



Original

Concepción Pérez-Torralba¹
María Ruiz-Olivares²
Sara Sanbonmatsu-Gámez³
Manuela Expósito-Ruiz⁴
José María Navarro-Mari³
José Gutiérrez-Fernández^{1,3}

Aumento de las infecciones por virus del herpes simple tipo 1 y polimicrobianas del aparato genital, en la población general de una ciudad media española

¹Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada-Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Granada, España

²Departamento de Obstetricia y Ginecología, Hospital Santa Ana, Motril, Granada, España.

³Departamento de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves-Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Granada, España.

⁴Fundación para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental (FIBAO), Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

Article history

Received: 4 January 2021; Revision Requested: 18 February 2021; Revision Received: 18 February 2020; Accepted: 7 March 2021; Published: 22 April 2021

RESUMEN

Introducción. Las infecciones por genitopatógenos son un motivo de consulta frecuente en Atención Primaria y en las especialidades de Enfermedades Infecciosas, Urología, Ginecología y Dermatología. Las causas más comunes son los microorganismos oportunistas y los responsables de las infecciones de transmisión sexual asociadas a prácticas sin protección. El objetivo de este trabajo es determinar los microorganismos que causan estas infecciones en los pacientes atendidos en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada y la sensibilidad a los antibióticos de *Neisseria gonorrhoeae*.

Material y métodos. Se realizó un estudio transversal y retrospectivo, en el que se incluyeron los resultados emitidos, entre enero de 2018 y diciembre de 2019, en el Laboratorio de Microbiología a partir de todos los episodios estudiados mediante procedimiento normalizados de trabajo.

Resultados: Los microorganismos más frecuentemente detectados fueron *Gardnerella vaginalis* (23,81%) seguido de *Candida* spp. (20,9%), sobre todo en mujeres, *N. gonorrhoeae* (11,36%) y *Ureaplasma urealyticum* (11,99%), sobre todo en hombres. En multitud de ocasiones se presentaron de forma combinada. En cuanto a los virus del herpes simple, en hombres la infección por ambas especies tuvo una presencia similar (50%), mientras que en mujeres el tipo 1 fue más prevalente (76,52%). Los antibióticos más activos frente a *N. gonorrhoeae* fueron cefotaxima (98%) y cefixima (100%), siendo poco activo tetraciclina (39,02%).

Conclusiones. Los patógenos más frecuentes correspondieron a aquellos que han causado habitualmente infecciones en las mujeres, aunque *N. gonorrhoeae* fue el más frecuente

en varones y las infecciones mixtas no son un hallazgo casual. Las infecciones por VHS-1 fueron más frecuentes que por VHS-2, lo cual confirma la tendencia de un cambio en la epidemiología del herpes genital.

Palabras clave: Infecciones de transmisión sexual; infecciones del aparato genital; *Neisseria gonorrhoeae*; *Chlamydia trachomatis*; virus del herpes simple.

Increased infections by herpes simplex virus type 1 and polymicrobials of the genital tract, in the general population of a Spanish middle city

ABSTRACT

Introduction. Infections by genitopathogens are a frequent reason for consultation in Primary Health Care and in the specialties of Infectious Diseases, Urology, Gynecology, and Dermatology. The most common causes are opportunistic microorganisms and responsible for sexually transmitted infections associated with unprotected sex. The objective is to determine the microorganisms that cause these infections in patients treated at the Hospital Universitario Virgen de las Nieves in Granada and *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility to antibiotics.

Material and methods. A transversal-descriptive and retrospective study was carried out, which included the results issued, between January 2018 and December 2019, in the Microbiology Laboratory from all the episodes studied using standardized working procedures.

Results. The most frequently detected microorganisms were *Gardnerella vaginalis* (23.81%) followed by *Candida* spp. (20.9%), especially in females, and *N. gonorrhoeae* (11.36%) and *Ureaplasma urealyticum* (11.99%), in males. Many times, they were presented in combination. Regarding herpes simplex viruses, infection by both species had a similar prevalence

Correspondencia:
José Gutiérrez-Fernández.
Laboratorio de Microbiología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
Avenida de las Fuerzas Armadas, 2. E-18012 Granada, España.
Tfno.: +34958020072
E-mail: josegf@go.ugr.es

(50%) in males, while type 1 was more prevalent (76.52%) in females. The most active antibiotics against *N. gonorrhoeae* were cefotaxime (98%) and cefixime (100%). Tetracycline (39.02%) a poorly active antibiotic.

Conclusions. The most frequent pathogens corresponded to those that usually caused infections in females, although *N. gonorrhoeae* was the most frequent in males and mixed infections are not an accidental finding. HSV-1 infections were more frequent than HSV-2, confirming the trend of a change in the epidemiology of genital herpes.

Keywords: Sexually transmitted infections; genital tract infections; *Neisseria gonorrhoeae*; *Chlamydia trachomatis*; herpes simplex virus.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones por genitopatógenos son un motivo de consulta frecuente en Atención Primaria y en especialidades como Urología, Ginecología y Urgencias. En las mujeres suponen más del 30% de las consultas ginecológicas [1] y en los hombres, aunque las infecciones genitales son frecuentes, tienden a estar infradiagnosticadas al ser frecuentemente asintomáticas [2]. Las causas más comunes de estas infecciones son la práctica de relaciones sexuales sin protección y el oportunismo. Según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016, de 376 millones de nuevas infecciones de transmisión sexual (ITS), 127 millones correspondieron a *Chlamydia trachomatis*, 87 millones a *Neisseria gonorrhoeae*, y unos 500 millones de mujeres sufrieron herpes genital [3].

Las enfermedades más frecuentes en la mujer de nuestro medio son las vulvovaginitis [4]. Es un proceso infeccioso favorecido por la alteración del microbioma vaginal (un 20-40% de las vaginitis provienen sólo de esta alteración del microbioma vaginal). El 75% de las mujeres presentarán algún episodio a lo largo de su vida, con mayor incidencia entre los 20 y 40 años y tendencia a recidivar en un 50% [1]. Los microorganismos más frecuentemente implicados son *Candida* spp., en el 25%, siendo *Candida albicans* en el 90% de los casos y las demás especies, como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei*, en el 10% [5]. Le sigue en frecuencia la vaginosis bacteriana (entre el 8-30% de las mujeres sexualmente activas de los países industrializados la padecerán), donde la reducción de *Lactobacillus* spp., se sustituye, principalmente, por *Gardnerella vaginalis* (presente en un 92-98% de los casos y en el 10% de mujeres sin enfermedad), y, en menor medida, por *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Atopobium vaginae* o *Mobiluncus* spp. [1]. Otro agente es *Trichomonas vaginalis*, parásito de transmisión sexual, que está disminuyendo en los países occidentales. En España supone el 20% de todas las vulvovaginitis [6]. La cervicitis se puede originar por la infección del canal endocervical [7], principalmente por *C. trachomatis* y con menor frecuencia *N. gonorrhoeae* (ambos ITS), *U. urealyticum*, *M. hominis*, *Mycoplasma genitalium*, los agentes de la vaginosis bacteriana o los virus del herpes simple (VHS) y papilomavirus [8]. La prevalencia española descrita para *C. trachomatis* oscila entre un 1-8,5% y afecta principalmente a mujeres entre 14-25 años [9], aunque *N. gonorrhoeae* se

observa más entre los 20-24 años [10]. Este frecuentemente presenta resistencias a los antibióticos [11]. Las enfermedades anteriores se pueden acompañar de uretritis, con detección en uretra de *Chlamydia*, *N. gonorrhoeae* o *Trichomonas* en más del 50% de los casos [12].

En los hombres, las principales enfermedades son uretritis y balanitis, pero a veces es difícil de diferenciar entre ambas. Los microorganismos más prevalentes son *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*, pudiendo encontrarse también *M. genitalium*, *U. urealyticum*, *Haemophilus* spp., *G. vaginalis*, *Candida* spp. y *T. vaginalis* [13]. El hecho de que puedan cursar de manera poco sintomática (hasta en el 50% de los casos) aumenta la probabilidad de transmisión [14, 15]. El microorganismo más frecuente en la balanitis es *C. albicans*, que afecta en su mayoría a varones diabéticos o no diabéticos con parejas afectadas de vulvovaginitis candidiásica [6].

Los VHS son la causa más frecuente de úlceras genitales entre la población sexualmente activa, causadas por el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2), clásicamente asociado a la infección genital y responsable del 70-90% de los casos [16], o virus herpes simple tipo 1 (VHS-1), más relacionado con la enfermedad oral. Según datos de la OMS, el VHS-2 muestra, en poblaciones de riesgo, una prevalencia del 11% en personas de 15 a 49 años (más frecuente en mujeres), mientras que la prevalencia del VHS-1, en esta edad, varía de una región a otra [17]. En un estudio realizado en Valencia, se describe un aumento de la prevalencia del VHS-1 en la enfermedad ulcerativa genital, con mejor pronóstico que el VHS-2 [18].

Por último, es importante reseñar la importancia de *C. trachomatis*, como causa de proctitis en ambos sexos, que además es la forma de presentación más frecuente para el linfogranuloma venéreo en Europa [19, 20].

Dada la importante prevalencia y diversidad en la etiología de estas infecciones se deben realizar aportaciones de su frecuencia reciente para facilitar una mejor prevención y tratamiento. Este es muchas veces empírico y de amplio espectro, y, a menudo, innecesarios, causando fracasos de tratamiento, recurrencias, recidivas y resistencias a antimicrobianos. En la medida en la que se disponga de estudios de prevalencia los tratamientos empíricos se aproximarán más a la realidad. Por todo ello, en este trabajo se comunica la presencia, en la población general adulta, de los agentes productores de infecciones de transmisión sexual y otras infecciones por patógenos genitales en el Área Sanitaria de Granada que es atendida en el Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada por posible episodio, comparando por edad y sexo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal y descriptivo, en el que se incluyeron los resultados emitidos tras el procesamiento microbiológico de todos los exudados genitales de sujetos adultos sintomáticos con sospecha de "posible episodio infeccioso", recibidas en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Virgen de las Nieves de Granada entre el 1 de enero de 2018 y 31

de diciembre de 2019. Este hospital presta asistencia especializada a un conjunto poblacional de 460.000 habitantes, aproximadamente. Las muestras procedieron de pacientes asistidos en los Servicios de Urgencias, Ginecología, Urología y Enfermedades Infecciosas, que atendieron a la población de Granada capital y los pueblos del área metropolitana de su influencia. Todos fueron episodios diferentes, ocurridos al menos con 6 semanas de diferencia del anterior, si es que lo hubo.

Las muestras fueron procesadas siguiendo los protocolos de trabajo del Laboratorio de Microbiología [14, 21]. Brevemente, en todas las muestras se investigó, mediante PCR multiplex a Tiempo Real, la presencia de *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis* (BD MAX CT/GC/TV BD, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.) y *M. genitalium*, *M. hominis* y *U. urealyticum* (BD MAX System, BioGX DNA, 350-011-A-MAX, Amsterdam, Países Bajos), salvo en los exudados vulvovaginales donde se emplearon pruebas de Hibridación de ADN para detectar *G. vaginalis*, *Candida* spp. y *Trichomonas* (BD AFFIRM VPIII, BD, Madrid, España) en el procesador BD MicroProbe; además, se sembraron en medios de agar sangre (Becton-Dickinson, España), agar chocolate (Becton-Dickinson), agar Martin-Lewis (Becton-Dickinson) para *N. gonorrhoeae* y CromogenCandida (BIO-RAD, España) para *Candida* spp. La presencia de *M. hominis* y *U. urealyticum* fue indicada si se obtuvo en el estudio un valor de Ct \leq 30. Más información sobre la sensibilidad del sistema de PCR para detectar micoplasmas y ureaplasmas está disponible por el fabricante (https://drive.google.com/drive/folders/1KuQwIMsrmbIQx_3ftQHc4T3re1ZdO_tk) y en estudios sobre la relación entre los valores cuantitativos de Ct de la PCR y las concentraciones de los microorganismos [22]. Dado que un valor de Ct \leq 30 indica una mayor concentración del microorganismo y *M. hominis* y *U. urealyticum* pueden ser potenciales colonizadores, sólo se informaron en muestras con este resultado.

Para la identificación de los microorganismos que crecieron se usó espectrometría de masas, MALDI-TOF (Bruker Biotyper, Billerica, MA, USA).

Además, se determinó la susceptibilidad a los antibióticos (azitromicina, cefixima, cefotaxima, ciprofloxacino, penicilina y tetraciclina) de *N. gonorrhoeae* [11]. La interpretación de los resultados se realizó según las recomendaciones del European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) [23] y del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) de 2018 [24], de forma complementaria. En las muestras recibidas en medio de transporte de virus se investigaron el VHS-1 y el VHS-2 mediante PCR a tiempo real (BD MAX System).

Se recogieron las variables tipo de muestra, procedencia, microorganismo, sexo y edad del paciente a través del SIL de nuestro laboratorio (MODULAB[®], sistema utilizado en el Sistema Sanitario Público de Andalucía como soporte de la historia clínica electrónica) para su posterior evaluación anonimizada. No se incluyó el estudio de la infección por *Treponema pallidum* y la existencia de prostatitis. Se realizó un análisis estadístico descriptivo, calculando frecuencias absolutas y relativas para las variables cualitativas. Se compararon los resultados, para cada tipo de prueba, de los años 2018 y 2019 y la presen-

cia por sexos, mediante las pruebas chi-cuadrado de Pearson y exacta de Fisher. Para comparar las edades de los sujetos con microorganismos se utilizó las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney, en los casos de 2 grupos, y de Kruskal-Wallis, en los casos de más de 2 grupos, comprobándose la normalidad con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. También se tuvieron en cuenta las infecciones polimicrobianas. Por último, se analizó la susceptibilidad, por categorías clínicas y/o concentración mínima inhibitoria (CMI), de *N. gonorrhoeae* a los antibióticos. Los datos se analizaron con el software IBM SPSS Statistics 19. No se tuvo información clínica que permitiera recoger los factores clínicos asociados con la presencia de un determinado microorganismo.

Consideraciones éticas. El protocolo del estudio se llevó a cabo con arreglo a la Declaración de Helsinki y las consideraciones éticas de la investigación epidemiológica. No se realizó muestreo adicional ni modificación del protocolo diagnóstico de rutina por el laboratorio. Debido al carácter no intervencionista del estudio, ya que el material biológico se utilizó sólo para el diagnóstico estándar de infecciones del tracto genital, siguiendo las prescripciones de los médicos sin ninguna investigación adicional a los procedimientos rutinarios, no se recabó el consentimiento informado del paciente para el análisis integrado de los resultados, según lo señalado por las pautas éticas internacionales para la investigación relacionada con la salud en seres humanos de la Organización Mundial de la Salud. Se realizaron los análisis de datos utilizando una base de datos completamente anónima, donde los episodios de los sujetos fueron identificados sólo mediante el Número Único de Historia de Salud de Andalucía (NUHSA) y sustituidos por episodios infecciosos diferentes ocurridos al menos con 6 semanas de diferencia del anterior, si es que lo hubo. La entidad que concedió el permiso para acceder y utilizar los datos fue la Unidad de Gestión Clínica de Microbiología Clínica del Hospital Virgen de las Nieves de Granada, España.

RESULTADOS

Durante los 2 años estudiados, se procesaron un total de 3.217 muestras de otros tantos episodios: 1.516 en 2018 y 1.701 en 2019. En 2018, 1.032 (68,07%) procedieron de mujeres, y en 2019 se contabilizaron 1.212 (71,25%). Se analizaron exudados de glande (157; 4,88%), endocervical (624; 19,39%), vulvo-vaginal (1331; 41,37%), uretral (628; 19,52%), rectal (110; 3,41%), faringo-amigdalares (34; 1,05%) y de úlcera genital (296; 9,2%) y orina para el estudio de uretritis (37; 1,15%). En total se realizaron 13.299 pruebas, 5.941 en 2018 y 7.358 en 2019, cuyos resultados se describen a continuación.

Bacterias y *T. vaginalis* detectados mediante PCR. En 2018 se realizaron 4.421 PCRs para *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *T. vaginalis*, *M. genitalium*, *M. hominis* y *U. urealyticum*, siendo 329 (7,4%) positivas. En 2019 se realizaron 5.545 PCRs de las cuales 362 (6,5%) fueron positivas. El microorganismo más frecuentemente detectado fue *U. urealyticum* (103;

Tabla 1		Número y porcentajes de PCR y cultivos positivos para cada microorganismo, según el sexo, durante 2018 y 2019.			
PCR (%)	Varones		Mujeres		Total
<i>C. trachomatis</i>	64	(19,8)	47	(12,8)	111
<i>N. gonorrhoeae</i>	91	(28,2)	23	(6,2)	114
<i>M. genitalium</i>	28	(8,7)	23	(6,2)	51
<i>M. hominis</i>	47	(14,5)	153	(41,6)	200
<i>U. urealyticum</i>	88	(27,2)	96	(26,1)	184
<i>T. vaginalis</i>	5	(1,5)	26	(7,1)	31
Total	323	(46,7)	368	(53,3)	691
Cultivos (%)	Varones		Mujeres		Total
<i>N. gonorrhoeae</i>	75	(67,0)	9	(3,1)	84
<i>G. vaginalis</i>	16	(14,3)	152	(51,7)	168
<i>Candida</i> spp.	21	(18,7)	133	(45,2)	154
Total	112	(27,6)	294	(72,4)	406

Tabla 2		Edad media global y de los positivos para cada microorganismo de los sujetos a los que se les realizó PCR y/o cultivo durante 2018 y 2019.			
	Edad media (años)				
	2018	IC 95%	2019	IC 95%	
<i>C. trachomatis</i>	29,79	(27,48-32,10)	28,38	(26,01-30,74)	
<i>N. gonorrhoeae</i>	30,67	(27,81-33,53)	27,72	(25,49-29,95)	
<i>M. genitalium</i>	28,61	(24,89-32,32)	30,08	(25,55-34,61)	
<i>M. hominis</i>	30,85	(28,76-32,94)	29,90	(27,89-31,90)	
<i>U. urealyticum</i>	32,02	(29,88-34,15)	32,29	(30,19-34,39)	
<i>T. vaginalis</i>	38,92	(30,23-47,61)	38,37	(30,21-46,53)	
VHS-1	24,02	(17,38 - 30,66)	26,33	(16,43 - 36,23)	
VHS-2	33,56	(23,89- 43,23)	31,79	(17,81 - 45,77)	
<i>G. vaginalis</i>	30,46	(27,49-33,43)	30,06	(27,80-32,32)	
<i>Candida</i> spp.	34,84	(30,24-39,44)	30,96	(27,58-34,34)	

31,3%) en 2018 y *M. hominis* (106; 29,3%) en 2019. *T. vaginalis* fue el menos frecuente en ambos años, 12-3,6% y 19-5,2%, respectivamente. En 2018, el porcentaje de PCR positivas fue del 8% en mujeres (164 episodios) y del 7% en varones (165), similar a 2019, con un 7,2% en mujeres (204) y un 5,9% en varones (158).

Al comparar los resultados por sexo durante los dos años (tabla 1), hubo diferencias estadísticamente significativas para los microorganismos encontrados en varones y mujeres ($p < 0,001$), salvo para *U. urealyticum* y *M. genitalium*, de forma que *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae* fueron más frecuentes en los varones y *M. hominis* y *T. vaginalis* en las mujeres.

En cuanto a las edades de los sujetos (Tabla 2), tanto la media de edad global como la de los positivos para cada microorganismo rondó los 30 años en 2018 y 2019, excepto en el caso de *T. vaginalis*, donde la edad media de los positivos fue mayor, 38 años. En 2018, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las edades de los positivos a los diferentes microorganismos ($p = 0,367$); pero en 2019 sí las hubo ($p = 0,021$), debiéndose a la menor edad de los pacientes con *N. gonorrhoeae* y la mayor con *T. vaginalis* y *U. urealyticum*. ($p = 0,008$), y *N. gonorrhoeae* y *U. urealyticum* ($p = 0,007$).

VHS detectados. En 2018 se realizaron 258 PCR para

Tabla 3 Comparativa del número y porcentajes de pruebas de hibridación y cultivos positivos por microorganismo durante 2018 y 2019.

Hibridación positiva	2018		2019	
<i>G. vaginalis</i>	85	(42,29)	119	(51,52)
<i>Candida</i> spp.	86	(42,79)	80	(34,63)
<i>T. vaginalis</i>	8	(3,98)	8	(3,46)
<i>G. vaginalis</i> + <i>Candida</i> spp.	22	(10,95)	20	(8,66)
<i>G. vaginalis</i> + <i>T. vaginalis</i>	0	0	2	(0,87)
<i>Candida</i> spp. + <i>T. vaginalis</i>	0	0	2	(0,87)
Cultivos	2018		2019	
<i>N. gonorrhoeae</i>	41	(24,8)	43	(17,8)
<i>G. vaginalis</i>	55	(33,3)	113	(46,9)
<i>Candida</i> spp.	69	(41,8)	85	(35,2)

VHS-1 y VHS-2, siendo 74 (28,68%) positivas; mientras que en 2019 se realizaron 236 PCRs, siendo 70 (29,66%) positivas. La infección por VHS-1 fue más frecuente en ambos años (56; 75,68% en 2018 y 51; 72,86% en 2019), con escasa presencia de las infecciones por VHS-1 y VHS-2 (2; 2,7% en 2018 y 1; 1,4% en 2019). Al comparar los resultados por sexo, en ambos años, se detectaron 12 (8,33%) entre los hombres y 132 (91,67%) entre las mujeres. Entre los hombres el VHS-1 y el VHS-2 suponen el 50% de los resultados positivos, respectivamente; mientras que en las mujeres fue claramente superior el porcentaje de VHS-1 (101 episodios, 76,52%), frente al VHS-2 (31; 23,48%), aunque sin diferencias significativas ($p=0,077$). La edad media de los pacientes (Tabla 2) con VHS-2 fue estadísticamente superior a la edad de los que tienen VHS-1, en 2018 ($p<0,001$) y 2019 ($p=0,025$).

Agentes de vulvo-vaginitis detectados mediante prueba de Hibridación de ADN. En 2018 se realizaron 567 estudios de exudado vulvo-vaginal mediante hibridación para *Candida* spp., *T. vaginalis* y *G. vaginalis*, siendo 201 (35,45%) positivas para algún microorganismo; en 2019 se realizaron 613 siendo 231 (37,68%) positivas. En la Tabla 3 se refleja la distribución de los microorganismos detectados por años, destacando la mayor presencia, proporcionalmente, de *G. vaginalis* durante 2019. Las edades de las mujeres con prueba positiva fueron similares para los dos años (2018: media 33,2 y rango 31,1-35,3 años; 2019: media 34,9 y rango 32,8-36,9 años).

Agentes recuperados mediante cultivo habitual de las muestras genitales. En 2018 se realizaron 751 cultivos, para recuperar *N. gonorrhoeae*, *G. vaginalis* y *Candida* spp., siendo 165 (22,0%) positivos; mientras que en 2019 se realizaron 979 siendo 241 (24,6%) positivos, destacando en 2018 *Candida* spp. y en 2019 *G. vaginalis* (Tabla 3). Al comparar los resultados por sexo (Tabla 1) los microorganismos más frecuentemente recuperados fueron *N. gonorrhoeae* (67,0%) en hombres, *G. vaginalis* (51,7%) y *Candida* spp. (45,2%) en las mujeres

($p<0,001$). Si nos fijamos en las edades de los sujetos estudiados (Tabla 2), la media de edad es similar para los microorganismos, excepto para *Candida* spp. donde es superior en 2018 con 34 años, siendo esta diferencia no significativa. Por último, el estudio de la sensibilidad a los antibióticos de los aislados de *N. gonorrhoeae* (tabla 4) pone de manifiesto la excelente actividad de cefotaxima y cefixima, seguidos de azitromicina, mientras que ciprofloxacino y tetraciclina presentaron una actividad inferior. Al comparar los resultados entre los dos años, obtuvimos que la resistencia a ciprofloxacino aumentó de un 40% en 2018 a un 60,47% en 2019. Frente a azitromicina se presentaron resistencias similares en ambos años (20% y 14%, respectivamente).

Infecciones polimicrobianas. En 2018 se encontraron 35 episodios en los que se detectó más de un microorganismo, 7 en varones y 28 en mujeres; mientras que en 2019 se encontraron 49, 11 en varones y 38 en mujeres (Tabla 5). Lo más frecuente en ambos periodos de estudio fue encontrar *G. vaginalis* + *Candida* spp., seguida de *C. trachomatis* + *N. gonorrhoeae*.

Microorganismos detectados en las muestras clínicas. En la tabla 6 se indica los microorganismos detectados en las diferentes muestras. Las que más resultados positivos acumularon fueron los exudados vulvo-vaginal y endocervical, con 640 y 500 positivos, respectivamente; les siguen los exudados uretrales y de úlcera genital, con 289 y 162 positivos, respectivamente.

DISCUSIÓN

A diferencia de los varones, las infecciones del aparato genital femenino tienen una sintomatología muy poco específica, siendo absolutamente necesario el estudio microbiológico para establecer el diagnóstico. El cultivo de los exudados es un

Tabla 4		Estudio de la sensibilidad de <i>N. gonorrhoeae</i> a los antibióticos durante 2018 y 2019.				
ANTIBIÓTICOS	Año	CMI50	CMI90	% S	% I	% R
Azitromicina	2018	0,25	2	82,05	0	17,95
	2019	0,25	1,5	86,05	0	13,95
	Global	0,25	2	84,15	0	15,85
Cefixima	2018	<0,016	0,032	100	0	0
	2019	<0,016	0,064	100	0	0
	Global	< 0,016	0,064	100	0	0
Cefotaxima	2018	0,016	0,064	100	0	0
	2019	0,016	0,064	97,44	0	2,56
	Global	0,016	0,064	98	0	2
Ciprofloxacino	2018	0,008	4	60	0	40
	2019	0,38	3	39,53	0	60,47
	Global	0,025	4	49,4	0	50,6
Penicilina	2018	0,38	4	17,14	68,57	14,29
	2019	0,38	1,5	6,98	81,4	11,63
	Global	0,38	2	11,54	75,64	12,82
Tetraciclina	2018	1,5	24	30,77	17,95	51,28
	2019	0,75	4	46,51	25,58	27,91
	Global	0,75	16	39,02	21,95	39,02

S: sensible; I: Intermedio; R: Resistente.

método específico y sensible, superado por los métodos moleculares, especialmente por la PCR, en muestras especialmente contaminadas, como son los exudados faríngeos y rectales. En nuestro estudio, el microorganismo más frecuentemente encontrado, si tenemos en cuenta las distintas muestras y pruebas realizadas, fue *G. vaginalis*, seguido de *Candida* spp. En cuanto a los principales causantes de ITS, obtuvimos que *N. gonorrhoeae* fue el microorganismo más frecuente entre los varones, lo que corresponde a lo obtenido en otro estudio realizado en España en 2017, donde la mayor tasa se encontró en varones que estaban entre los rangos de edad de 20-24 y de 25-29 años [25]; en nuestro caso, encontramos la mayor presencia entre los 25-29 años. En cuanto a *C. trachomatis*, en nuestro estudio es el principal agente de ITS en las mujeres, por encima de *N. gonorrhoeae*, siendo más frecuente entre los 26-32 años; estos datos coinciden con los informes del Centro Europeo para la Prevención y Control de Enfermedades (ECDC) donde la mayor incidencia de este patógeno se observó entre mujeres jóvenes de 20-24 años [10, 26]. *T. vaginalis* fue insignificante en varones mientras que, en mujeres, se situó por delante de *N. gonorrhoeae*, apareciendo en edades superiores que los anteriores, desde los 30-47 años, lo que supone resultados similares a otros estudios donde se obtiene la mayor frecuencia entre mujeres de 20-47 años [2, 27]. Además, no se

excluye un falso positivo de la PCR en las muestras faringoamigdalares.

Teniendo en cuenta el mayor número de muestras analizadas en mujeres que en varones, podríamos pensar que las ITS por tanto son más frecuentes en varones, ya que *N. gonorrhoeae* presenta una incidencia superior en nuestra muestra que *C. trachomatis*, siendo más infrecuente en mujeres; sin embargo, sería una conclusión precipitada. Es posible que la mayoría de las muestras tomadas en varones se analizaran bajo la sospecha de ITS (ya que el cuadro clínico que estos presentan es más sugerente de ello; manifestaciones exudativas), mientras que no ocurre lo mismo con las muestras procedentes de mujeres, donde en la mayoría de las ocasiones la primera sospecha, salvo síntomas clínicos específicos, va a ser una vulvovaginitis por patógenos comunes. En cualquier caso, cabe destacar los rangos de edad en los que más se concentran la presencia de estos patógenos, reducidos a edad fértil cuando la actividad sexual es más intensa.

G. vaginalis fue el microorganismo más veces aislado en nuestro estudio, y esto se corresponde con el gran número de positivos entre las mujeres, donde fue el patógeno más frecuente en exudado vulvo-vaginal. No obstante, la vaginosis es una entidad polimicrobiana y el diagnóstico microbiológico podría requerir la tinción de Gram y el empleo de los criterios

Infecciones polimicrobianas (%)	2018		2019	
<i>N. gonorrhoeae</i> + <i>M. genitalium</i>	5	(14,29)	3	(6,12)
<i>C. trachomatis</i> + <i>N. gonorrhoeae</i>	4	(11,43)	14	(28,57)
<i>C. trachomatis</i> + <i>M. genitalium</i>	1	(2,86)	4	(8,16)
<i>C. trachomatis</i> + VHS-2	1	(2,86)	0	(0)
<i>C. trachomatis</i> + <i>N. gonorrhoeae</i> + <i>T. vaginalis</i>	0	(0)	1	(2,04)
<i>M. genitalium</i> + <i>T. vaginalis</i>	0	(0)	2	(4,08)
<i>G. vaginalis</i> + <i>Candida</i> spp.	22	(62,86)	20	(40,82)
<i>G. vaginalis</i> + <i>T. vaginalis</i>	0	(0)	2	(4,08)
<i>Candida</i> spp. + <i>T. vaginalis</i>	0	(0)	2	(4,08)
VHS-1 + VHS-2	2	(5,71)	1	(2,04)
Total	35	(100)	49	(100)

Agentes	Exudado de glande		Exudado endocervical		Exudado vulvo-vaginal		Exudado uretral		Exudado rectal		Orina estudio uretritis		Exudado faringo-amigdalares		Exudado úlcera genital		TOTAL	
<i>C. trachomatis</i>	3	(5,66)	31	(6,20)	13	(2,03)	46	(15,91)	11	(12,94)	4	(33,33)	0	(0,00)	3	(1,85)	111	(6,33)
<i>N. gonorrhoeae</i>	23	(43,39)	27	(5,40)	5	(0,78)	118	(40,83)	18	(21,17)	4	(33,33)	2	(20)	2	(1,23)	199	(11,36)
<i>M. genitalium</i>	2	(3,77)	18	(3,60)	4	(0,62)	19	(6,57)	6	(7,05)	1	(8,33)	1	(10)	0	(0,00)	51	(2,91)
<i>M. hominis</i>	3	(5,66)	109	(21,80)	39	(6,09)	19	(6,57)	21	(24,70)	1	(8,33)	2	(20)	8	(4,93)	202	(11,53)
<i>U. urealyticum</i>	6	(11,32)	75	(15)	30	(4,68)	58	(20,06)	28	(32,94)	2	(16,67)	3	(30)	8	(4,93)	210	(11,99)
<i>T. vaginalis</i>	0	(0,00)	20	(4)	25	(3,90)	3	(1,03)	0	(0,00)	0	(0,00)	2	(20)	1	(0,61)	51	(2,91)
<i>G. vaginalis</i>	0	(0,00)	125	(25)	271	(42,34)	15	(5,19)	1	(1,17)	0	(0,00)	0	(0,00)	5	(3,08)	417	(23,81)
<i>Candida</i> spp.	13	(24,52)	93	(18,6)	240	(37,50)	10	(3,46)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	10	(6,17)	366	(20,90)
VHS-1	0	(0,00)	2	(0,40)	10	(1,56)	1	(0,34)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	94	(52,02)	107	(6,11)
VHS-2	3	(5,66)	0	(0,00)	3	(0,46)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	0	(0,00)	31	(19,13)	37	(2,11)
Total	53	(100)	500	(100)	640	(100)	289	(100)	85	(100)	12	(100)	10	(100)	162	(100)	1.751	(100)

de Amsel [28], aunque nuestra prueba tiene una rentabilidad diagnóstica ligada al estado de enfermedad. En cuanto a *Candida* spp., se sitúa como el segundo microorganismo más frecuente en el global del estudio, también a costa de las mujeres, donde fue el segundo más aislado en muestras de exudado vulvo-vaginal; esto se corresponde con los datos epidemiológicos de otros estudios pues es el principal agente responsable de vulvovaginitis infecciosas en nuestro medio, así como el más sospechado clínicamente. Ambos encontrados en edades entre 27-34 años, con una media de 30 años, y en el caso de *G. vaginalis*, a pesar de que no se considera una ITS, se observa

que su sobrecrecimiento (vaginosis bacteriana) aumenta con el número de parejas sexuales o por un compañero sexual nuevo en el mes previo [1].

En cuanto a *M. hominis*, fue el tercer microorganismo más frecuente en nuestro estudio y el tercero de los aislados en mujeres, donde fue el principal causante de cervicitis (presente en 109 muestras de exudado endocervical, un 14,83%); seguido de, también más frecuente en mujeres, *U. urealyticum* (75; 10,20%). Con estos datos podemos decir que, entre las mujeres, la causa más frecuente de uretritis es

la no gonocócica. En el varón, *U. urealyticum* fue el segundo microorganismo más frecuente después de *N. gonorrhoeae* y por delante de *C. trachomatis*, por lo que obtuvimos que las uretritis más frecuentes en el varón fueron las gonocócicas y que, entre las no gonocócicas, *C. trachomatis* y *U. urealyticum*. Estos datos coinciden con los de otros estudios en los que se concluye que, en las uretritis no gonocócicas, aumentan las causadas por microorganismos diferentes de *C. trachomatis*, aunque este sigue siendo el principal [13]. Así mismo, *C. trachomatis* también está implicado en proctitis infecciosa, sobre todo en varones homosexuales y mujeres, y en relación con prácticas sexuales sin protección, donde es la cuarta etiología más frecuente en nuestro medio. Algunas series de casos en la literatura determinan una media de edad en torno a los 26-30 años y en torno a un 40% de los casos presentan coinfecciones con otros patógenos relacionados con prácticas sexuales no seguras [29, 30].

Las infecciones por VHS-1 fueron más frecuentes que por VHS-2, lo cual confirma la tendencia que recoge la OMS y estudios recientes de un aumento de infecciones genitales por VHS-1, tradicionalmente causante de la infección oral [31]. Como posibles explicaciones para este cambio de tendencia, se incluyen los cambios en las prácticas sexuales, sin poder descartar cambios en la patogenicidad viral, así como un retraso en el contacto con el VHS-1 en la infancia que hace a los adultos más susceptibles a desarrollar la infección [32]. En la literatura se describe que estas infecciones por VHS-1 se producen sobre todo en mujeres jóvenes con una edad media de 26 años, y VHS-2 de 34 años, en nuestro estudio 25 y 33 años, respectivamente [18].

Respecto a la sensibilidad de *N. gonorrhoeae* obtuvimos que los antibióticos más activos fueron cefotaxima y cefixima, con un 98% y un 100% de sensibilidad respectivamente, seguidos de azitromicina, que lo fue un 84,15%, mientras que ciprofloxacino presenta el mayor porcentaje de resistencia, con un 50,6%. Al comparar los resultados entre los dos años, obtuvimos que la resistencia a ciprofloxacino aumentó, lo cual difiere de los datos publicados por el European Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme (Euro GASP) en 2015 y 2016, donde informan de una estabilización en la resistencia. Azitromicina tuvo resistencias similares en ambos años, lo cual, sí coincide con los datos de estabilidad entre 2015 y 2016, aunque este estudio describe un menor porcentaje de resistencias, 7,1% y 7,5%, respectivamente [33]. En cuanto a penicilina, con un 11,54%, es el fármaco con menor sensibilidad de nuestro estudio. Estos resultados se corresponden con las actuales recomendaciones de tratamiento, en las que las cefalosporinas de 3^o generación, como cefotaxima y cefixima son de primera línea, siendo azitromicina una alternativa, sola o en combinación con los anteriores, como tratamiento empírico de la infección gonocócica y por *C. trachomatis*, a la que suele ir asociada. Por otra parte, nuestro estudio ratifica la idea de que el uso de quinolonas no está recomendado por la alta tasa de resistencias que presenta [25].

Por último, respecto a las infecciones polimicrobianas, se encontraron en 84 episodios, siendo 42 en mujeres por *G. va-*

ginalis + *Candida* spp., la más frecuente con diferencia, y 18 por *C. trachomatis* + *N. gonorrhoeae*, en segundo lugar. Este tipo de infecciones son especialmente importantes ya que pueden justificar un fracaso en el tratamiento empírico, como se pone de manifiesto en un estudio realizado en Singapur, donde los pacientes en los que se asocia *M. genitalium* y *C. trachomatis*, presentan altas tasas de mutaciones de resistencia a macrólidos y fluoroquinolonas [34]. Esto también puede extrapolarse al resto de infecciones por varios patógenos y es que, en la práctica clínica, mediante anamnesis y exploración, no siempre es posible determinar o sospechar el agente etiológico causante de la patología, porque los síntomas son inespecíficos o escasos, y esto lleva a tratamientos empíricos de repetición que pueden no ser los adecuados. La consecuencia final es la aparición de recidivas y recurrencias, así como resistencias a los diferentes antimicrobianos, que representan un serio problema para el paciente y para el clínico [1]. A nivel del laboratorio, las actuaciones sindrómicas del microbiólogo clínico, actuando de acuerdo con el tipo de muestra y con ayuda del tipo de microorganismo solicitado por el clínico, pretenden resolver esta situación tan compleja.

La principal limitación es que no incluimos el estudio de la infección por *T. pallidum*, ya que, al proceder este estudio de pacientes de atención especializada, los datos podrían mostrar de manera errónea la prevalencia de los agentes que ocasionan lesiones ulcerativas infecciosas en nuestro medio ya que son atendidas, esencialmente, en Atención Primaria. Además, el diagnóstico de vaginosis no incluyó el estudio de una tinción de Gram. No obstante, al proceder nuestras pacientes de consultas de Atención Especializada, se trata de una población claramente sintomática que no ha respondido a terapias empíricas previas, presumiblemente.

Nuestro estudio muestra que el diagnóstico microbiológico de las infecciones genitales e ITS es más rentable en la mujer, siendo *G. vaginalis* y *Candida* spp. los microorganismos más frecuentes, mientras *N. gonorrhoeae* y *U. urealyticum* lo fueron en el varón. Las infecciones por VHS-1 fueron más frecuentes que por VHS-2, lo cual confirma la tendencia de un cambio en la epidemiología del herpes genital, siendo la edad media de los pacientes con VHS-1 positivos menor que la de los positivos para VHS-2. Finalmente, en nuestro medio, cefotaxima y cefixima mantienen una actividad excelente frente a *N. gonorrhoeae*, mientras ciprofloxacino y tetraciclina presentan tasas de resistencia superiores al 40%.

FINANCIACIÓN

Los autores declaran no haber recibido financiación para la realización de este estudio.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia. Diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Guía de Asistencia Práctica actualizada en enero de 2018. Disponible en www.sego.es.
2. Sorlózano-Puerto A, Esteban-Sanchis P, Heras-Cañas V, Fernández-Parra J, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Estudio prospectivo de la incidencia de patógenos genitales oportunistas y estrictos que crecen en medios de cultivo artificiales. *Rev Lab Clin*. 2018; 11:123-30. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2017.11.009>.
3. Antorn M, Casanova JM, González-Tallada X. Infecciones de transmisión sexual en la mujer. *FMC*. 2020; 27:38-43. DOI: 10.1016/j.fmc.2020.03.005.
4. De-la-Calle IJ, de-la-Calle MA. Bacterial vaginosis. *Med Clin*. 2009; 133:789-97. DOI: 10.1016/j.medcli.2008.11.043.
5. Cancelo-Hidalgo MJ, Beltrán-Vaquero D, Calaf-Alsina J, Campillo-Arias-Camisón F, Cano-Sánchez A, Guerra-Guirao JA et al. Protocolo Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia de diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Protocolo actualizado en 2012. *Prog Obstet Ginecol*. 2013; 56:278-84. <https://doi.org/10.1016/j.pog.2012.09.006>.
6. Cortés C, Casanova JM. Balanitis y vaginitis. *FMC*. 2020; 27:6-11. DOI: 10.1016/j.fmc.2019.11.007.
7. Young C, Argaez C. Management and treatment of cervicitis: A review of clinical effectiveness and guidelines. *CADTH*. 2017.
8. Taylor SN. Cervicitis of unknown etiology. *Curr Infect Dis Rep*. 2014; 16:409. doi: 10.1007/s11908-014-0409-x.
9. López-de-Munain J, Cámara-Pérez MM, Imaz-Pérez M, Pereda-Berroeta J, López-Azcarreta I, Muñoz-Sánchez J et al. Chlamydia trachomatis re-infection in Spain: A STI clinic-based cohort study. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2017; 35:165-73. doi: 10.1016/j.eimc.2016.08.011.
10. López-de-Munain J. Epidemiology and current control of sexually transmitted infections. The role of STI clinics. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019; 37:45-9. DOI: 10.1016/j.eimc.2018.10.006.
11. Calatrava-Hernández E, Foronda-García-Hidalgo C, Gutiérrez-Fernández J. Resistance, molecular characterization and viability of *Neisseria gonorrhoeae* recent clinical isolates. *Med Clin (Barc)*. 2021; 156:249-250. doi: 10.1016/j.medcli.2020.01.007.
12. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. 8th Edition. 2014.
13. Fairhead CEL, Hampson A, Dwyer-Hemmings L, Vasdev N. Is non-*Chlamydial* non-gonococcal urethritis associated with significant clinical complications in men? A systematic review. *Curr Urol*. 2020; 14:1-13. doi: 10.1159/000499266.
14. Foronda-García-Hidalgo C, Liébana-Martos C, Gutiérrez-Soto B, Expósito-Ruiz M, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Prevalence among males from the general population of agents responsible of not ulcerative genital tract infections, assisted in specialized care. *Rev Esp Quimioter*. 2019; 32:545-50. PMID: 31642639. PMID: PMC6913070.
15. Vázquez F, Otero L, Ordás J, Junquera ML, Varela JA. Up to date in sexually transmitted infections: Epidemiology, diagnostic approaches and treatments. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2004; 22:392-411. doi: 10.1016/s0213-005x(04)73123-7.
16. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo L. Infecciones de transmisión sexual. *Harrison. Manual de Medicina*. 20e. 2018.
17. Organización Mundial de la Salud. Virus del herpes simple. OMS. 2020. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>.
18. Magdaleno-Tapial J, Hernández-Bel P, Valenzuela-Oñate C, Ortiz-Salvador JM, García-Legaz-Martínez M, Martínez-Domenech Á, et al. Genital infection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in Valencia, Spain: A Retrospective Observational Study. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2020; 111:53-58. <https://doi.org/10.1016/j.adengl.2019.12.008>.
19. Caballero-Mateos AM, López de Hierro-Ruiz M, Rodríguez-Domínguez M, Galán-Montemayor JC, Gutiérrez-Fernández J. Co-infection by lymphogranuloma venereum and *Haemophilus parainfluenzae* during an episode of proctitis. *Gastroenterol Hepatol*. 2018; 41:107-9. DOI: 10.1016/j.gastrohep.2016.12.007.
20. López-Vicente J, Rodríguez-Alcalde D, Hernández Villalba L, Moreno Sánchez D, Lumberas Cabrera M, Barros Aguado C. Proctitis como forma de presentación del linfogranuloma venéreo, una entidad emergente en los países desarrollados. *Rev Esp Enferm Dig*. 2014;106: 59-62. <http://dx.doi.org/10.4321/S1130-01082014000100011>.
21. Ruiz-Olivares M, Foronda-García-Hidalgo C, Sanbonmatsu-Gámez S, Gutiérrez-Fernández J. Recent prevalence among females from the general population of agents responsible for sexually transmitted infections and other genital infections. *Aten Primaria*. 2020; 52:799-801. doi: 10.1016/j.aprim.2019.11.009.
22. Jordan JA, Durso MB. Real-time polymerase chain reaction for detecting bacterial DNA directly from blood of neonates being evaluated for sepsis. *J Mol Diagn*. 2005; 7:575-81. doi: 10.1016/S1525-1578(10)60590-9.
23. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 08.0.2018. https://eucaast.org/eucaast_news/news_singleview/?tx_ttnews%5Btt_news%5D=248&tcHash=91e3ef09a79b333746462d8854ee016d.
24. CLSI. Documento M100-S26. 2018. https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/*.
25. Godoy P. Introducción. Epidemiología y prevención de las infecciones de transmisión sexual. *FMC*. 2020; 27:1-5. DOI: 10.1016/j.fmc.2020.03.001.
26. European Centre for Disease Prevention and Control. *Chlamydia* infection. Annual epidemiological report. 2016. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/chlamydia-infection-annual-epidemiological-report-2016>.
27. Carrillo-Ávila JA, Serrano-García ML, Fernández-Parra J, Sorlózano-Puerto A, Navarro-Marí JM, Stensvold CR, et al. Prevalence and genetic diversity of *Trichomonas vaginalis* in the general population of Granada and co-infections with *Gardnerella vaginalis* and

- Candida* species. J Med Microbiol. 2017; 66:1436-42. doi: 10.1099/jmm.0.000603.
28. Navarrete W Paola, Domínguez Y Mariana, Castro I Erica, Zelman Z Raúl. Evaluación de los criterios de Nugent y Amsel para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Rev Méd Chile 2000; 128: 767-71. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872000000700009>.
 29. Svidler-López L, La Rosa L, Caffarena D, Santos B, Rodríguez Femerpin M, Entrocassi AC. Proctitis infecciosa por *Chlamydia Trachomatis*. Rev Argent Coloproct. 2019; 30:57-64.
 30. Zambra-Rojas MA, Bocic-Alvarez GR, Abedrapo-Moreira MA, Sanguinetti Montalva A, Llanos-Bravo JL, Azolas Marcos R. et al. Características epidemiológicas y manifestaciones clínicas de pacientes con proctitis infecciosa. Rev. Cirugía. 2021; 73(1) doi:10.35687/s2452-45492021001717.
 31. Macho-Aizpurua M, Imaz-Pérez M, Alava-Menica JA, Hernandez-Ragpe L, Lopez-de-Munain Lopez MJ, Cámara-Pérez MM et al. Characteristics of genital herpes in Bilbao (Northern Spain): 12-year retrospective study. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2021; en prensa. DOI: 10.1016/j.eimc.2020.04.014.
 32. Gupta R, Warren T, Wald A. Genital herpes. Lancet Lond Engl. 2007; 370:2127-37. doi: 10.1016/S0140-6736(07)61908-4.
 33. Day MJ, Spiteri G, Jacobsson S, Woodford N, Amato-Gauci AJ, Cole MJ et al. Stably high azithromycin resistance and decreasing ceftriaxone susceptibility in *Neisseria gonorrhoeae* in 25 European countries, 2016. BMC Infect Dis. 2018; 18:609. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3528-4>
 34. Hart T, Tang WY, Mansoor SAb, Chio MTW, Barkham T. *Mycoplasma genitalium* in Singapore is associated with *Chlamydia trachomatis* infection and displays high macrolide and fluoroquinolone resistance rates. BMC Infect Dis. 2020; 20:314. doi: 10.1186/s12879-020-05019-1.