek M, Meier A, Astete SG, Iverson-Cabral S, et al. (2007) Mycoplasma  
484 genitalium infection and persistence in a cohort of female sex workers in  
485 Nairobi, Kenya. *Sexually transmitted diseases* 34: 274-279.
- 486 32. Manhart LE, Holmes KK, Hughes JP, Houston LS, Totten PA (2007) Mycoplasma  
487 genitalium among young adults in the United States: an emerging sexually  
488 transmitted infection. *American journal of public health* 97: 1118-1125.
- 489 33. Casin I, Vexiau-Robert D, De La Salmoniere P, Eche A, Grandry B, et al. (2002) High  
490 prevalence of Mycoplasma genitalium in the lower genitourinary tract of  
491 women attending a sexually transmitted disease clinic in Paris, France.  
492 *Sexually transmitted diseases* 29: 353-359.

- 493 34. Falk L, Fredlund H, Jensen JS (2005) Signs and symptoms of urethritis and  
494 cervicitis among women with or without *Mycoplasma genitalium* or *Chlamydia*  
495 *trachomatis* infection. *Sexually transmitted infections* 81: 73-78.
- 496 35. Walker J, Fairley CK, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Chen MY, et al. (2011) 'The  
497 difference in determinants of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma*  
498 *genitalium* in a sample of young Australian women'. *BMC infectious diseases*  
499 11: 35.
- 500 36. Rodrigues MM, Fernandes PA, Haddad JP, Paiva MC, Souza Mdo C, et al. (2011)  
501 Frequency of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma*  
502 *genitalium*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* species in cervical samples.  
503 *Journal of obstetrics and gynaecology : the journal of the Institute of Obstetrics*  
504 *and Gynaecology* 31: 237-241.
- 505 37. Salcedo M, Pina-Sanchez P, Vallejo-Ruiz V, Monroy-Garcia A, Aguilar-Lemarroy A,  
506 et al. (2014) Human papillomavirus genotypes among females in Mexico: a  
507 study from the mexican institute for social security. *Asian Pacific journal of*  
508 *cancer prevention : APJCP* 15: 10061-10066.
- 509 38. Lopez RV, Levi JE, Eluf-Neto J, Koifman RJ, Koifman S, et al. (2014) Human  
510 papillomavirus (HPV) 16 and the prognosis of head and neck cancer in a  
511 geographical region with a low prevalence of HPV infection. *Cancer causes &*  
512 *control : CCC* 25: 461-471.
- 513 39. Bruni L, Diaz M, Castellsague X, Ferrer E, Bosch FX, et al. (2010) Cervical human  
514 papillomavirus prevalence in 5 continents: a meta-analysis of 1 million women  
515 with normal cytological findings. *The Journal of infectious diseases* 202: 1789-  
516 1799.
- 517 40. Gonzalez-Pedraza A, Ortiz C, Mota R, Davila R, Dickinson E (2003) [Role of bacteria  
518 associated with sexually transmitted infections in the etiology of lower urinary  
519 tract infection in primary care]. *Enfermedades infecciosas y microbiologia*  
520 *clinica* 21: 89-92.
- 521 41. Meloni A, Pilia R, Campagna M, Usai A, Masia G, et al. (2014) Prevalence and  
522 molecular epidemiology of human papillomavirus infection in italian women  
523 with cervical cytological abnormalities. *Journal of public health research* 3:  
524 157.
- 525 42. Lizano M, De la Cruz-Hernandez E, Carrillo-Garcia A, Garcia-Carranca A, Ponce de  
526 Leon-Rosales S, et al. (2006) Distribution of HPV16 and 18 intratypic variants  
527 in normal cytology, intraepithelial lesions, and cervical cancer in a Mexican  
528 population. *Gynecologic oncology* 102: 230-235.
- 529 43. Bennett DS, Traub K, Mace L, Juarascio A, O'Hayer CV (2015) Shame among people  
530 living with HIV: a literature review. *AIDS care*: 1-5.
- 531 44. Townsend L, Zembe Y, Mathews C, Mason-Jones AJ (2013) Estimating HIV  
532 prevalence and HIV-related risk behaviors among heterosexual women who  
533 have multiple sex partners using respondent-driven sampling in a high-risk  
534 community in South Africa. *Journal of acquired immune deficiency syndromes*  
535 62: 457-464.
- 536 45. Dartell M, Rasch V, Munk C, Kahesa C, Mwaiselage J, et al. (2013) Risk factors for  
537 high-risk human papillomavirus detection among HIV-negative and HIV-  
538 positive women from Tanzania. *Sexually transmitted diseases* 40: 737-743.

539 46. Nielsen A, Kjaer SK, Munk C, Iftner T (2008) Type-specific HPV infection and  
540 multiple HPV types: prevalence and risk factor profile in nearly 12,000 younger  
541 and older Danish women. Sexually transmitted diseases 35: 276-282.

542

543

544

545

546

547

548

549

550

551

552

553

554

555

556

557

558

559

560

561

562

563

564 **Table 1.** Primers used in multiple PCR.

<b>Specie</b>	<b>Primers</b>	<b>Sequence (5'-3')</b>	<b>Product (bp)</b>
<i>T. pallidum</i>	TP F	GGAGAAGTTTCAC TTCGTGGA	291
	TP R	CTCGCGTCATCACCGTAGTA	
HSV-2	HSV-2 F	CATGGGGCGTTTGACCTC	249
	HSV-2 R	TACACAGTGATCGGGATGCT	
<i>M. genitalium</i>	MG F	ACCTTGATGGTCAGCAAAACTT	193
	MG R	CCTTTGATCTCATTCCAATCAGTA	
<i>T. vaginalis</i>	TV F	CCAGAAGTGGGCTACACACC	170
	TV R	ATACCAAGGCCGGAAGCAC	
<i>N. gonorrhoeae</i>	NG F	CGGCAGCATTCAATTTGTT	162
	NG R	AAAAAGCCGCCATTTTTGTA	
HSV-1	HSV-1 F	CTGTGGTGTTTTTGGCATCA	123

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576

577

578

579 **Table 2.** Frequency of HPV genotype detected in the studied population

Risk	Genotype	N	%
High	16	31	33.7
	18, 51, 73	1	1.1
	31	14	15.2
	33	9	9.8
	35, 39, 53, 82	2	2.2
	45	13	14.1
	52	8	8.7
	58	10	10.9
	59	6	6.5
	66	11	12.0
Low	6	28	30.4
	11, 43, 61, 81	2	2.2
	13	7	7.6
	30, 42, 54, 72, 74, 84, 91	1	1.1
	40, 69	3	3.3
	62, 64	16	17.4
	70	7	7.6
	Indeterminate	26	1



**Table 3.** Associations of sexually transmitted pathogens with socio-demographic, behavioral, and biological characteristics of the study population and co-infections.

Characteristics	Total positive population		<i>T. pallidum</i> positive by serology			HIV positive by serology			HPV positive	
	[n (%), n = 662]	[n (%), n = 15]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 45]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 92]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)
<b>Socio-demographic data</b>										
Age group (years)										
14 – 19	93 (14.05)	2 (13.33)	0.93	0.94 (0.20, 4.23)	0 (0)			12 (13.04)	0.76	0.91 (0.47, 1.73)
20 – 29	255 (38.52)	5 (33.33)	0.67	0.79 (0.26, 2.35)	6 (13.33)	0	0.22 (0.09, 0.54)	32 (34.78)	0.42	0.83 (0.52, 1.31)
30 – 39	186 (28.10)	4 (26.67)	0.9	0.92 (0.29, 2.95)	23 (51.11)	0	2.91 (1.58, 5.36)	32 (34.78)	0.12	1.44 (0.90, 2.29)
≥ 40	129 (19.49)	4 (26.67)	0.46	1.53 (0.48, 4.89)	16 (35.56)	0	2.48 (1.30, 4.73)	16 (17.39)	0.61	0.86 (0.48, 1.53)
<b>Occupation</b>										
Housewife	460 (69.49)	9 (60.00)	0.41	0.64 (0.22, 1.84)	30 (66.67)	0.65	0.86 (0.45, 1.64)	66 (71.74)	0.63	1.13 (0.69, 1.83)
Employee / Merchant	106 (16.01)	4 (26.67)	0.24	1.96 (0.61, 6.29)	14 (31.11)	0	2.61 (1.33, 5.09)	17 (18.48)	0.45	1.24 (0.70, 2.20)
Professional	63 (9.52)	1 (6.67)	0.7	0.67 (0.08, 5.21)	0 (0)	0.02		5 (5.43)	0.15	0.51 (0.19, 1.30)
Student	33 (4.98)	1 (6.67)	7.62	1.37 (0.17, 10.76)	1 (2.22)	0.37	0.41 (0.05, 3.11)	4 (4.35)	0.76	0.85 (0.29, 2.47)
<b>Marital status</b>										
Single	140 (21.15)	0 (0)	0.24		17 (37.78)	0.01	2.43 (1.29, 4.59)	25 (27.17)	0.12	1.47 (0.89, 2.44)
Divorced/Widowed/Separated	22 (3.32)	5 (33.33)	0.46		7 (15.56)	0	7.39 (2.84, 19.21)	4 (4.35)	0.55	1.39 (0.46, 4.21)
Married	238 (35.95)	5 (33.33)	0.83	0.88 (0.30, 2.63)	7 (15.56)	0	0.30 (0.13, 0.70)	27 (29.35)	0.15	0.71 (0.43, 1.14)
Living with partner	262 (39.58)	5 (33.33)	0.61	0.75 (0.25, 2.24)	14 (31.11)	0.22	0.67 (0.35, 1.28)	36 (39.13)	0.92	0.98 (0.62, 1.53)
<b>Behavioral data</b>										
Age at first intercourse (years)										
< 16 years	140 (21.15)	3 (20)	0.91	0.93 (0.25, 3.34)	14 (31.11)	0.09	1.76 (0.90, 3.40)	25 (27.17)	0.12	1.47 (0.89, 2.44)
≥ 16 years	522 (78.85)	12 (80)	0.91	1.07 (0.29, 3.86)	31 (68.89)	0.09	0.65 (0.29, 1.10)	67 (72.83)	0.12	0.68 (0.04, 1.12)
<b>No. of previous sex partners</b>										
0-1	318 (48.04)	9 (60)	0.34	1.64 (0.57, 4.66)	11 (24.44)	0.001	0.32 (0.16, 0.65)	36 (39.13)	0.06	0.66 (0.41, 1.02)
2 – 4	279 (42.15)	6 (40)	0.86	0.91 (0.32, 2.59)	23 (51.11)	0.2	1.47 (0.80, 2.70)	40 (43.48)	0.76	1.07 (0.68, 1.66)
≥ 5	65 (9.82)	0 (0)	0.19		11 (24.44)	0.001	3.37 (1.61, 7.03)	16 (17.39)	0.009	2.23 (1.21, 4.13)
<b>Contraceptive methods</b>										
Hormonal	102 (15.41)	0 (0)	0.09		4 (8.89)	0.21	0.51 (0.18, 1.47)	13 (14.13)	0.71	0.89 (0.47, 1.66)
Condom	249 (37.61)	7 (46.67)	0.46	1.46 (0.52, 4.08)	4 (8.89)	0.32	1.35 (0.73, 2.49)	39 (42.39)	0.3	1.26 (0.80, 1.97)
IUD	67 (10.12)	1 (6.67)	0.65	0.629 (0.08, 4.85)	20 (44.44)	0.77	0.85 (0.29, 2.47)	13 (14.13)	0.16	1.57 (0.82, 3.01)
Bilateral tubal occlusion	40 (6.04)	0 (0)	0.32		4 (8.89)	0.4	1.57 (0.53, 4.63)	4 (4.35)	0.46	0.67 (0.23, 1.94)
None	204 (30.82)	7 (46.67)	0.17	1.99 (0.71, 5.58)	13 (28.89)	0.77	0.90 (0.46, 1.76)	23 (25)	0.19	0.72 (0.43, 1.18)
Alcohol use	145 (21.90)	1 (6.67)	0.14	0.25 (0.03, 1.91)	11 (24.44)	0.66	1.16 (0.57, 2.36)	23 (25)	0.43	1.24 (0.73, 2.04)
Current smoker	200 (30.21)	3 (20.00)	0.38	0.57 (0.15, 2.04)	14 (0.02)	0.89	1.04 (0.54, 2.01)	33 (1.62)	0.2	
<b>Biological factors</b>										
Pregnant a sampling	287 (43.35)	7 (46.67)	0.79	1.14 (0.41, 3.20)	1 (2.22)	0	0.02 (0.004, 0.19)	39 (42.39)	0.84	0.96 (0.61, 1.49)
Previous pregnancies	621 (93.81)	13 (86.67)	0.26	0.42 (0.09, 1.96)	44 (97.78)	0.24	3.13 (0.42, 23.31)	88 (95.65)	0.39	1.57 (0.54, 4.51)
<b>Complications of previous pregnancy</b>										
Infections	386 (58.31)	7 (46.67)	0.35	0.61 (0.22, 1.72)	19 (42.22)	0.02	0.49 (0.27, 0.91)	5 (5.43)	0.7	0.92 (0.58, 1.43)
Bleeding	69 (10.42)	0 (0)	0.18		4 (8.89)	0.72	0.82 (0.28, 2.38)	5 (5.43)	0.09	0.45 (0.17, 1.61)
Risk of spontaneous abortion	116 (17.52)	1 (6.67)	0.99		8 (17.78)	0.96	1.01 (0.42, 2.23)	22 (23.91)	0.08	1.59 (0.93, 2.69)
Premature birth	50 (7.55)	0 (0)	0.26	0.33 (0.04, 2.53)	1 (2.22)	0.16	0.26 (0.03, 1.95)	9 (9.78)	0.383	1.39 (0.65, 2.98)
Ectopic pregnancy	9 (1.36)	0 (0)	0.64		0 (0)	0.41		0 (0)	0.22	
Previous abortions	163 (24.62)	3 (20)	0.99		12 (26.67)	0.02		25 (27.17)	0.35	
Pelvic inflammatory disease	295 (44.56)	1 (6.67)	0.86	1.09 (0.39, 3.03)	21 (46.67)	0.76	1.09 (0.59, 2.00)	41 (44.57)	0.99	1 (0.64, 1.55)
<b>Co-infections</b>										
HPV (PCR)	92 (13.90)	3 (20)	0.48		11 (24.44)	0.034	2.14 (1.04, 4.39)			
HIV (Serology)	45 (6.80)	1 (6.67)	0.98	0.97 (0.12, 7.61)				11 (11.96)	4.48	2.14 (1.04, 4.39)
<i>T. pallidum</i> (Serology)	15 (2.27)		0.01		1 (2.22)	0.98	0.97 (0.12, 7.61)	3 (3.26)	0.48	1.56 (0.43, 5.66)
<i>T. pallidum</i> (PCR)	7 (1.06)	3 (20)	0	40 (8.09, 199.48)	1 (2.22)	0.42	2.31 (0.27, 19.65)	3 (3.26)	0.02	4.77 (1.05, 21.66)
HSV-2 (PCR)	12 (1.81)	1 (6.67)	0.15	4.13 (0.49, 34.21)	0 (0)	0.345		2 (2.17)	0.78	1.24 (0.26, 5.77)
<i>M. genitalium</i> (PCR)	16 (2.42)	0 (0)	0.53		2 (4.44)	0.35	2 (0.44, 9.10)	1 (1.09)	0.37	0.41 (0.05, 3.11)
<i>T. vaginalis</i> (PCR)	94 (14.20)	4 (26.67)	0.162	2.25 (0.70, 7.22)	3 (6.67)	0.13	0.41 (0.12, 1.36)	25 (27.17)	0	2.7 (1.60, 4.57)
<i>N. gonorrhoeae</i> (PCR)	14 (2.11)	0 (0)	0.56		2 (4.44)	0.26	2.34 (0.50, 10.81)	2 (2.17)	0.96	1.03 (0.22, 4.69)
HSV-1 (PCR)	56 (8.46)	1 (6.67)	0.8	0.76 (0.99, 5.95)	2 (4.44)	0.31	0.48 (0.11, 2.05)	10 (10.87)	0.37	1.38 (0.67, 2.86)

**Table 3 cont.** Associations of sexually transmitted pathogens with socio-demographic, behavioral, and biological characteristics of the study population and co-infections.

Characteristics	Total positive population		<i>T. vaginalis</i> positive by PCR		HVS-1 positive by PCR			HVS-2 positive by PCR		
	[n (%), n = 662]	[n (%), n = 94]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 56]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 12]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)
<b>Socio-demographic data</b>										
Age group (years)										
14 – 19	93 (14.05)	14 (14.89)	0.79	1.08 (0.58, 2.00)	9 (16.07)	0.64	1.19 (0.56, 2.51)	0 (0)	0.15	
20 – 29	255 (38.52)	40 (42.55)	0.38	1.21 (0.78, 1.89)	22 (39.29)	0.9	1.03 (0.59, 1.81)	3 (25)	0.33	0.52 (0.14, 1.96)
30 – 39	186 (28.10)	25 (26.60)	0.72	0.91 (0.56, 1.49)	17 (30.36)	0.69	1.12 (0.62, 2.04)	5 (41.67)	0.29	1.85 (0.58, 5.90)
≥ 40	129 (19.49)	15 (15.96)	0.8	0.76 (0.42, 1.37)	8 (14.29)	0.31	0.67 (0.31, 1.46)	4 (33.33)	0.21	2.12 (0.62, 7.15)
<b>Occupation</b>										
Housewife	460 (69.49)	65 (69.15)	0.91	0.97 (0.60, 1.56)	43 (76.79)	0.22	1.48 (0.78, 2.83)	8 (66.67)	0.82	0.87 (0.25, 2.92)
Employee / Merchant	106 (16.01)	18 (19.15)	0.34	1.3 (0.74, 2.29)	4 (7.14)	0.06	0.38 (0.13, 1.08)	4 (33.33)	0.09	2.71 (0.80, 9.19)
Professional	63 (9.52)	6 (6.38)	0.26	0.61 (0.25, 1.46)	5 (8.93)	0.87	0.92 (0.35, 2.41)	0 (0)	0.25	
Student	33 (4.98)	5 (5.32)	0.87	1.08 (0.40, 2.88)	4 (7.14)	0.43	1.53 (0.51, 4.52)	0 (0)	0.42	
<b>Marital status</b>										
Single	140 (21.15)	18 (19.15)	0.6	0.86 (0.49, 1.50)	9 (16.07)	0.33	0.69 (0.33, 1.45)	2 (16.67)	0.7	0.74 (0.16, 3.42)
Divorced/Widowed/Separated	22 (3.32)	2 (2.13)	0.48	0.59 (0.13, 2.59)	2 (3.57)	0.91	1.08 (0.24, 4.76)	1 (8.33)	0.32	2.72 (0.33, 22.07)
Married	238 (35.95)	30 (31.91)	3.79	0.811 (0.50, 1.29)	22 (39.29)	0.58	1.16 (0.66, 2.04)	7 (58.33)	0.1	2.53 (0.79, 8.09)
Living with partner	262 (39.58)	44 (46.81)	0.12	1.41 (0.91, 2.19)	23 (41.07)	0.81	1.07 (0.61, 1.86)	2 (16.67)	0.1	0.3 (0.07, 1.38)
<b>Behavioral data</b>										
Age at first intercourse (years)										
< 16 years	140 (21.15)	17 (18.09)	0.43	0.79 (0.45, 1.40)	11 (19.64)	0.77	0.90 (0.45, 1.79)	2 (16.67)	0.7	0.74 (0.16, 3.42)
≥ 16 years	522 (78.85)	77 (81.91)	0.43	1.25 (0.71, 2.19)	45 (80.36)	0.77	1.10 (0.556, 2.220)	10 (83.33)	0.7	1.34 (0.29, 6.22)
<b>No. of previous sex partners</b>										
0-1	318 (48.04)	43 (45.74)	0.63	0.89 (0.58, 1.39)	30 (53.57)	0.38	1.27 (0.73, 2.20)	5 (41.67)	0.65	0.76 (0.242, 2.44)
2 – 4	279 (42.15)	41 (43.62)	0.755	1.07 (0.69, 1.66)	20 (35.71)	0.3	0.74 (0.42, 1.31)	6 (50)	0.57	1.38 (0.44, 4.32)
≥ 5	65 (9.82)	10 (10.64)	0.73	1.1 (0.54, 2.26)	6 (10.71)	0.81	1.11 (0.45, 2.70)	1 (8.33)	0.86	0.83 (0.10, 6.55)
<b>Contraceptive methods</b>										
Hormonal	102 (15.41)	20 (21.28)	0.08	1.6 (0.92, 2.76)	9 (16.07)	0.88	1.05 (0.50, 2.22)	3 (25)	0.35	1.85 (0.49, 6.97)
Condom	249 (37.61)	33 (35.11)	0.58	0.88 (0.55, 1.39)	25 (44.64)	0.25	1.37 (0.79, 2.38)	5 (41.67)	0.77	1.18 (0.37, 3.78)
IUD	67 (10.12)	13 (13.83)	0.19	1.52 (0.79, 2.92)	6 (10.71)	0.87	1.07 (0.44, 2.60)	0 (0)	0.24	
Bilateral tubal occlusion	40 (6.04)	4 (4.26)	0.43	0.65 (0.22, 1.89)	2 (3.57)	0.41	0.55 (0.13, 2.35)	3 (25)	0.005	5.52 (1.43, 21.26)
None	204 (30.82)	24 (25.53)	0.23	0.73 (0.45, 1.21)	14 (25)	0.32	0.73 (0.38, 1.36)	1 (8.33)	0.08	0.2 (0.02, 1.56)
Alcohol use	145 (21.90)	25 (26.60)	0.235	1.35 (0.820, 2.23)	9 (16.07)	0.27	0.66 (0.31, 1.38)	1 (8.33)	0.25	0.31 (0.04, 2.49)
Current smoker	200 (30.21)	27 (28.72)	0.73	0.92 (0.56, 1.48)	11 (19.64)	0.07	0.53 (0.27, 1.06)	4 (33.33)	0.81	1.15 (0.34, 3.89)
<b>Biological factors</b>										
Pregnant at sampling	287 (43.35)	51 (54.26)	0.02	1.66 (1.07, 2.58)	28 (50)	0.29	1.34 (0.77, 2.31)	3 (25)	0.19	0.43 (0.11, 1.60)
Previous pregnancies	621 (93.81)	87 (92.55)	0.63	0.81 (0.35, 1.89)	52 (92.86)	0.79	0.87 (0.29, 2.53)	12 (100)	0.36	
<b>Complications of previous pregnancy</b>										
Infections	386 (58.31)	54 (57.45)	0.85	0.96 (0.61, 1.49)	33 (58.93)	0.92	1.02 (0.59, 1.74)	6 (50)	0.55	0.71 (0.22, 2.22)
Bleeding	69 (10.42)	5 (5.32)	0.08	0.44 (0.17, 1.13)	6 (10.71)	0.94	1.03 (0.42, 2.50)	0 (0)	0.23	
Risk of spontaneous abortion	116 (17.52)	14 (14.89)	0.46	0.8 (0.43, 1.46)	7 (12.50)	0.3	0.65 (0.28, 1.47)	3 (25)	0.49	1.58 (0.42, 5.94)
Premature birth	50 (7.55)	7 (7.45)	0.96	0.982 (0.428, 2.25)	8 (14.29)	0.04	2.23 (0.1, 5.03)	1 (8.33)	0.91	1.11 (0.14, 8.81)
Ectopic pregnancy	9 (1.36)	2 (2.13)	0.48	1.74 (0.35, 8.51)	2 (3.57)	0.13	3.16 (0.64, 15.63)	0 (0)	0.68	
Previous abortions	163 (24.62)	18 (19.15)	0.66		11 (19.64)	0.78		5 (41.67)	0.86	
Pelvic inflammatory disease	295 (44.56)	44 (46.81)	0.63	1.11 (0.71, 1.72)	28 (50)	0.39	1.27 (0.73, 2.19)	9 (75)	0.032	3.81 (1.02, 14.23)
<b>Co-infections</b>										
HPV (PCR)	92 (13.90)	25 (26.60)	0	2.7 (1.60, 4.57)	10 (17.86)	0.37	(0.67, 2.86)	2 (16.7)	0.78	1.24 (0.26, 5.77)
HIV (Serology)	45 (6.80)	3 (3.19)	0.13	0.41 (0.12, 1.36)	2 (3.57)	0.31	0.48 (0.11, 2.05)	0 (0)	0.34	
<i>T. pallidum</i> (Serology)	15 (2.27)	4 (4.26)	0.16	2.25 (0.70, 7.22)	1 (1.79)	0.8	0.76 (0.09, 5.95)	1 (8.3)	0.15	4.13 (0.49, 34.21)
<i>T. pallidum</i> (PCR)	7 (1.06)	4 (4.26)	0	8.37 (1.84, 38.01)	2 (3.57)	0.05	4.45 (0.84, 23.49)	0 (0)	0.71	
HSV-2 (PCR)	12 (1.81)	2 (2.13)	0.8	1.21 (0.26, 5.62)	1 (1.79)	0.98	0.98 (0.12, 7.76)			
<i>M. genitalium</i> (PCR)	16 (2.42)	5 (5.32)	0.04	2.84 (0.96, 8.38)	4 (7.14)	0.01	3.8 (1.18, 12.22)	2 (16.7)	0.001	9.08 (1.82, 45.35)
<i>T. vaginalis</i> (PCR)	94 (14.20)				35 (62.50)	0	15.42 (8.44, 28.26)	2 (16.7)	0.8	1.21 (0.26, 5.62)
<i>N. gonorrhoeae</i> (PCR)	14 (2.11)	0 (0)	0.12		4 (7.14)	0.006	4.58 (1.39, 15.12)	1 (8.3)	0.13	4.45 (0.53, 37.09)
HSV-1 (PCR)	56 (8.46)	35 (37.23)	0	15.45 (8.44, 28.26)				1 (8.3)	0.98	0.98 (0.12, 7.76)

**Table 3 cont.** Associations of sexually transmitted pathogens with socio-demographic, behavioral, and biological characteristics of the study population and co-infections

Characteristics	Total positive population				<i>M. genitalium</i> positive by PCR			<i>N. gonorrhoeae</i> positive by PCR			<i>T. pallidum</i> positive by PCR		
	[n (%), n = 662]	[n (%), n = 16]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 14]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)	[n (%), n = 7]	<i>P</i>	Adjusted OR (95% CI)			
<b>Socio-demographic data</b>													
Age group (years)													
14 – 19	93 (14.05)	0 (0)	0.1		1 (7.14)	0.45	0.46 (0.06, 3.59)	0 (0)	0.28				
20 – 29	255 (38.52)	7 (43.75)	0.66	1.24 (0.45, 3.39)	6 (42.86)	0.73	1.2 (0.41, 3.50)	2 (28.57)	0.58	0.63 (0.12, 3.30)			
30 – 39	186 (28.10)	4 (25)	0.78	0.85 (0.271, 2.66)	1 (7.14)	0.07	0.19 (0.02, 1.48)	3 (42.86)	0.38	1.93 (0.42, 8.72)			
≥ 40	129 (19.49)	5 (31.25)	0.22	1.93 (0.65, 5.66)	6 (42.86)	0.02	3.23 (1.10, 9.49)	2 (28.57)	0.53	1.67 (0.32, 8.75)			
<b>Occupation</b>													
Housewife	460 (69.49)	14 (87.50)	0.11	3.11 (0.70, 13.84)	11 (78.57)	0.46	1.61 (0.44, 5.84)	3 (42.86)	0.12	0.32 (0.07, 1.45)			
Employee / Merchant	106 (16.01)	2 (12.50)	0.7	0.75 (0.16, 3.36)	2 (14.29)	0.87	0.88 (0.19, 3.99)	3 (42.86)	0.04	4.06 (0.89, 18.43)			
Professional	63 (9.52)	0 (0)	0.18		1 (7.14)	0.76	0.72 (0.09, 5.65)	1 (14.29)	0.66	1.59 (0.18, 13.45)			
Student	33 (4.98)	0 (0)	0.35		0 (0)	0.38		0 (0)	0.54				
<b>Marital status</b>													
Single	140 (21.15)	1 (6.25)	0.14	0.24 (0.03, 1.85)	5 (35.71)	0.17	2.11 (0.69, 6.40)	3 (42.86)	0.15	2.83 (0.62, 12.82)			
Divorced/Widowed/Separated	22 (3.32)	0 (0)	0.45		0 (0)	0.48		0 (0)	0.62				
Married	238 (35.95)	6 (37.50)	0.89	1.07 (0.38, 2.98)	4 (28.57)	0.56	0.70 (0.22, 2.28)	4 (57.14)	0.24	2.39 (0.53, 10.81)			
Living with partner	262 (39.58)	9 (56.25)	0.16	1.99 (0.73, 5.43)	5 (35.71)	0.76	0.84 (0.28, 2.55)	0 (0)	0.03				
<b>Behavioral data</b>													
Age at first intercourse (years)													
< 16 years	140 (21.15)	4 (25)	0.7	1.25 (0.39, 3.93)	5 (35.71)	0.17	2.11 (0.696, 6.40)	1 (14.29)	0.65	0.619 (0.074, 5.18)			
≥ 16 years	522 (78.85)	12 (75)	0.7	0.8 (0.254, 2.52)	9 (64.29)	0.17	0.47 (0.15, 1.43)	6 (85.71)	0.65	1.61 (0.19, 13.53)			
<b>No. of previous sex partners</b>													
0-1	318 (48.04)	6 (37.50)	0.39	0.64 (0.23, 1.78)	5 (35.71)	0.35	0.59 (0.19, 1.79)	3 (42.86)	0.78	0.81 (0.18, 3.64)			
2 – 4	279 (42.15)	6 (37.50)	0.7	0.82 (0.29, 2.28)	7 (50)	0.54	1.38 (0.47, 3.98)	2 (28.57)	0.46	0.54 (0.10, 2.83)			
≥ 5	65 (9.82)	4 (25)	0.03	3.19 (1.00, 10.21)	2 (14.29)	0.57	1.54 (0.33, 7.07)	2 (28.57)	0.09	3.75 (0.71, 19.77)			
<b>Contraceptive methods</b>													
Hormonal	102 (15.41)	1 (6.25)	0.3	0.36 (0.04, 2.75)	1 (7.14)	0.38	0.41 (0.05, 3.22)	1 (14.29)	0.93	0.91 (0.10, 7.67)			
Condom	249 (37.61)	4 (25.00)	0.29	0.546 (0.17, 1.71)	7 (50)	0.33	1.67 (0.58, 4.84)	0 (0)	0.03				
IUD	67 (10.12)	3 (18.75)	0.24	2.09 (0.58, 7.56)	1 (7.14)	0.7	0.67 (0.08, 5.26)	2 (28.57)	0.1	3.63 (0.69, 19.09)			
Bilateral tubal occlusion	40 (6.04)	2 (12.50)	0.27	2.28 (0.50, 10.42)	2 (14.29)	0.19	2.67 (0.57, 12.38)	0 (0)	0.5				
None	204 (30.82)	6 (37.50)	0.55	1.35 (0.48, 3.78)	3 (21.43)	0.44	0.60 (0.16, 2.19)	4 (57.14)	0.12	3.03 (0.67, 13.67)			
Alcohol use	145 (21.90)	4 (25)	0.54	1.19 (0.37, 3.75)	4 (28.57)	0.54	1.43 (0.44, 4.65)	1 (14.29)	0.62	0.59 (0.07, 4.95)			
Current smoker	200 (30.21)	5 (31.25)	0.29	1.05 (0.36, 3.06)	6 (42.86)	0.29	1.75 (0.60, 5.12)	2 (28.57)	0.924	0.92 (1.78, 4.89)			
<b>Biological factors</b>													
Pregnant at sampling	287 (43.35)	7 (43.75)	0.25	1.01 (0.37, 2.76)	4 (28.57)	0.25	0.51 (0.16, 1.66)	6 (85.71)	4.28	0.51 (0.10, 2.69)			
Previous pregnancies	621 (93.81)	16 (100)	0.9		13 (92.86)	0.9	0.87 (0.11, 6.87)	2 (28.57)	0.38	0.40 (0.04, 3.40)			
<b>Complications of previous pregnancy</b>													
Infections	386 (58.31)	8 (50)	0.31	0.70 (0.26, 1.91)	10 (71.43)	0.31	1.8 (0.56, 5.82)	0 (0)	0.1	0.28 (0.05, 1.46)			
Bleeding	69 (10.42)	1 (6.25)	0.17	0.56 (0.07, 4.35)	3 (21.43)	0.17	2.4 (0.65, 8.84)	0 (0)	0.36				
Risk of spontaneous abortion	116 (17.52)	0 (0)	0.74	1.58 (0.50, 5.01)	2 (14.29)	0.74	0.78 (0.17, 3.53)	0 (0)	0.22				
Premature birth	50 (7.55)	0 (0)	0.28		0 (0.00)	0.28		0 (0)	0.44				
Ectopic pregnancy	9 (1.36)	0 (0)	0.65		0 (0)	0.65		0 (0)	0.76				
Previous abortions	163 (24.62)	2 (12.50)	0.99		3 (21.43)	0.99		2 (28.57)	0.99				
Pelvic inflammatory disease	295 (44.56)	8 (50)	0.67	1.25 (0.46, 3.37)	7 (50)	0.67	1.25 (0.43, 3.60)	3 (42.86)	0.92	0.93 (0.20, 4.19)			
<b>Co-infections</b>													
HPV (PCR)	92 (13.90)	1 (6.25)	0.96		2 (14.3)	0.96	1.03 (0.22, 4.69)	3 (42.9)	0.02	4.77 (1.05, 21.66)			
HIV (Serology)	45 (6.80)	2 (12.5)	0.26	0.40 (0.05, 3.11)	2 (14.3)	0.26	2.34 (0.50, 10.81)	1 (14.3)	0.42	2.31 (0.27, 19.65)			
<i>T. pallidum</i> (Serology)	15 (2.27)	0 (0)	0.56		0 (0)	0.56		3 (42.9)	0	40.18 (8.09, 199.48)			
<i>T. pallidum</i> (PCR)	7 (1.06)	1 (6.25)	0.02	7.11 (0.80, 62.78)	1 (7.1)	0.02	8.23 (0.92, 73.32)	0	0.71				
HSV-2 (PCR)	12 (1.81)	2 (12.5)	0.13	9.08 (1.82, 43.35)	2 (7.1)	0.13	4.45 (0.53, 37.09)	0					
<i>M. genitalium</i> (PCR)	16 (2.42)	0 (0)	0		3 (21.4)	0	13.32 (3.31, 53.46)	1 (14.3)	0.04	7.11 (0.80, 62.78)			
<i>T. vaginalis</i> (PCR)	94 (14.20)	5 (31.25)	0.12	2.84 (0.96, 8.38)	0 (0)	0.12		4 (57.1)	0.001	8.37 (1.84, 38.01)			
<i>N. gonorrhoeae</i> (PCR)	14 (2.11)	3 (18.75)		13.32 (3.31, 53.46)				1 (14.3)	0.02	8.23 (0.92, 73.32)			
HSV-1(PCR)	56 (8.46)	4 (25)	0.006	3.8 (1.18, 12.22)	4 (28.6)	0.006	4.58 (1.39, 15.12)	2 (28.6)	0.06	4.45 (0.84, 23.49)			



# Reviews in Medical Microbiology

## Causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted infections

--Manuscript Draft--

<b>Manuscript Number:</b>	RMM-D-16-00009
<b>Full Title:</b>	Causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted infections
<b>Article Type:</b>	Uninvited Review Article
<b>Keywords:</b>	sexually transmitted infections epidemiology diagnosis
<b>Corresponding Author:</b>	Elvira Garza-González, Ph.D. Universidad Autonoma de Nuevo Leon Monterrey, Nuevo León MEXICO
<b>Corresponding Author Secondary Information:</b>	
<b>Corresponding Author's Institution:</b>	Universidad Autonoma de Nuevo Leon
<b>Corresponding Author's Secondary Institution:</b>	
<b>First Author:</b>	Néstor Casillas-Vega
<b>First Author Secondary Information:</b>	
<b>Order of Authors:</b>	Néstor Casillas-Vega Rayo Morfín-Otero Santos García Adrián Camacho-Ortiz Elvira Garza-González, Ph.D.
<b>Order of Authors Secondary Information:</b>	
<b>Abstract:</b>	<p>Sexually transmitted infections (STIs) are caused by more than 30 species; the organisms with the highest frequency and clinical importance are <i>Chlamydia trachomatis</i>, <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, <i>Treponema pallidum</i>, <i>Mycoplasma genitalium</i>, the hepatitis B and C virus (HBV, HCV), the human immunodeficiency virus (HIV), the human papillomavirus (HPV), the herpes simplex virus type 1 and type 2 (HSV-1, HSV-2) and <i>Trichomonas vaginalis</i>. Most of these infections are present without symptoms, and when they are present, the most common clinical manifestations of sexually transmitted diseases (STDs) include vaginal discharge, genital ulcers and abdominal pain in women.</p> <p>Worldwide more than 1 million people acquire an STI per day, and an estimated 500 million people are infected each year with one of the next four STIs: chlamydia, gonorrhea, syphilis or trichomoniasis. More than 290 million women are infected with HPV, and more than 530 million people have the virus that causes HSV-2 at this time. Such infections can have serious consequences beyond the immediate effects of the infection itself, i.e., transmission from mother to child during pregnancy and childbirth, and chronic diseases.</p> <p>Given the importance of these illnesses, in this review, we present the most important aspects of the causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted infections.</p>

**Oliver Schildgen**  
**Editor of**  
**Reviews in Medical Microbiology**

Dear Editor,

In this submission, please find the review entitled “**Causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted infections**” that we are submitting to the *Reviews in Medical Microbiology* journal for consideration as a full-length paper.

All authors have participated either in the study design, and/or manuscript redaction and have read and approved the final manuscript and agree with its submission.

The authors agree totally with the contents of the submitted paper, as well as with the order of presentation of all the authors. The authors also agree that the corresponding author may act on their behalf throughout the editorial review and publication process.

In case the paper is accepted for publication, we hereby subscribe to the terms and conditions stipulated in the Guidelines for the publication of manuscripts in the *Reviews in Medical Microbiology* journal; we therefore agree to transfer the paper’s copyright over the Society for General Microbiology and consequently authorize its publication in any language and in any form of reproduction —physical or electronic— by the *Reviews in Medical Microbiology* journal or by any other individual or legal entity that may be granted permission to reproduce it.

We hereby state that the submitted review is original and has not been totally or partially published, nor has been simultaneously submitted for publication by any of its coauthors or by any other authors to any other national or foreign journal.

The paper does not contain any materials that might possibly infringe the copyright of a third party.

#### **Conflict of Interest Statement**

As well, all the authors declare that there is no economic, personal, political or academic relation that could influence our judgment. In particular, we have not received any benefit in cash or kind, any hospitality, or any subsidy derived from any source that may have or be perceived to have an interest in the outcome of the review.

Thank you in advance for considering this review.

Sincerely,  
Elvira Garza-González  
Avenida Madero s/n Colonia Mitras Centro  
Monterrey, Nuevo León, 64460, México  
Phone: +52 (81) 83 29 41 66  
E-mail: elvira\_garza\_gzz@yahoo.com

**Title: Causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted infections**

**Running title: sexually transmitted infections**

Casillas-Vega Néstor<sup>1</sup>, Morfín-Otero Rayo<sup>2</sup>, García Santos<sup>3</sup>, Camacho-Ortiz Adrian<sup>5</sup>,  
Garza-González, Elvira<sup>1,4\*</sup>

**Affiliations**

1. Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
2. Hospital Civil de Guadalajara, Fray Antonio Alcalde, y el Instituto de Patología Infecciosa y Experimental, Centro Universitario de Ciencias de la Salud, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.
3. Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás, Nuevo León, México.
4. Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
5. Coordinación de Epidemiología Hospitalaria, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey México.

\*Corresponding author

E-mail: [nestor.casillas.vega@hotmail.com](mailto:nestor.casillas.vega@hotmail.com) (NCV), [rayomorfin@gmail.com](mailto:rayomorfin@gmail.com) (RMO), [santos@microbiosymas.com](mailto:santos@microbiosymas.com) (SG), [acamacho\\_md@yahoo.com](mailto:acamacho_md@yahoo.com) (ACO), [elvira\\_garza\\_gzz@yahoo.com](mailto:elvira_garza_gzz@yahoo.com) (EGG).

1 **Title: Causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually transmitted**  
2 **infections**

3 **Running title: sexually transmitted infections**

4

5 Casillas-Vega Néstor<sup>1</sup>, Morfín-Otero Rayo<sup>2</sup>, García Santos<sup>3</sup>, Camacho-Ortiz Adrian<sup>5</sup>,

6 Garza-González, Elvira<sup>1,4\*</sup>

7

8 **Affiliations**

- 9 1. Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González,  
10 Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León, México.
- 11 2. Hospital Civil de Guadalajara, Fray Antonio Alcalde, y el Instituto de Patología  
12 Infecciosa y Experimental, Centro Universitario de Ciencias de la Salud,  
13 Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jalisco, México.
- 14 3. Departamento de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Biológicas  
15 Universidad Autónoma de Nuevo León, San Nicolás, Nuevo León, México.
- 16 4. Departamento de Patología Clínica, Hospital Universitario Dr. José Eleuterio  
17 González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, Nuevo León,  
18 México.
- 19 5. Coordinación de Epidemiología Hospitalaria, Hospital Universitario Dr. José  
20 Eleuterio González, Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey México.

21

22 \*Corresponding author

23 E-mail:[elvira\\_garza\\_gzz@yahoo.com](mailto:elvira_garza_gzz@yahoo.com) (EGG)

24

25

26

27

28



29

30

31

32 **Abstract**

33

34 Sexually transmitted infections (STIs) are caused by more than 30 species; the  
35 organisms with the highest frequency and clinical importance are *Chlamydia trachomatis*,  
36 *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Mycoplasma genitalium*, the hepatitis B and  
37 C virus (HBV, HCV), the human immunodeficiency virus (HIV), the human  
38 papillomavirus (HPV), the herpes simplex virus type 1 and type 2 (HSV-1, HSV-2) and  
39 *Trichomonas vaginalis*. Most of these infections are present without symptoms, and when  
40 they are present, the most common clinical manifestations of sexually transmitted diseases  
41 (STDs) include vaginal discharge, genital ulcers and abdominal pain in women.

42 Worldwide more than 1 million people acquire an STI per day, and an estimated 500  
43 million people are infected each year with one of the next four STIs: chlamydia, gonorrhea,  
44 syphilis or trichomoniasis. More than 290 million women are infected with HPV, and more  
45 than 530 million people have the virus that causes HSV-2 at this time.

46 Such infections can have serious consequences beyond the immediate effects of the  
47 infection itself, i.e., transmission from mother to child during pregnancy and childbirth, and  
48 chronic diseases.

49 Given the importance of these illnesses, in this review, we present the most important  
50 aspects of the causative agents, diseases, epidemiology, and diagnosis of sexually  
51 transmitted infections.

52

53 **Keywords:** sexually transmitted infections, epidemiology, diagnosis

54

55

56 **Introduction**

57

58 Sexually transmitted infections (STI)s are caused by more than 30 species of  
59 bacteria, viruses, and parasites, and are predominantly transmitted by sexual contact.  
60 Many STIs, especially those caused by *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, hepatitis B  
61 virus (HBV), Human immunodeficiency virus (HIV), human papillomavirus (HPV),  
62 herpes simplex virus (HSV)-1 and 2 and *T. pallidum* can also be transmitted from  
63 mother to product during pregnancy or childbirth.

64 A person may have an STI without showing symptoms of illness; therefore, the  
65 concept of "ITS" is broader than sexually transmitted infection "STD". STIs have effects  
66 on sexual and reproductive health worldwide and are among the top five categories for  
67 which adults seek health care. [1].

68

69

70

71 ***Chlamydia trachomatis***

72

73 **Microbiology**

74 *C. trachomatis* is an obligate intracellular bacterium, has similar structure Gram-  
75 negative bacteria, presents a not mobile, spherical or oval morphology of intracellular  
76 parasitic life and lacks the ability to synthesize ATP. This species colonize the cytoplasm of  
77 susceptible cells and have a unique biphasic life cycle: the elementary body (CE), which is  
78 the infectious form and the reticular body (CR), which is the replicative and metabolically  
79 active form. The life cycle is divided into three phases: the infectious form penetration or  
80 elementary body in the host cell, CR multiplication by binary fission and EC conversion  
81 and release of host cell EC [2].

82

83 **Disease**

84 *C. trachomatis* infections affect only human and are among the most common  
85 bacterial infections worldwide. The 18 genotypes described are divided into three groups,  
86 each responsible for an infectious disease: a) Trachoma: genotypes A, B, Ba, and C; b)

87 lymphogranuloma venereum (LGV) genotypes L1, L2, and L3 L2a; and c) eye-genital  
88 disease noninvasively: genotypes D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J and K. Each of these  
89 conditions has a different geographical distribution and mainly affects different  
90 populations.  
91 Trachoma is manifested as a chronic follicular conjunctivitis; it is endemic in more than 50  
92 countries, especially in rural areas of sub-Saharan Africa. LGV is a sexually transmitted  
93 infection that invades lymphoid tissues, is endemic in Africa, India, South America or the  
94 Caribbean. The non-invasive eye-genital infection is the leading infectious cause of sexual  
95 transmission in the world, and the number of new cases grows every year. It is unclear  
96 whether this increase is directly related to higher transmission rates or the implementation  
97 techniques, more sensitive and specific molecular diagnostic [3].

98

### 99 **Epidemiology**

100 *C. trachomatis* infection primarily affects women between 15-24 years, although  
101 60% of cases are asymptomatic. The infection occurs more in women than in men, though  
102 this imbalance against women could not be real since many cases are detected in routine  
103 screenings newspapers controls that women go more often. From infected women, from 10  
104 to 20% progress to PID, ectopic pregnancy, and infertility.

105 Conjunctivitis affects children under two years who are infected in the birth channel of the  
106 mother carrying genotypes of *C. trachomatis*. D-K. *C. trachomatis* is the species most  
107 frequently detected in STIs in developed countries. The WHO estimates that there are 92  
108 million new infections each year worldwide. Furthermore, the infection caused by *C.*  
109 *trachomatis* is considered the most common sexually transmitted infection reported in  
110 Europe and the US. Institutions such as the Center for Disease Control and Prevention,  
111 USA (CDC); US Preventive Services Task Force and European Center for Disease  
112 Prevention and Control (ECDC) recommend the routine monitoring of infection in both  
113 women and men. Currently, experts from ECDC are developing some guidelines to control  
114 infection by *C. trachomatis* in the European Union. Routine monitoring programs of this  
115 infection in developed countries have reduced transmission and complications associated  
116 with this disease [4].

117

## 118 **Diagnosis**

119           Until the early 80s, the primary method of diagnosis of *C. trachomatis* infection was  
120 the cell culture but was gradually replaced by more simple and rapid techniques. At that  
121 time, they appeared the first immunofluorescence assays using monoclonal antibodies and  
122 enzyme immunoassay techniques for its simplicity came to have a high acceptance. In the  
123 90s, he appeared the technique of nucleic acid hybridization. However, the significant  
124 development of the diagnosis of *C. trachomatis* infection were the methods of nucleic acid  
125 amplification (NAAT) that enable a workflow with excellent sensitivity and high  
126 specificity, facilitating the introduction of screening of *C. trachomatis* infection in the  
127 sexually active population [5].

128

129 The classification of genotypes of *C. trachomatis* is based on the analysis of the principal  
130 outer membrane protein (MOMP), which represents 60% of the dry weight of the  
131 membrane of *C. trachomatis*. Y is a dominant antigen; this protein is exposed on the  
132 surface of the membrane and is highly immunogenic [6]. The combination of the OmpA  
133 gene amplification by PCR with restriction enzyme analysis shows polymorphisms  
134 characteristic that enables the identification of serotypes or genotypes. Rodriguez et al. in  
135 1991 amplified 1000 bp OmpA gene and the product it was digested with restriction  
136 nucleases and visualized on polyacrylamide gels. Thirteen of the 15 genotypes to date could  
137 be differentiated by this technique [7]. NAAT test has a sensitivity and specificity,  
138 facilitating the introduction of screening of *C. trachomatis* infection in the sexually active  
139 population.

140

## 141 ***Treponema pallidum***

142

## 143 **Microbiology**

144           *T. pallidum* is a spiral organism 0.1 to 0.2 microns thick by 5 to 20 microns in  
145 length; its body is wound, it is a Gram-negative microaerobic bacterium. The only natural  
146 reservoir of this species is the human being, and it multiplies by transverse division. *T.*  
147 *pallidum* can only be cultured *in vitro* for a short period, with a maximum of 7 days  
148 survival of 35 ° C, in the middle particularly enriched in the presence of CO<sub>2</sub> by their

149 particular nutritious and metabolic requirements; in liquid nitrogen, it remains viable.  
150 Preserved blood for transfusions the bacterium survives between 24 and 48 hours [8].

151

## 152 **Disease**

153 Syphilis has three stages. A single painless chancre characterizes the primary stage,  
154 which women can be located in the perinatal area, either on the vulva, cervix, anus or  
155 extragenital area. This injury usually subsides over a period of 2-6 weeks and the  
156 possibility of recurrence. Secondary syphilis occurs within 3-5 months of primary infection,  
157 with demonstrations spread, such as a headache, mild fever, lymphadenopathy, patchy  
158 alopecia, erosions in the mucosa, hepatosplenomegaly, and to a lesser extent renal or  
159 neurological disorders. The positive serology occurs when patients have latent syphilis but  
160 do not show symptoms of syphilis. Tertiary syphilis may present as late benign syphilis,  
161 neurosyphilis, and cardiovascular syphilis; depending on the tissue or the area affected, this  
162 condition can have irreversible consequences and can even cause death [9]. The bacteria  
163 can survive in a human host for several decades since it has a mechanism of resistance to  
164 effector systems of the immune response to the host proteins coated to blend until it reaches  
165 the central nervous system. The symptoms of syphilis are numerous and varied slightly;  
166 this disease is known as the great imitator because their symptoms can be easily confused  
167 in primary and secondary phase with other illnesses, causing the patient to downplay it and  
168 not seek medical. 90% of women who have it do not know they have it because, in most  
169 cases, the chancroid appears in the cervix. When bacteria enter the body, it spreads rapidly  
170 and gradually invades all organs and tissues [10].

171 Congenital syphilis is the cutaneous and systemic infection acquired by the neonate  
172 via transplacental a mother suffering from syphilis during pregnancy, although maternal  
173 detection and proper treatment can prevent congenital syphilis. The probability of syphilitic  
174 infection in the fetus depends on the stage of the disease in the mother and the time of onset  
175 of maternal infection during pregnancy. Fetal infection cannot happen before four months  
176 of gestation because the corium layer of the exercised Langhans barrier effect against *T.*  
177 *pallidum*. If a maternal infection is prolonged, as in latent or late syphilis, the less likely  
178 that the fetus is affected. Thus, a mother with untreated syphilis can result in a healthy  
179 child, spontaneous abortion, stillbirth, neonatal death, prematurity, low birth weight.

180 Evidence of syphilitic infection can be evident at birth, i.e., signs of systemic involvement  
181 in the first weeks or months of life and manifestations of congenital syphilis in late  
182 childhood, adolescence or adulthood, as well as severe and irreversible sequelae [11].

183

#### 184 **Epidemiology**

185         Worldwide, the disease began to have a higher incidence in the XXI century, until  
186 in 2010 started to decline, by 1.6%, the developing countries are the most affected due to  
187 lack of preventive measures. The WHO has estimated that there is an incidence of syphilis  
188 among adults in Latin America and the Caribbean than three million per year, estimating a  
189 prevalence of 1.3% among women in the Americas. The CDC, in 2013 reported an  
190 incidence of 4.5 cases per 100,000 people, still frequent coinfection with HIV, it is  
191 estimated that currently more men are affected than women, at 5:1, associated with the  
192 population of men who have sex with men. Syphilis has its highest peak incidence between  
193 the third and fourth decade of life [12].

194

#### 195 **Diagnosis**

196         There is evidence for the direct and indirect diagnosis of syphilis, from direct  
197 diagnostic methods includes detecting *T. pallidum* by microscopic examination of smear  
198 fluid or injury, histological examination of tissue or methods of nucleic acid amplification.

199         The indirect diagnosis is based on serological tests for the detection of antibodies.

200         Serological tests are divided into two categories: nontreponemal tests (Venereal Disease

201         Research Laboratory (VDRL) or Rapid Plasma Reagin (RPR)); for screening,

202 and treponemal tests (fluorescent treponemal antibody absorbed (FTA-ABS) tests, the *T.*  
203 *pallidum* passive particle agglutination (TP-PA) assay, various enzyme immunoassays (EIAs),  
204 chemiluminescence immunoassays, immunoblots, or rapid treponemal assays)  
205 for confirmation; and molecular diagnostic tests with high sensitivity and specificity [13].

206

207 *Neisseria gonorrhoeae*

208

### 209 **Microbiology**

210 *N. gonorrhoeae* is a Gram-negative coccus, is about 0.6 to 1 micron in diameter,  
211 often occur clustered in diplococci. Presents capsule, pili, and outer membrane proteins. In  
212 its metabolism, it uses glucose as the primary source of energy, can use ammonium nitrate  
213 as a nitrogen source, and can synthesize all lipids required. Does not tolerate drying and  
214 resists little air about one to two hours, require CO<sub>2</sub> (5%), it is labile to heat, refrigeration,  
215 and various antiseptics.

216

### 217 **Disease**

218 In women, the incubation period is between 5 to 10 days. From infected women, 20  
219 to 50% may be asymptomatic. However, there may be signs and symptoms such as vaginal  
220 discharge, increased urination, and dysuria. When the bacteria are found in the Fallopian  
221 tubes can cause pain in the lower abdomen; also, it causes vaginitis, cervicitis, endometritis,  
222 salpingitis and PID. The immune system has serious problems to kill the bacteria since the  
223 bacteria has a high rate of antigenic variation [14].

224 Gonococcal infection in newborns results from perinatal exposure to the infected mother's  
225 uterus neck. Usually, it is an acute disease that manifests itself in 2-5 days after birth. The  
226 most severe manifestations of *N. gonorrhoeae* infection in newborns are ophthalmia of the  
227 newborn and sepsis, which may include arthritis and meningitis. Less severe manifestations  
228 include rhinitis, vaginitis, urethritis, and infection in fetal monitoring sites.

229

### 230 **Epidemiology**

231 Gonorrhea is endemic in many non-industrialized countries, whereas in  
232 industrialized countries has detected a drop in incidence and prevalence. In the United  
233 States, it is estimated that each year 820,000 new cases of infection by *N. gonorrhoeae*  
234 occur. Gonorrhea is the second most common communicable disease. In the CDC  
235 recommends annual screening for *N. gonorrhoeae* infection for all sexually active women  
236 aged 25 years and older women with increased risk of infection [15].

237

### 238 **Diagnosis**

239 A specific diagnosis could potentially reduce complications, reinfection, and  
240 transmission. Transportation systems can keep gonococcal viability for up to 48 h at room  
241 temperature. Gram stain has high specificity (> 99%) and sensitivity (> 95%). For urethral  
242 discharge, polymorphonuclear leukocytes are observed Gram-negative intracellular  
243 diplococci. The detection of infection by Gram stain of endocervical, a pharyngeal or rectal  
244 swab is insufficient and is not recommended [16].

245 The culture and molecular methods are available for detecting genitourinary infection with  
246 *N. gonorrhoeae*. The point of sampling depends somewhat on the age, sex, sexual practices  
247 of the person and the characteristics of the infection. Samples should be taken with Dacron  
248 swabs or calcium alginate. Molecular methods enable a variety of samples approved by the  
249 Food and Drug Administration (FDA), including endocervical swabs, vaginal swabs, and  
250 urine.

251 Prenatal screening and treatment of pregnant women are the best way to prevent infection  
252 by *N. gonorrhoeae*.

253

### 254 **Special consideration: Resistance to antibiotics**

255 The WHO reported an epidemiological alert on the identification of a strain of *N.*  
256 *gonorrhoeae* resistant to all antimicrobials available for the treatment of sexually  
257 transmitted infections. The new strain antibiotic resistant, named H041, contains genetic  
258 mutations that make it resistant to penicillin, ciprofloxacin, and tetracycline and also to  
259 third-generation cephalosporins. In recent years, it had already been a decrease in  
260 sensitivity to cephalosporins, which is the recommended treatment for the Latin; so this  
261 new strain presents challenges for the proper treatment of the syndromes caused by *N.*



262 *gonorrhoeae*. Epidemiological surveillance of the emergence of these resistant strains is  
263 critical to guide therapeutic decisions and to contain the spread of resistance by identifying  
264 and early treatment [17].

265

## 266 *Mycoplasma genitalium*

267

### 268 **Microbiology**

269 *M. genitalium* is a bacteria that lack a cell wall, belongs to the class Mollicutes has  
270 the small genome and has a low content of guanine and cytosine. Due to the absence of cell  
271 wall, mycoplasmas are not susceptible to antibiotics that block the synthesis of the cell  
272 wall, such as penicillin and other beta-lactam antibiotics.

273

### 274 **Disease**

275 The infection with *M. genitalium* usually produces severe clinical symptoms or a  
276 combination of symptoms, but sometimes it can be asymptomatic. In women, causes  
277 cervicitis, urethritis, endometritis, salpingitis, has been associated with mucopurulent  
278 secretion in the urinary tract and burning during urination, also related to tubal infertility. It  
279 is highly associated with HIV co-infection. It is also suspected to play a role in the  
280 development of ovarian cancer and lymphomas [18].

281

### 282 **Epidemiology**

283 The overall prevalence of *M. genitalium* infections reported worldwide varies from  
284 1-10% in most populations. *M. genitalium* is detected more often in people with risk  
285 factors, reaching figures of 20-40% among sex workers [19].

286

### 287 **Diagnosis**

288 The publication of the genomic sequence of *M. genitalium* has revealed the absence  
289 of genes of amino acid biosynthetic pathways, making these organisms are dependent on an  
290 external supply, not only of amino acids but as other biosynthetic precursors nucleotides,  
291 fatty acids, and sterols. Because of these limitations, in recent years, they have  
292 standardized, and applied techniques of amplification of nucleic acids for research of

293 genital mycoplasmas and most clinical and epidemiological studies in different populations  
294 have been conducted using these molecular assays; *M. genitalium* is a slow-growing  
295 organism. Culture can take up to 6 months. Therefore, NAAT is the preferred method for  
296 *M. genitalium* detection. *M. genitalium* should be suspected in cases of persistent or  
297 recurrent urethritis and may be considered in persistent or recurrent cases of cervicitis and  
298 Pelvic inflammatory disease[20].

299

## 300 **Human papillomavirus – HPV**

301

### 302 **Microbiology**

303 HPV belongs to the family of the *Papillomaviridae* have a diameter of 52-55 nm.  
304 HPVs are viruses that replicate in the nucleus specifically squamous epithelial cells. Unlike  
305 what happens in other viral families, the capsid proteins of different HPV types are  
306 antigenically similar. Therefore, the HPV cannot be classified in serotypes, so classification  
307 into genotypes and subtypes is based on differences regarding their DNA sequence. HPVs  
308 are the most common cause of viral infection of the reproductive tract. Most sexually active  
309 women and men will become infected at some point in their life, and some people may  
310 have recurrent infections, have identified approximately 100 types of HPV, at least, 40 of  
311 which can infect the genital area.

312

### 313 **Disease**

314 Genital HPV infection is one of the diseases most common sexually transmitted  
315 infection in the world population; although it is not necessary to have a sexual relationship  
316 with penetration for transmission to occur, the direct contact with the skin of the genital  
317 area a recognized mode of transmission. Another way is by maternal transmission, direct or  
318 indirect contact. Nonsexual acquisition occurs when HPV contact with skin lesions through  
319 fomites, contact with the contaminated skin; autoinoculation occurs by scratching, or  
320 during bathing. The prenatal transmission has been suggested, in the presence of HPV  
321 lesions in infants at birth [21].

322

323 Most infections by these viruses disappear after a few months after diagnosis. The  
324 low-grade cervical lesions also tend to return to normal, but they can also progress to high-  
325 grade lesions with a risk of 15 to 25% over the course of 2-4 years while the high-grade  
326 lesions have a 50% progressing to cancer. In most cases, progression passes slowly through  
327 the development of pre-malignant and pre-invasive lesions. These precancerous lesions of  
328 the cervix are known as cervical intraepithelial neoplasia (CIN) and are divided into three  
329 grades (CIN 1, 2 and 3) according to the severity of the injury. The micro-invasive  
330 carcinoma is the initial state of cervical cancer; its neoplastic cells have invaded the  
331 epithelial basement membrane. When malignant cells infiltrate the endocervix and  
332 associate to form tumors that can express a surface ulceration is considered to be invasive  
333 cancer has developed, which can spread to different vaginal tissues to metastasize HPV  
334 detection [22].

335

### 336 **Epidemiology**

337 Mucosal HPV types associated with benign lesions (genotypes 6 and 11 mainly)  
338 types was informed as "low risk." While those types associated with malignant lesions  
339 (HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59) are virus known as "high risk". The  
340 DNA of HPV cause of invasive cervical cancer in women is detectable in 95% of cases;  
341 genotypes 16 and 18 account for over 70% of cervical cancer and 45 with genotype  
342 contribute to 94% of cervical adenocarcinoma. With an estimated number of 529,800 new  
343 cases and 275,100 deaths from cervical cancer in 2008, it is situated in the third and fourth  
344 positions in incidence and mortality of women in the world cancer [23].

345

346 The high-risk HPV were found in 99.7% of cervical tumors analyzed. Every year  
347 about 500,000 new cases of cervical cancer are detected, 80% of these cases are in  
348 developing countries. Globally 10% prevalence in women is estimated. It is estimated that  
349 some genital HPV infects 60-75% of the sexually active population, but to be a latent virus  
350 that asymptomatic maintained for extended periods of time [24].

351

### 352 **Diagnosis**

353 The used for HPV detection method is widely diagnostic cytology, known as Pap  
354 tests. The histopathological diagnosis is achieved by studying microscopic fragments of  
355 cervical tissue obtained from a biopsy. PCR is a sensitive and specific technique that allows  
356 the generic detection of a vast number of HPV types, or it can also be used for the accurate  
357 detection of one aggressive type. Hybrid Capture can also be used. This technique is used  
358 for the detection of viral DNA using a colorimetric method for determining positive to the  
359 human virus samples [25].

360

### 361 **Special consideration: HPV vaccine**

362 Recently FDA-approved recombinant vaccine Gardasil 9 for preventing diseases  
363 caused by nine types of HPV. Gardasil 9 has the potential to prevent about 90% of HPV  
364 lesions in the cervix, vulva, vagina and anus, caused by genotypes 16, 18, 31, 33, 45, 52  
365 and 58, and for the prevention of genital warts caused by the genotypes 6 or 11. This  
366 vaccine is approved for use in female's ages 9 to 26 and men aged 9 to 15. It is  
367 administered by three separate injections, with initial doses followed by additional  
368 injections [26].

369

### 370 **Human Immunodeficiency Virus - HIV**

371

#### 372 **Microbiology**

373 HIV is an enveloped virus with a double capsid a shaped truncated cone form and  
374 another icosahedral; as genome has two copies of positive strand RNA, it has various  
375 enzymes, including reverse transcriptase and protease. There has been identified two  
376 different types of HIV, HIV-1, and HIV-2, these belong to the genus Lentivirus of  
377 Retroviridae Family; share epidemiological properties but from the point of serological and  
378 geographically relatively different. Apparently the pathogenicity of HIV-2 is less than that  
379 of HIV-1. One feature that distinguishes lentiviruses other retroviruses is the complexity of  
380 its genome; these viruses possess three structural genes: *env*, *gag*, and *pol* [27]

381

#### 382 **Disease**

383 HIV affects the immune system and weakens the surveillance and defense against  
384 infections and some cancers. As the virus destroys the immune cells and alters their

385 function, the infected person is gradually becoming immunodeficient. Immune function is  
386 usually measured by counting CD4 + T lymphocytes. The most advanced stage of HIV  
387 infection is known as acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and can take from 2 to  
388 15 years to manifest, depending on the individual. HIV can be transmitted by contact with  
389 various body fluids of infected people, such as blood, breast milk, semen or vaginal  
390 secretions. After a few weeks of infection similar to mild mononucleosis disease, which is  
391 characterized by fever, sore throat, malaise, and cervical lymphadenopathy, which persist  
392 for a week or two presents. After this time, the symptoms disappear completely and  
393 infected people remain asymptomatic for years 5 to 15 years on average. Later nonspecific  
394 symptoms such as lymphadenopathy, anorexia, fever and night sweats occur. Often the  
395 presence of opportunistic infections such as herpes zoster, oropharyngeal or vulvovaginal  
396 candidiasis, chronic diarrhea, pulmonary and extrapulmonary tuberculosis, different types  
397 of cancers such as Kaposi's sarcoma and Burkitt's lymphoma, cytomegalovirus retinitis,  
398 tuberculosis syndrome progressive wear and HIV encephalopathy. The severity of  
399 opportunistic infections correlates with dysfunction of the immune system [28].

400

#### 401 **Epidemiology**

402 June 30, 2015, WHO confirmed that Cuba became the first country to eliminate mother-to-  
403 child transmission of HIV and syphilis [29]. In 2013, 35 million people were living with  
404 HIV since the beginning of the epidemic, about 78 million people were newly infected with  
405 HIV, and 39 million people have died of HIV-related diseases. New cases of HIV  
406 infections have fallen by 38% since 2001; Worldwide, 2.1 million people, became infected  
407 with HIV in 2013, compared with 3.4 million cases in 2001 [30].

408

#### 409 **Diagnosis**

410 Different tests can perform the diagnosis of HIV infection: the screening or  
411 presumptive tests had high sensitivity and high specificity and used as the first choice in  
412 individuals that are suspected of HIV infection. These include enzyme immunoassays such  
413 as ELISA in all its variants, clumps, and immunochromatographic rapid tests. All screening  
414 tests must be confirmed. Confirmatory tests have good sensitivity and excellent specificity  
415 of 99.9%; the most widely used of all is the best known as Western-blot. The

416 supplementary tests predict the progression of the disease and assessing the immune status  
417 of the patient; count of CD4 + T lymphocytes and viral load are the most widely used  
418 markers of progression to clinical monitoring of HIV-positive patients [31].

419

420

## 421 **Hepatitis C Virus – HCV**

422

### 423 **Microbiology**

424 HCV is a virus of 30 to 38 nm in size, belongs to the family Flaviviridae; genus  
425 Hepacivirus has icosahedral symmetry genome of single-stranded RNA and positive  
426 polarity, it is wrapped, is divided into six genotypes; the genotype is clinically important  
427 in determining potential response to interferon-based therapy and duration that will  
428 require it. [32].

429

### 430 **Disease**

431 Hepatitis C is an acute and chronic infection. Usually, acute infection is  
432 asymptomatic and rarely is associated with a potentially fatal disease. Approximately  
433 15-45% of infected people clear the virus spontaneously within six months without any  
434 treatment. The remaining individuals develop chronic infection. Of those people, 15 to  
435 30% will develop cirrhosis within a period of approximately 20 years [33].

436 HCV is transmitted through blood; it transmitted to injecting drug use, by sharing  
437 injecting equipment; in health care settings due to improper sterilization or reuse of  
438 medical devices, especially syringes, and needles; in some countries, hepatitis C is  
439 transmitted through blood transfusion and blood products that have not been examined.  
440 HCV can also be transmitted sexually, and may move from an infected mother to the  
441 product; however, these forms of transmission are less frequent. Hepatitis C is not  
442 transmitted through breast milk, food or water or by casual contact such as hugging,  
443 kissing and sharing food or drinks with an infected person [34].

444 In fulminant hepatitis, the patient has signs of liver failure or hepatic encephalopathy,  
445 characterized by changes in behavior, sleep disturbances and difficulty concentrating cycle.

446 Suddenly the patient goes into a coma and dies, for chronic hepatitis, the virus remains

447 latent in the hepatocyte way, is characterized by the presence of completely nonspecific  
448 symptoms such as fatigue and intermittent bodily pain. Sometimes it may occur nausea,  
449 anorexia, weight loss and abdominal pain. Chronicity occurs in 60-70% for the virus.

450

### 451 **Epidemiology**

452 HCV is an important public health problem. Globally, an estimated 180 million  
453 people are infected, and an estimated prevalence of 2.8% is estimated. The actual  
454 prevalence of HCV is difficult to assess because the serological tests do not discriminate  
455 between acute infection, chronic or resolved infection. Furthermore, the groups analyzed  
456 in most countries are not representative of the general population, such as blood donors,  
457 drug users, or people with high-risk sexual practices; in Latin America, HCV infection is  
458 a serious health problem, the calculation of the overall HCV prevalence is 0.6 to 1.5%  
459 [35].

460

### 461 **Diagnosis**

462 The tests for the diagnosis of HCV infection include an immunoassay, EIA,  
463 chemiluminescence immunoassay or supplemental antibody test. Persons with an anti-  
464 HCV-positive result must be evaluated; the presence of acute infection; presence,  
465 severity, or the development of CLD (endothelial progenitor cells); and eligibility for  
466 treatment. Testing nucleic acids, including polymerase chain reaction with reverse  
467 transcriptase (RT-PCR) to detect HCV RNA, sensibility and specificity of 99.7%,  
468 confirm the diagnosis of HCV infection in progress, and liver function tests (level  
469 alanine aminotransferase) provides biochemical evidence of CLD [36].

470

### 471 **Herpes simplex virus 1 and 2 - HSV-1 / -2**

472

### 473 **Microbiology**

474 Family Herpesviridae includes 80 herpes virus species widely distributed in nature,  
475 affecting many animal species. Only five species infect humans, and it is the unique  
476 reservoir: HSV-1, HSV-2, Varicella zoster, CMV and Epstein-Barr virus. This five virus  
477 have three characteristic properties: latency, persistence, and recurrence. The genome of

478 virion herpes is linear DNA double strand leading from 120,000 to 230,000 base pairs is  
479 located in the core, which is surrounded by an icosahedral capsid with 160 capsomeres and  
480 a lipid envelope with viral glycoproteins, in turn, covers this. In the space between the  
481 envelope and capsid are viral enzymes and proteins. The virion diameter is 180 to 200 nm  
482 [37].

483

#### 484 **Disease**

485           The HSV-1 is highly contagious, common and endemic worldwide. Lifelong and  
486 incurable, although there are treatments that can relieve symptoms. The infection is spread  
487 by contact and word of mouth because especially cold sores or Oro labial. However, HSV-1  
488 can also be transmitted to the genitals through oral-genital contact, the case leads to genital  
489 herpes. The HSV-2 is transmitted mainly through sex. Lasts throughout life and has no  
490 cure. HSV-2 causes genital herpes, which is characterized by the occasional appearance of  
491 painful genital ulcers. The primary genital herpes is characterized by fever, headache,  
492 fatigue and myalgia. Local symptoms are predominantly pain, itching, dysuria, vaginal and  
493 urethral discharge, accompanied by inguinal lymphadenopathy. Urethral and cervical  
494 involvement is present in 80% of women with the first episode of genital herpes. Most  
495 people infected with HSV-2 do not know they are. Neonatal HSV-2 is rare but has a high  
496 mortality [38].

497

#### 498 **Epidemiology**

499           It is estimated that each year become infected with the virus about 20 million  
500 people. The proportion of genital herpes HSV-1 has increased in several of the most  
501 developed regions such as the United States, Western Europe or Australia and New  
502 Zealand, especially among young people. HSV-1 is often in overcrowded and poor  
503 conditions of hygiene sites have percentages of 90% of the population have antiviral  
504 antibodies. The HSV-2 is a global problem, and it is estimated that worldwide 400 million  
505 people are infected. In 2012, the estimated prevalence of infection was higher in Africa  
506 (31.5%), followed by the Americas (14.4%). It has also been verified that increases with  
507 age, although the largest number of infections occur in adolescents. More women than men  
508 infected with HSV-2: 267 and 150 million, respectively, according to 2012 estimates [39].



509

## 510 **Diagnosis**

511           The clinical diagnosis of genital herpes can be difficult, due to the many painful  
512 vesicular or ulcerative lesions typically associated with HSV are absent in many infected  
513 people. The clinical diagnosis of genital herpes must be confirmed by laboratory tests  
514 particular type. Both virologic specific type and specific serologic tests for HSV type  
515 should be available in clinical settings that serve people with or at risk for STDs. The tests  
516 used are cell culture, PCR, Cytological detection, and direct immunofluorescence  
517 techniques [40].

518

## 519 *Trichomonas vaginalis*

520

## 521 **Microbiology**

522           It is a single-celled protozoan flagellate. Its size ranges from 10-20  $\mu\text{m}$  in length  
523 and morphology piriform, has five flagella above four free and one undulating membrane  
524 on an axostyle emerging at the rear end. It develops in microaerobic conditions of the  
525 vagina. It reproduces by binary fission, has a unique way of life in its life cycle, the  
526 trophozoite .

527

## 528 **Disease**

529           It is a sexually transmitted infection. Although it has not indicated the possibility of  
530 sexual transmission, there are no well-documented cases. The incubation period ranges  
531 from 5-30 days. It is estimated that 10 to 50% of infected women are asymptomatic. The  
532 clinical data includes vaginal discharge about 42% of variable color (yellow, green or  
533 gray); foam in 10% of cases; odor, often with some fetid in 50% of patients approximately  
534 edema or erythema vaginal wall and cervix from 22% to 37%, itching, and irritation. The  
535 "strawberry cervix" because of erythema and pinpoint hemorrhages, can be identified by  
536 colposcopy, but hardly by routine speculum examination (this event is reported in 2% of  
537 cases), there may also be dysuria, dyspareunia, and abdominal pain [41].

538 Signs and symptoms may be exacerbated during or after menstruation. There are rare  
539 reports of endometritis and salpingitis. In pregnant women should be considered: abortion,

540 premature labor, premature rupture of fetal membranes, infection of the product,  
541 postpartum endometritis. The lower genital tract inflammation caused by *T. vaginalis*  
542 increases the risk of HIV infection. In women with HIV, it has found a higher prevalence of  
543 infection compared with negative women [42].

544

#### 545 **Epidemiology**

546 According to WHO estimates, the frequency of *T. vaginalis* in America it is 22% in  
547 women, trichomoniasis is not sexually transmitted viral infection common in the United  
548 States, affecting an estimated 3.7 million people; *T. vaginalis* infection affects > 11% of  
549 women  $\geq$  40 years [43].

550

#### 551 **Diagnosis**

552 The most important diagnostics tests used for trichomoniasis are: direct smear,  
553 which is the conventional method and has a sensitivity of 50 to 60% and specificity of 90%  
554 or identification by molecular methods has a sensitivity of 95% and specificity greater than  
555 95% [44].

556

557

558 In conclusion, STIs are a main concern for the infected individual, and for the  
559 potential transmission to from mother to product during pregnancy or childbirth. The  
560 evidence shows high frequency in all the world and special measures should be taken to  
561 control these infections. The use of molecular methods has offered a new alternative to  
562 having a rapid and sensitive diagnosis of infections; however, preventions measures,  
563 such as vaccination in the case of HPV, may be the best alternatives to control these  
564 infections.

565

566

567

568

569

570

571

572

573

574

575

576 References

- 577 1. Kenyon CR, Osbak K, Buyze J. The Prevalence of HIV by Ethnic Group Is  
578 Correlated with HSV-2 and Syphilis Prevalence in Kenya, South Africa, the United  
579 Kingdom, and the United States. *Interdiscip Perspect Infect Dis.* 2014;2014:284317.  
580 Epub 2014/10/21. doi: 10.1155/2014/284317. PubMed PMID: 25328516; PubMed  
581 Central PMCID: PMC4190824.
- 582 2. Greub G. International Committee on Systematics of Prokaryotes.  
583 Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae: minutes of the closed meeting, 21  
584 June 2010, Hof bei Salzburg, Austria. *Int J Syst Evol Microbiol.* 2010;60(Pt 11):2694.  
585 Epub 2010/11/05. doi: 10.1099/ij.s.0.028233-0. PubMed PMID: 21048222.
- 586 3. Petersen EE, Clad A, Pichlmeier U, Bottcher M. The extended Chlamydia  
587 trachomatis diagnosis in patients with pelvic inflammatory disease--a better approach  
588 for the diagnosis of upper genital tract infections. *Clin Lab.* 2003;49(5-6):277-81.  
589 Epub 2004/08/03. PubMed PMID: 15285188.
- 590 4. Dove A. 'European CDC' lobbies for support. Center for Disease Control and  
591 Prevention. *Nat Med.* 1998;4(11):1214-5. Epub 1998/11/11. doi: 10.1038/3180.  
592 PubMed PMID: 9809524.
- 593 5. Torrone E, Papp J, Weinstock H. Prevalence of Chlamydia trachomatis genital  
594 infection among persons aged 14-39 years--United States, 2007-2012. *MMWR Morb*  
595 *Mortal Wkly Rep.* 2014;63(38):834-8. Epub 2014/09/26. PubMed PMID: 25254560.
- 596 6. Schuppe HC, Pichlmeier U, Schenk BI, Bottcher M. Antibodies to Chlamydia  
597 trachomatis heat shock protein (cHSP60) and major outer membrane protein (MOMP)  
598 in men with impaired fertility. *Clin Lab.* 2003;49(5-6):273-5. Epub 2004/08/03.  
599 PubMed PMID: 15285187.
- 600 7. Rodriguez P, Vekris A, de Barbeyrac B, Dutilh B, Bonnet J, Bebear C. Typing of  
601 Chlamydia trachomatis by restriction endonuclease analysis of the amplified major  
602 outer membrane protein gene. *J Clin Microbiol.* 1991;29(6):1132-6. Epub  
603 1991/06/01. PubMed PMID: 1677940; PubMed Central PMCID: PMC269957.
- 604 8. Willcox RR, Guthe T. *Treponema pallidum*. A bibliographical review of the  
605 morphology, culture and survival of *T. pallidum* and associated organisms. *Bull World*  
606 *Health Organ.* 1966;35 Suppl:5-169. Epub 1966/01/01. PubMed PMID: 20718123.
- 607 9. Peate I. Syphilis: signs, symptoms, treatment and nursing management. *Br J*  
608 *Nurs.* 1998;7(14):817-23. Epub 1998/12/16. doi: 10.12968/bjon.1998.7.14.5633.  
609 PubMed PMID: 9849142.
- 610 10. Abildgaard SK, Ottosen S, Baggesen KL, Vorum H. [Visual symptoms by  
611 syphilis.]. *Ugeskr Laeger.* 2014;176(25A). Epub 2014/12/17. PubMed PMID:  
612 25497634.

- 613 11. Gupta R, Vora RV. Congenital syphilis, still a reality. *Indian J Sex Transm Dis.*  
614 2013;34(1):50-2. Epub 2013/08/07. doi: 10.4103/0253-7184.112941. PubMed  
615 PMID: 23919058; PubMed Central PMCID: PMC3730478.
- 616 12. Peterman TA, Heffelfinger JD, Swint EB, Groseclose SL. The changing  
617 epidemiology of syphilis. *Sex Transm Dis.* 2005;32(10 Suppl):S4-10. Epub  
618 2005/10/06. PubMed PMID: 16205291.
- 619 13. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol.*  
620 2005;16(1):45-51. Epub 2007/12/27. PubMed PMID: 18159528; PubMed Central  
621 PMCID: PMC2095002.
- 622 14. Dixson AF. Human Sexual Behavior and the Origins of Gonorrhoea. *Arch Sex*  
623 *Behav.* 2015;44(7):1741-2. Epub 2015/07/29. doi: 10.1007/s10508-015-0601-6.  
624 PubMed PMID: 26216148.
- 625 15. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. Centers for Disease  
626 Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep.* 2002;51(RR-6):1-78. Epub  
627 2002/08/20. PubMed PMID: 12184549.
- 628 16. Tapsall J, Whiley D, Sloots T. Applications of molecular testing in clinical  
629 laboratories for the diagnosis and control of gonorrhoea. *Future Microbiol.*  
630 2006;1(3):317-24. Epub 2007/07/31. doi: 10.2217/17460913.1.3.317. PubMed  
631 PMID: 17661644.
- 632 17. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is  
633 *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhoea?: detailed  
634 characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone.  
635 *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55(7):3538-45. Epub 2011/05/18. doi:  
636 10.1128/AAC.00325-11. PubMed PMID: 21576437; PubMed Central PMCID:  
637 PMC3122416.
- 638 18. Zarei O, Rezania S, Mousavi A. *Mycoplasma genitalium* and cancer: a brief  
639 review. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14(6):3425-8. Epub 2013/07/28. PubMed  
640 PMID: 23886122.
- 641 19. Cohen CR, Nosek M, Meier A, Astete SG, Iverson-Cabral S, Mugo NR, et al.  
642 *Mycoplasma genitalium* infection and persistence in a cohort of female sex workers in  
643 Nairobi, Kenya. *Sex Transm Dis.* 2007;34(5):274-9. Epub 2006/08/31. doi:  
644 10.1097/01.olq.0000237860.61298.54. PubMed PMID: 16940898.
- 645 20. McGowin CL, Rohde RE, Redwine G. Epidemiological and clinical rationale for  
646 screening and diagnosis of *Mycoplasma genitalium* infections. *Clin Lab Sci.*  
647 2014;27(1):47-52. Epub 2014/03/29. PubMed PMID: 24669447.
- 648 21. Lacour DE, Trimble C. Human papillomavirus in infants: transmission,  
649 prevalence, and persistence. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2012;25(2):93-7. Epub  
650 2011/05/24. doi: 10.1016/j.jpag.2011.03.001. PubMed PMID: 21600804; PubMed  
651 Central PMCID: PMC3632362.
- 652 22. Kietpeerakool C, Kleebkaow P, Srisomboon J. Human Papillomavirus Genotype  
653 Distribution among Thai Women with High-Grade Cervical Intraepithelial Lesions and  
654 Invasive Cervical Cancer: a Literature Review. *Asian Pac J Cancer Prev.*  
655 2015;16(13):5153-8. Epub 2015/08/01. PubMed PMID: 26225645.
- 656 23. Clifford GM, Gallus S, Herrero R, Munoz N, Snijders PJ, Vaccarella S, et al.  
657 Worldwide distribution of human papillomavirus types in cytologically normal  
658 women in the International Agency for Research on Cancer HPV prevalence surveys: a

659 pooled analysis. *Lancet*. 2005;366(9490):991-8. Epub 2005/09/20. doi:  
660 10.1016/S0140-6736(05)67069-9. PubMed PMID: 16168781.

661 24. Anaya-Ruiz M, Vincent AK, Perez-Santos M. Cervical cancer trends in Mexico:  
662 incidence, mortality and research output. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(20):8689-  
663 92. Epub 2014/11/07. PubMed PMID: 25374191.

664 25. Ikenberg H. Laboratory diagnosis of human papillomavirus infection. *Curr*  
665 *Probl Dermatol*. 2014;45:166-74. Epub 2014/03/20. doi: 10.1159/000356515.  
666 PubMed PMID: 24643185.

667 26. Fontenot HB, Fantasia HC. HPV9 Vaccine for the Prevention of Human  
668 Papillomavirus-Related Cancers. *Nurs Womens Health*. 2015;19(4):365-70. Epub  
669 2015/08/13. doi: 10.1111/1751-486X.12223. PubMed PMID: 26264802.

670 27. Guan F, Shi G, Zhao J, Wang Y. Progress on ovine lentivirus and its resistant  
671 genes. *Yi Chuan*. 2014;36(12):1204-10. Epub 2014/12/10. doi:  
672 10.3724/SP.J.1005.2014.1204. PubMed PMID: 25487264.

673 28. Havlir DV, Currier JS. CROI 2015: Complications of HIV Infection and  
674 Antiretroviral Therapy. *Top Antivir Med*. 2015;23(1):56-65. Epub 2015/05/13.  
675 PubMed PMID: 25965312.

676 29. Gulland A. Cuba is first country to eliminate mother to child HIV transmission.  
677 *Bmj*. 2015;351:h3607. Epub 2015/07/04. doi: 10.1136/bmj.h3607. PubMed PMID:  
678 26138937.

679 30. Lou LX, Chen Y, Yu CH, Li YM, Ye J. National HIV/AIDS mortality, prevalence,  
680 and incidence rates are associated with the Human Development Index. *Am J Infect*  
681 *Control*. 2014;42(10):1044-8. Epub 2014/10/04. doi: 10.1016/j.ajic.2014.06.029.  
682 PubMed PMID: 25278391.

683 31. Cornett JK, Kirn TJ. Laboratory diagnosis of HIV in adults: a review of current  
684 methods. *Clin Infect Dis*. 2013;57(5):712-8. Epub 2013/05/15. doi:  
685 10.1093/cid/cit281. PubMed PMID: 23667267.

686 32. Cox AL. MEDICINE. Global control of hepatitis C virus. *Science*.  
687 2015;349(6250):790-1. Epub 2015/08/22. doi: 10.1126/science.aad1302. PubMed  
688 PMID: 26293940.

689 33. Fabrizi F, Dixit V, Martin P, Messa P. Hepatitis C virus increases the risk of  
690 kidney disease among HIV-positive patients: Systematic review and meta-analysis. *J*  
691 *Med Virol*. 2015. Epub 2015/08/15. doi: 10.1002/jmv.24353. PubMed PMID:  
692 26271205.

693 34. Patman G. Hepatitis: Exosomal route of HCV transmission exists in patients. *Nat*  
694 *Rev Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(12):704. Epub 2014/10/22. doi:  
695 10.1038/nrgastro.2014.179. PubMed PMID: 25331631.

696 35. Mendez-Sanchez N, Gutierrez-Grobe Y, Kobashi-Margain RA. Epidemiology of  
697 HCV infection in Latin America. *Ann Hepatol*. 2010;9 Suppl:27-9. Epub 2010/08/28.  
698 PubMed PMID: 20713991.

699 36. Ghany MG, Strader DB, Thomas DL, Seeff LB. Diagnosis, management, and  
700 treatment of hepatitis C: an update. *Hepatology*. 2009;49(4):1335-74. Epub  
701 2009/03/31. doi: 10.1002/hep.22759. PubMed PMID: 19330875.

702 37. Bauer DW, Huffman JB, Homa FL, Evilevitch A. Herpes virus genome, the  
703 pressure is on. *J Am Chem Soc*. 2013;135(30):11216-21. Epub 2013/07/09. doi:

704 10.1021/ja404008r. PubMed PMID: 23829592; PubMed Central PMCID:  
705 PMC4019375.

706 38. Ross SE, Carter B, Lambert S. Seroprevalence of herpes simplex virus-2  
707 infection among women seeking medical care for signs and symptoms of vaginitis.  
708 Herpes. 2009;15(3):46-50. Epub 2009/03/25. PubMed PMID: 19306602.

709 39. Abbai NS, Wand H, Ramjee G. Socio-demographic and behavioural  
710 characteristics associated with HSV-2 sero-prevalence in high risk women in  
711 KwaZulu-Natal. BMC Res Notes. 2015;8:185. Epub 2015/05/06. doi: 10.1186/s13104-  
712 015-1093-0. PubMed PMID: 25940115; PubMed Central PMCID: PMC4423103.

713 40. Bernstein DI, Bellamy AR, Hook EW, 3rd, Levin MJ, Wald A, Ewell MG, et al.  
714 Epidemiology, clinical presentation, and antibody response to primary infection with  
715 herpes simplex virus type 1 and type 2 in young women. Clin Infect Dis.  
716 2013;56(3):344-51. Epub 2012/10/23. doi: 10.1093/cid/cis891. PubMed PMID:  
717 23087395; PubMed Central PMCID: PMC3540038.

718 41. Kurth A, Whittington WL, Golden MR, Thomas KK, Holmes KK, Schwebke JR.  
719 Performance of a new, rapid assay for detection of *Trichomonas vaginalis*. J Clin  
720 Microbiol. 2004;42(7):2940-3. Epub 2004/07/10. doi: 10.1128/JCM.42.7.2940-  
721 2943.2004. PubMed PMID: 15243042; PubMed Central PMCID: PMC446302.

722 42. Kurnatowska A, Komorowska A. [Analysis of the relations between selected  
723 symptoms of inflammation of the genital and urinary organs and invasion of  
724 *Trichomonas vaginalis*]. Wiad Parazytol. 1990;36(5-6):219-27. Epub 1990/01/01.  
725 PubMed PMID: 2131696.

726 43. Meites E, Llata E, Braxton J, Schwebke JR, Bernstein KT, Pathela P, et al.  
727 *Trichomonas vaginalis* in selected U.S. sexually transmitted disease clinics: testing,  
728 screening, and prevalence. Sex Transm Dis. 2013;40(11):865-9. Epub 2013/10/12.  
729 doi: 10.1097/OLQ.0000000000000038. PubMed PMID: 24113409; PubMed Central  
730 PMCID: PMC4677780.

731 44. Khatoon R, Jahan N, Khan HM, Rabbani T, Ahmad S. Evaluation of Different  
732 Staining Techniques in the Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* Infection in Females of  
733 Reproductive Age Group. J Clin Diagn Res. 2014;8(12):DC05-8. Epub 2015/02/06. doi:  
734 10.7860/JCDR/2014/9765.5261. PubMed PMID: 25653944; PubMed Central PMCID:  
735 PMC4316250.

736