

96
ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

EL PAPEL DE *Gardnerella vaginalis* EN LA
VAGINITIS INESPECIFICA

TRABAJO ESCRITO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MIREYA OSORIO ENCISO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
I. GENERALIDADES SOBRE <i>Gardnerella vaginalis</i>	
i. Taxonomia	4
ii. Características microscópicas	9
iii. Propiedades culturales	9
iv. Propiedades bioquímicas	12
II. LA VAGINITIS INESPECIFICA	21
III. DIAGNOSTICO DE LA VAGINITIS INESPECIFICA EN EL LABORATORIO	26
IV. TRATAMIENTO DE LA VAGINITIS INESPECIFICA	29
CONCLUSIONES	31
BIBLIOGRAFIA	33

INTRODUCCION

En la mujer adulta, la vagina es lubricada constantemente por líquidos procedentes de tres fuentes: el moco producido en el epitelio columnar endocervical, el líquido de trasudación de las paredes vaginales y la secreción de las glándulas sebáceas de Bartholin. Bajo condiciones normales, estos líquidos hialinos -los cuales drenan a través de la vagina- son conocidos genéricamente como "leucorrea fisiológica" (4, 23).

En contraste, la "leucorrea patológica" se define como un flujo trasvaginal, no hemático ni hialino, y constituye uno de los problemas que se presenta con mayor frecuencia dentro de la población femenina de cualquier edad (4, 23).

Generalmente, el flujo vaginal normal contiene elevadas concentraciones de ácido láctico asociadas a la prevalencia de lactobacilos y estreptococos en la mucosa genital (23). Sin embargo, en la vaginitis inespecífica, el lactato se encuentra disminuido mientras que el succinato, acetato, butirato y propionato se elevan notablemente. Dicho fenómeno se debe a la predominancia de *Gardnerella vaginalis* -especie que produce parte del succinato- y de ciertas bacterias anaerobias tales como *Bacteroides sp* -que también libera esa sustancia-, *Peptococcus sp* y *Propionibacterium sp* - que sintetizan

propionato- (35, 38).

Cabe señalar que aun existen numerosas controversias sobre el verdadero papel de *Gardnerella vaginalis* en la vaginitis inespecífica. No obstante, las evidencias sugieren su participación y el presente trabajo describe los aspectos microbiológicos más destacados de esta especie, subrayando aquellos en los que se basa su identificación en el laboratorio clínico y, desde luego, los que se relacionan más directamente con su probable etiología en el padecimiento.

OBJETIVOS

- Revisar la clasificación taxonómica de *G. vaginalis*, la cual ha originado una serie de controversias y cambios consecuentes.
- Describir las principales características bioquímicas de *G. vaginalis*, con el objeto de poder diferenciar a esta especie de otras bacterias cuyas propiedades microscópicas y culturales son considerablemente similares.
- Establecer la relación que existe entre *G. vaginalis* y la vaginitis inespecífica.
- Describir los aspectos más relevantes del tratamiento de elección para la vaginitis inespecífica.

I. GENERALIDADES SOBRE *Gardnerella vaginalis*

i. Taxonomía

En 1953, Sidney Leopold aisló en agar-sangre humana de Casman un bacilo Gram negativo, pleomórfico, inmóvil y no capsulado, a partir de muestras de varones que presentaban signos de prostatitis y de secreciones vaginales de pacientes que manifestaban la sintomatología clásica de cervicitis; además, recuperó al microorganismo de la orina del 45 % de las parejas sexuales de mujeres en cuya vagina se había comprobado su existencia. En este sentido, como el germen en cuestión originaba colonias pequeñas y transparentes que provocaban hemólisis, el investigador sugirió que pertenecía al género *Haemophilus* debido a que, además, no se le había podido aislar anteriormente en otro medio y su morfología microscópica era semejante a la de sus miembros (20, 40). Cabe señalar que antes de que Leopold difundiera esta información, Curtis (1914), Blinik (1949) y Aoki (1952) ya habían reportado la existencia de esta bacteria en los genitales humanos (21).

Posteriormente, en 1955, Gardner y Dukes atribuyeron la vaginitis bacteriana a un bacilo pequeño que presentaba características muy similares al descrito por Leopold, al cual

denominaron *Haemophilus vaginalis*, en virtud de sus requerimientos nutricionales y su morfología microscópica (8, 21, 26, 38); mientras esto acontecía en los Estados Unidos, Grooten y Wurch llegaban a las mismas conclusiones en Francia (40).

En 1963, Zinnemann y Turner establecieron que el verdadero género al que pertenecía el microorganismo era *Corynebacterium* y que su nombre correcto debería ser el de *Corynebacterium vaginale* (40); para ello, sometieron a diversos análisis a 4 cepas, entre las cuales 2 de *H. vaginalis* les habían sido proporcionadas por Dukes. Así, compararon sus características con otras cepas de *Corynebacterium parvum* y, tras llevar a cabo el trabajo, reportaron lo siguiente:

"Las supuestas cepas de *H. vaginalis* difieren del género *Corynebacterium* sólo en que aquéllas son catalasa negativa; sin embargo, éste incluye a la especie *C. phocae* que también es catalasa negativa; en medios óptimos (Gelosa Chocolate y suero espeso de Roux), incubados bajo condiciones adecuadas (10 % de O_2 y 10 % de CO_2), las 6 cepas no sólo sobrevivieron cuando menos 5 días sino que, además, sus características microscópicas resultaron similares a *C. parvum*; inclusive, las 6 se manifestaron constantemente como Gram positivas, mostrando granulos metacromáticos y la agrupación presente en

Corynebacterium; por otro lado, ninguna de estas desarrollo en Levinthal ni requirió para desarrollar los factores V -dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD)- o X -hemina- (40); además, está comprobado que todas las especies de este género pueden cambiar su afinidad al Gram" (5, 8, 23, 25).

Lo postulado por Zinnemann y Turner ya antes había sido vislumbrado en parte por Edmunds (1959 y 1960) y por Lapage y, a quienes en 1970 apoyaban la decisión de denominar *Corynebacterium vaginale* a este microorganismo se incorporaron Dunkelberg y cols. De hecho, en el mismo trabajo en el que estos lo establecieron, trataron de incluir algunos estudios inmunológicos, pero llegaron a la conclusión de que aunque Redmond y Kotcher reportaron que diferentes cepas del microorganismo compartían un antígeno común -el cual no cruzaba con especie alguna de *Haemophilus*-, la serología no era utilizable por no contarse con sueros confiables (10, 40).

Por otra parte, debido a que también se generó una gran controversia sobre la afinidad de este bacilo respecto a la tinción de Gram, empezaron a realizarse numerosos estudios con microscopía electrónica para esclarecer esta situación. El primer trabajo fue efectuado por Reyn y colaboradores en 1966 (30); en este se comparó la estructura de la pared celular del supuesto *H. vaginalis* con la de otras 5 especies;

Eutrybacterium rettgeri, *Corynebacterium diphtheriae* var *mitis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Neisseria haemolytica* y *Haemophilus influenzae*, llegándose a la conclusión de que el microorganismo analizado era Gram positivo. Sin embargo, en 1971 y 1972, Criswell empleó la misma cepa analizada previamente por Reyn y reportó que su pared celular semejaba considerablemente a la de Gram negativos; lo anterior se desprende tanto de experimentos efectuados mediante microscopía electrónica como del análisis de su composición bioquímica (13).

En la actualidad, se sabe que la pared celular de *Gardnerella vaginalis* es laminada, y contiene N-acetil-glucosamina, 6-desoxitalosa -no arabinosa-, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, lisina, metionina, prolina, serina, treonina y triptófano -pero no los ácidos diaminopimélico y teicoico- (25).

La tabla 1 contiene las características utilizadas para diferenciar a los géneros *Corynebacterium*, *Haemophilus* y *Gardnerella* (25).

No obstante, a la fecha aun existen diferencias en cuanto a la clasificación que, relacionada con el Gram, debe asociarse al microorganismo; se menciona que, durante las primeras 8 a 12 h de incubación, éste es Gram positivo aunque, en general, ya se

acepta que su Gram es variable (19, 31, 35). En cuanto a la ubicación taxonómica de la especie, se ha decidido considerar los trabajos de Greenwood y Pickett, los cuales demostraron que aquella presenta diferencias genéticas evidentes (distinto contenido G + C y ausencia de hibridación de su DNA con el de otras especies) con respecto a algunos de los microorganismos con los que se le relacionaba: *H. aphrophilus*, *H. paraphrophilus*, *H. influenzae*, *H. parainfluenzae*, *S. pneumoniae* y *P. multocida*. De esta manera, se coincidió en establecer un nuevo género y, como reconocimiento a uno de sus primeros descubridores, se decidió denominar a este microorganismo: *Gardnerella vaginalis*, asignación con la que se le encuentra descrito en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (5, 8, 13, 22, 25).

Tabla 1. Comparación entre los tres géneros bacterianos involucrados (25).

	<i>Corynebacterium</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Gardnerella</i>
Afinidad al Gram	+	-	-
Prueba de la catalasa	+	-	-
Arabinosa en pared celular	+	-	-
Requerimiento de factores X y V	-	+	-
% de G-C	52-68	38-42	42-44
Hibridación del DNA	Solo con <i>Corynebacterium</i> .	Solo con <i>Haemophilus</i>	Solo con <i>Gardnerella</i>

De acuerdo a lo antes mencionado, es recomendable que cuando se requiera investigar bibliográficamente lo concerniente a la vaginitis inespecífica, se efectúe la correspondiente revisión de la literatura, considerando que *H. vaginalis*, *C. vaginalis* y *G. vaginalis* son un mismo microorganismo.

ii. Características microscópicas

G. vaginalis posee la forma de un bacilo pleomorfo cuyas dimensiones varían de 0.3 a 0.6 μ por 1 a 1.2 μ ; su reacción a la tinción de Gram es variable y presenta gránulos metacromáticos, los cuales resultan más evidentes mediante la tinción de Albert (16, 22, 26, 31); puede manifestar células individuales, pero generalmente se encuentra en pares unidos por los extremos (formando ángulos), o bien en empalizadas o produciendo estructuras similares a letras chinas; por otra parte, es no capsulada, inmóvil y no esporulada (13, 18, 19, 35).

iii. Propiedades culturales

Este microorganismo se considera delicado en cuanto a sus requerimientos nutricionales; se ha demostrado que necesita para desarrollarse: peptonas, 5 vitaminas del complejo B (tiamina, riboflavina, ácido nicotínico, biotina y ácido

folico), purinas y pirimidinas, su pH óptimo varía entre 6.0 y 6.5, si bien debe considerarse que su crecimiento es mínimo a 4.5 y nulo a 8.0 y que, cuando por efecto de la fermentación el pH del medio en el que se cultiva desciende a aproximadamente 4.0 unidades, pierde comúnmente su viabilidad (13, 19).

a. Medios de cultivo

Para su aislamiento, se emplean medios sólidos tales como el CNA (agar Columbia adicionado de colistín y ácido nalidixico) (33, 34), el PSD (agar peptona-almidón-dextrosa) (11), el agar almidón (37) y otros que contienen sangre humana, entre los que destacan: el Casman (el cual se prepara utilizando como base al agar extracto de carne con triptosa y proteosa peptona, a la que también se adicionan almidón de maíz, ácido nicotínico, PABA y glucosa) (1, 25, 37), el agar V (agar Vaginalis, utilizando como base agar Columbia, adicionado de proteosa peptona No. 3 Difco y 5 % de sangre humana) (11, 26, 28, 32, 37, 39), HB (agar sangre humana en forma de bicapa, el cual contiene en la parte inferior 7 ml de CNA y, en la superior, 14 ml del mismo contenido pero enriquecido con 5 % de sangre humana) (27, 37), el HBT (que corresponde al HB adicionado de 1 % de proteosa peptona No. 3, 0.0075 % de Tween 80, colistina (10 mg/ml) y ácido nalidixico (15 mg/ml)) (5, 17, 37) y el agar chocolate (26, 37).

Entre los medios citados, los trabajos de investigación demuestran que el más sensible y confiable es el HBT, seguido por el HB. En el primero, además de haberse obtenido el mejor índice de cultivos positivos de *G. vaginalis*, la hemólisis característica de esta especie se presenta en aproximadamente el 99 % de los casos y, como esta propiedad suele considerarse como presuntiva en la detección del microorganismo, su exactitud y precisión son importantes en la identificación; sin embargo, debe subrayarse que si bien la proteosa peptona y el tween 80 favorecen que el fenómeno hemolítico se manifieste consistentemente, la concentración de este último no debe exceder de 0.0075 %, para que no se origine la hemólisis debido a su acción tensoactiva. Estos trabajos comparativos efectuados por Totten, proporcionaron también la información de que los dos medios señalados (HBT y HB) son más eficientes que el agar chocolate y, a su vez, que éste es mejor que el agar V; de hecho, Yong detectó que, en este último, 9 de 117 cepas no originaron hemólisis. Por su parte, Smith reportó que el agar V aportaba resultados similares al agar almidón, el cual constituye una modificación del PSD (27, 37, 39).

b. Condiciones de incubación

Una vez que se han inoculado los medios elegidos para el aislamiento de *G. vaginalis*, las placas se incuban a 37°C (aunque el bacilo desarrolla desde los 25 hasta los 42°C) (13);

el tiempo varia según el medio utilizado: en HBT y HB son suficientes 48 h, mientras que en el resto se puede requerir hasta de 72 h (5, 21, 37); por lo que respecta a la atmósfera adecuada, debe considerarse que este microorganismo es facultativo aunque se han detectado algunas cepas anaerobias estrictas (13, 18); sin embargo, está comprobado que desarrolla óptimamente en presencia de 5 a 10 % de CO₂ (20, 35, 40).

c. Características macroscópicas

Las colonias de *G. vaginalis* son muy pequeñas, transparentes, circulares, convexas, suaves, de bordes regulares y su diámetro fluctúa entre 0.1 y 0.5 mm dependiendo del medio empleado (11, 13, 18). Su capacidad para producir hemólisis completa sólo se manifiesta consistentemente en los medios preparados con glóbulos rojos de origen humano y, con menor frecuencia, en los que los contienen de conejo; no hemolizan la sangre de carnero ni la de caballo (1, 10, 11, 16, 18, 19, 37, 40).

En los medios semisólidos, no crece en la superficie ni en las zonas cercanas a ella y, más bien, desarrolla en las proximidades del fondo; en los medios líquidos produce turbidez y sedimento.

iv. Propiedades bioquímicas

El empleo de pruebas bioquímicas para identificar a *G. vaginalis* puede considerarse como un recurso altamente confiable, no obstante que, a la fecha, sigue manifestandose una gran controversia en cuanto a los resultados obtenidos. Por ejemplo, mientras en un estudio de 63 cepas el 100 % fermentó dextrosa, en otro, solo 2 de 16 produjeron ácido via la degradación de este carbohidrato; asimismo, acerca de la sacarosa, algunos investigadores reportaron que 4 de 5 cepas utilizan este sustrato, mientras otros publicaron que el 100 % de 67 no lo hizo. Los datos contradictorios no sólo incluyen a la fermentación de carbohidratos, ya que lo mismo sucede en cuanto a la hemólisis, la reducción de nitratos a nitritos y la capacidad de desarrollar en presencia de telurito (14).

Afortunadamente, lo expuesto parece relacionarse con la diferente composición de los medios o soluciones empleadas para investigar las correspondientes características; Bailey, Voss y Smith compararon los resultados proporcionados por 4 diferentes técnicas utilizadas para investigar reacciones de fermentación en *G. vaginalis*; dichos autores emplearon métodos convencionales y los sistemas API-20A, RFT (prueba rápida para fermentación de sustratos amortiguados) y Minitek, obteniendo una clara disparidad en sus resultados; en general, los obtenidos en los sistemas Minitek y RFT son positivos en más ocasiones que en el API-20A; por otra parte, 12 de las 32 cepas fermentaron lactosa mediante al menos un método, lo cual no

corresponde con lo propuesto por algunos otros investigadores que sugieren que, para identificar al microorganismo, solo se requiere analizar la utilización de un grupo de 4 carbohidratos: glucosa, maltosa, almidón y lactosa (2, 18, 39).

La caracterización bioquímica de *G. vaginalis* se viene investigando exhaustivamente desde 1979; por ese año, Greenwood, Pickett y otros publicaron interesantes artículos cuyos contenidos se enfocaron hacia la determinación de las pruebas mediante las cuales se lograra diferenciar a este bacilo de otras bacterias presentes en las muestras de secreciones vaginales. Los 2 primeros realizaron un análisis de 78 cepas sometidas a 104 exámenes; los resultados más sobresalientes se resumen en las 2 siguientes tablas (14).

Las pruebas de fermentación se realizaron empleando como medio de cultivo una mezcla de estas sustancias: proteosa peptona No. 3 (2 %), rojo de fenol (0.002 %), agar (0.5 %) y el carbohidrato en turno (1 %), pH = 7.3.

De acuerdo con la tabla siguiente, entre los datos que podrían aplicarse para caracterizar a *G. vaginalis*, dada su constancia, se cuentan: la utilización de dextrosa, galactosa y ribosa, las cuales fueron fermentadas por más del 90 % de las cepas, y la de arbutina, celobiosa, rafinosa, ramnosa, inositol, salicina, manitol y sorbitol, ya que ninguna cepa las empleó.

Tabla 2. Reacciones de fermentación de carbohidratos en *G. vaginalis* (14, 27).

Carbohidrato	Resultados	% de Positivas
L-Arabinosa	-	9
D-Arabinosa	-	5
Arbutina	-	0
Celobiosa	-	0
Dextrosa	+	97
Dextrina	+	100
Fructosa	+	81
Galactosa	+	96
Inositol	-	0
Inulina	-	40
Lactosa	-	14
Maltosa	+	100
Manosa	+	82
Manitol	-	0
Rafinosa	-	0
Ramnosa	-	0
Ribosa	+	99
Salicina	-	0
Sorbitol	-	0
Sacarosa	-	10
Trehalosa	-	4
Xilosa	-	15
Almidón	+	100

Tabla 3. Características de *G. vaginalis* (14, 27).

Prueba	Resultados	% de Positivas
Oxidasa	-	0
Catalasa	-	0
Indol	-	0
Ureasa	-	0
ONPG	+	53
Voges-Proskauer	-	0
Acido fenil-pirúvico	-	0
Lipasa	+	43
Hidrolisis de:		
Hipuricato	+	92
Tributirina	-	0
Tween 80	-	0
Caseína	-	0
Almidón	+	100
Esculina	-	0
Gelatina	-	0
Crecimiento a:		
pH 4	-	0
pH 8	+	95
25 grados C	+	85
30 grados C	+	100
42 grados C	+	100
NO ₃ a NO ₂	-	0
Hemólisis en:		
Sangre humana	+	96
Sangre de carnero	-	0
Descarboxilasas		
Lisina	-	0
Ornitina	-	0
Gluconato	-	0
Lecitinasa	-	0
Crecimiento en medio selectivo:		
Telurito (0.01 %)	-	0
Cloruro de Sodio (3 %)	-	0
Bilis (1 %)	-	0
MacConkey	-	0
Thayer Martín	-	0

Es significativo el hecho de que ninguna de las cepas haya reducido nitratos y, sobre todo, que no se obtuviera desarrollo en presencia de teluritos, ya que algunos autores han reportado que no los reducen pero si pueden crecer en medios que lo contienen (18, 37).

En la misma publicación, los autores sugieren un pequeño grupo de pruebas tendiente a efectuar la identificación presuntiva del microorganismo, sin que el analista tenga que enfrentarse a una gran carga de trabajo:

Tabla 4. Identificación de *G. vaginalis* (32).

Prueba	Resultados	% de Positivas
Oxidasa	-	0
Catalasa	-	0
Hemólisis en:		
Sangre humana	+	96
Sangre de carnero	-	0
Hidrólisis del hipurato	+	92

De esta manera, el bacilo podría diferenciarse con cierta confiabilidad efectuándose lo siguiente: las colonias que muestren la hemólisis difusa de tipo beta en agar V y no manifiesten dicha capacidad litica en sangre de carnero se resiembran en agar chocolate y, una vez obtenido el desarrollo, de este medio se recoge el inóculo para efectuar las pruebas de

la oxidasa, catalasa e hipuricasa y para realizar la tinción de Gram. Mediante la aplicación de esta técnica, otros microorganismos catalasa y oxidasa negativas que presenten Gram variable o sean Gram negativos (*H. aphrophilus*), así como los que por alguna razón pudieran parecerlo (*Corynebacterium*, *Bifidobacterium* y *Lactobacillus*), no se confundirán con *G. vaginalis*. Los autores aducen que en este grupo de pruebas no se incluye a la hidrólisis del almidón, pues aunque el 100 % de las cepas de *G. vaginalis* lo degrada, existen otras bacterias que también lo hacen (14, 20).

En 1982, Piot y cols publicaron "Identificación de *G. vaginalis*"; en este artículo determinaron que (27, 32):

- a. El mayor problema concerniente a *G. vaginalis* consiste en su diferenciación de otros bacilos Gram variable, catalasa negativa y pobremente clasificados, los cuales se aíslan con cierta frecuencia en muestras de mujeres que pueden padecer o no vaginitis inespecífica.
- b. Es erróneo establecer que la sola investigación de la morfología microscópica, la catalasa y las propiedades culturales (hemólisis difusa tipo beta y las características coloniales) manifestadas en el HBT, identifica al 90 - 98 % de las cepas de *G. vaginalis* en el laboratorio clínico.

c. Se requiere de otras pruebas de índole bioquímico para no incurrir en el error de reportar como *G. vaginalis* a otros microorganismos.

Por lo tanto, además de comprobar que los microorganismos analizados son catalasa negativa y presentan las típicas morfologías microscópica y cultural, el analista debe recurrir a las pruebas de alfa-glucosidasa, beta-glucosidasa, hidrólisis del hipurato y del almidón y comprobar la presencia de hemólisis beta en HBT (20).

Sin embargo, Yong y Thompson sugieren el empleo de una microtécnica rápida para identificar a *G. vaginalis*, basada en el análisis de las cepas sometidas a las pruebas de fermentación de almidón, hidrólisis del hipurato y la utilización de la rafinosa; esta última se tomó en cuenta debido a que, en trabajos anteriores, se comprobó que era negativa para esta especie en forma consistente. Esta técnica, denominada RM SHR (Microtécnica Rápida para Almidón, Hipuricasa y Rafinosa), confiere agilidad a la obtención de resultados (debido a que las pruebas se leen en 1 h) y puede considerarse muy confiable ya que, según los estudios, confirmó la presencia de *G. vaginalis* en 390 de 396 cepas testigo (12, 14, 20, 39).

De acuerdo a lo anterior, puede establecerse que, si bien el microorganismo no ha sido del todo caracterizado en cuanto a su

comportamiento bioquímico, actualmente es posible diferenciarlo con alto índice de confiabilidad de los bacilos similares que están presentes en las muestras de pacientes en las que se investiga la presencia de vaginitis inespecífica.

II. LA VAGINITIS INESPECIFICA

Aunque a la fecha existen informes acerca de que *G. vaginalis* se relaciona con septicemias postparto, sepsis neonatal, ruptura prematura de membranas, partos prematuros y bacteriuria vesical, el padecimiento con el que generalmente se asocia es la vaginitis inespecífica (1, 3, 8, 17, 19, 22, 29). Esta se define como una lesión vaginal en la que no participan *Trichomonas vaginalis* ni *C. albicans*, caracterizada por escasos síntomas de irritabilidad y una pequeña o nula inflamación de la mucosa vaginal que origina serias alteraciones en la ecología microbiana; por lo general, se acepta que una paciente padece de vaginitis inespecífica cuando manifiesta dos o más de las siguientes características (4, 5, 9, 24, 33, 36, 38):

- a. Descarga vaginal homogénea. Es una secreción delgada, homogénea y adherente a las paredes de la vagina. Su cantidad varía entre escasa, moderada o abundante.
- b. Fluido vaginal con pH mayor de 4.5. Gardner y Duker encontraron que el pH vaginal de mujeres normales abarca un rango de 3.8 a 4.2, mientras que las afectadas por vaginosis bacterianas tienen un pH mayor de 4.5.

c. Descarga vaginal con olor fétido, que desprende un penetrante olor a pescado (proveniente de cantidades anormales de cadaverina y putrescina que provienen de los aminoácidos producidos por *G. vaginalis*) al serle adicionada una pequeña cantidad de solución de KOH al 10 %.

d. Células "guita" (también denominadas "clave") en la descarga vaginal. Dichas células pertenecen al epitelio de la mucosa vaginal y se encuentran recubiertas por un gran número de bacilos pequeños Gram variable, de tal manera que los bordes de la célula no se aprecian con nitidez (5, 23, 24, 25, 36).

Otro parámetro que varía en la enfermedad -respecto al estado normal- es la relación succinato / lactato (S/L): en las mujeres afectadas es de 0.4 o mayor, encontrándose como flora predominante *G. vaginalis* y bacterias anaerobias productoras de ácidos orgánicos de cadena corta (9, 17, 23, 34, 36).

Sin embargo, se sigue considerando que la epidemiología, etiología, patofisiología y el óptimo tratamiento de esta enfermedad no están totalmente comprendidos; de hecho, algunos investigadores cuestionan que este microorganismo sea el único causante de la afección, ya que se le ha aislado en un 40 a 50 % de las mujeres sanas (8, 38). De lo anterior se desprende la

posibilidad de que *G. vaginalis* forme parte de la flora vaginal y solo desarrolle abundantemente en mujeres con vaginosis bacteriana (mas de 10^7 UFC / ml) (8, 9, 31, 36, 38), aunque otra hipótesis establece que es el agente etiológico del cuadro pero requiere la coparticipación de bacterias anaerobias tales como *Peptococcus*, *Bacteroides*, *Mobiluncus*, *M. hominis* y *Ureoplasma urealyticum* para iniciar el proceso patológico (5, 17, 20, 28, 33, 38).

Con el objeto de dilucidar la situación, han surgido numerosas publicaciones interesantes: en 1964, Delaha y cols efectuaron un trabajo en el que observaron que el 74 % de las muestras contenían a *G. vaginalis*. Posteriormente, Akerlund y Mardh aislaron al bacilo en el 31.4 % de 70 pacientes enfermas y en ninguno de sus 28 controles sanos. Otros autores reportan una relación persistente entre *G. vaginalis* y la vaginitis inespecífica, pues obtuvieron un índice marcadamente mayor de aislamiento a partir de mujeres afectadas que de las sanas que investigaron (1, 11).

El deseo de dejar establecido si realmente el bacilo desempeña un papel decisivo en la patología, ha llevado a los investigadores a inocular voluntarias humanas sanas, previa comprobación de que no albergan microorganismos patógenos del tracto genital; así, Gardner y Dukes provocaron experimentalmente el padecimiento en 11 de 15 mujeres

inoculandoles el material proveniente de pacientes que habían exhibido los clásicos signos clínicos y de las cuales se había aislado a *G. vaginalis*: las voluntarias afectadas desarrollaron la sintomatología en un lapso comprendido entre los 7 y 14 días y, en todas ellas, la bacteria predominante en los cultivos fue *G. vaginalis*. Sin embargo, en otro estudio, la inoculación vaginal con cultivos puros del microorganismo rara vez produjo los síntomas de la infección (6).

En concreto, no obstante los numerosos estudios realizados para establecer la etiología de la vaginitis inespecífica, ésta aun no se ha definido. Entre los informes obtenidos más recientemente, en los años 80's apareció la descripción de una bacteria curva, anaerobia estricta y móvil, clasificada dentro de un nuevo género: *Mobiluncus*, a la cual diversos autores acreditan el origen de la enfermedad (36).

El citado género *Mobiluncus* presenta 2 especies: *M. multaxis* y *M. curtisi*; ésta última se divide, a su vez, en 2 subespecies: *curtisi* y *homestii*. Microscópicamente, se trata de bacilos Gram negativos, aislados o en pares, que aparentan "alas en vuelo" y en ocasiones forman letras S muy características; además, presentan extremos puntiagudos, son no esporulados y móviles a través de múltiples flagelos, aunque también giran alrededor de su propio eje simulando al sacacorcho. En cuanto a su aislamiento en el laboratorio, estos microorganismos

desarrollan en agar sangre, gelosa chocolate y agar sangre CNA, bajo condiciones de anaerobiosis total, a 35 - 37°C y en un lapso de 3 a 5 días. Sus colonias varían entre 2 y 3 mm de diámetro, con bordes regulares, convexas, translúcidas y de aspecto suave (36).

Spiegel detectó a estos bacilos curvos via un frotis al Gram directo del fluido vaginal en 31 de 61 mujeres (51 %) con vaginitis inespecífica. En su trabajo no observó a *Mobiluncus* en ninguno de sus 42 controles sanos, por lo cual estableció que su presencia se asocia exclusivamente a secreciones vaginales patológicas y a los signos de la vaginitis inespecífica (38).

Por la razón anterior, en la actualidad se estudia intensivamente el papel de *Mobiluncus* en el padecimiento y, de hecho, ya existen algunos autores que lo reconocen como el agente etiológico del mismo, descartando la posibilidad de que *G. vaginalis* sea el causante (38).

III. DIAGNOSTICO DE LA VAGINITIS INESPECIFICA EN EL LABORATORIO

En el laboratorio clínico, el análisis correspondiente inicia con la observación cuidadosa de la vulva y las secreciones intralabiales ya que, aunque *G. vaginalis* no inflama los tejidos o lo hace escasamente, por lo regular aparece una descarga blanco-grisácea que se somete a las siguientes evaluaciones:

a. Medición del pH

En este caso, se debe evitar el muestreo en la mucosa cervical, dado que ésta generalmente posee un pH elevado: 7 a 7.5 (17, 38).

b. Prueba de las aminas

Chen demostró que al adicionarse a la secreción una gota de KOH al 10 %, se desprende un penetrante olor a pescado, provocado por las aminas putrecina y cadaverina que se generan. Este examen tiene un valor predictor de 76 % según lo ha demostrado Bomp, quien lo considera muy confiable en la detección de la vaginosis bacteriana (7, 17, 29, 38).

c. Observación en fresco

En la preparación en fresco se observa escasez de neutrofilos y la presencia de las células patognómicas (guía o clave), descritas anteriormente (9, 17, 19, 31, 33, 38).

d. Análisis de frotis al Gram

Las extensiones teñidas al Gram, son de gran ayuda en el diagnóstico de la vaginosis bacteriana. Spiegel así lo ha reportado, puntualizando que son muy sensibles y específicas (17, 29, 38).

e. Detección de su relación succinato / lactato

Dada su elevada sensibilidad (86 %) y especificidad (97 %), se le concede a ésta un valor predictor de 90 % (17, 34).

Aunque se puede afirmar que el diagnóstico presuntivo de la vaginitis por *Gardnerella vaginalis* se basa en la observación de las células patognómicas y el penetrante olor a pescado característicos de las secreciones, para llevar a cabo la confirmación correspondiente es de gran importancia el cultivo, el cual se efectúa empleando hisopos estériles -preferentemente de alginato- para efectuar la recolección de la muestra; en el caso de que ésta no sea procesada en los minutos siguientes a su obtención deben emplearse medios de transporte, tales como el Stuart adicionado de proteosa peptona # 3 al 1 % (33). Para

realizar el cultivo, deben utilizarse los medios HBT o HB por ser los más confiables y, una vez incubados durante 48 horas a 37 grados C en atmosfera de 5 a 10 % de CO₂ se procede a investigar la presencia de las colonias características productoras de hemólisis beta difusa (1, 5, 11, 20, 34, 35, 37, 40); en caso de que se encuentren presentes, se preparan frotis al Gram para verificar que se trata de bacilos cortos Gram negativos y, de ser así, se resiembran en placas de gelosa chocolate que se incubarán en las condiciones antes descritas. En este sentido, una vez obtenido el desarrollo, se vuelven a analizar mediante frotis al Gram y se efectúan las pruebas bioquímicas basadas en la fermentación de carbohidratos tales como: maltosa (positiva), manitol (negativa) y rafinosa (negativa) y las pruebas de la catalasa (negativa), oxidasa (negativa), hidrólisis del hipurato (positiva) e hidrólisis del almidón (positiva) (17, 27).

IV. TRATAMIENTO DE LA VAGINITIS INESPECIFICA

En general, la terapia que proporciona los mejores resultados se basa en el uso de metronidazol en dosis orales de 500 mg, dos veces diarias, durante siete días. Lo anterior apoya la teoría de que en la vaginitis inespecífica participan, además de *G. vaginalis*, otras bacterias anaerobias (23, 28); cabe señalar que por lo regular este microorganismo es resistente a eritromicina, clindamicina y cefotaxima (12, 15, 36, 38).

Otros regímenes alternativos menos adecuados consisten en la administración de 500 mg de amoxicilina, tres veces al día durante 7 días o, en su defecto, en el empleo de 500 mg de ampicilina, 4 veces diariamente. Estos esquemas son menos eficaces, pero pueden utilizarse en mujeres embarazadas y otras pacientes para quienes está contraindicado el metronidazol (1, 7, 12, 21, 22, 23, 31, 38).

Es importante subrayar que la dosis de 2 g de metronidazol que se emplea para tratar la tricomoniasis es menos eficaz contra la vaginitis inespecífica por *Gardnerella vaginalis* que el citado plan de 7 días con dicho medicamento (28, 38).

No obstante, se ha reportado que el uso de tinidazol en una

dosis única de 2.0 mg origina curación clínica y bacteriológica en el 100 % de los casos (26) y que el tianfenicol es otro medicamento que promete la erradicación de *G. vaginalis* en una sola aplicación, bastando 2.25 mg (15).

CONCLUSIONES

1. *G. vaginalis* es un bacilo Gram variable que microscópicamente semeja a otros microorganismos presentes en los fluidos vaginales.
2. Para identificar a *G. vaginalis* en el laboratorio, la colonia investigada debe presentar hemólisis beta en agar sangre humana y no en gelosa sangre de carnero, ser catalasa positiva, no fermentar manitol y rafinosa, utilizar la maltosa e hidrolizar hipurato y almidón.
3. *G. vaginalis* es el microorganismo más abundante en las muestras de secreciones vaginales emitidas por las pacientes con vaginitis inespecífica; sin embargo, también está presente en cerca del 50 % de mujeres sanas. Por tal motivo, se considera que en esta entidad también participan otras bacterias anaerobias tales como *Mobiluncus sp.*, *Peptostreptococcus sp* y *Bacteroides sp.* las cuales pueden contribuir a la positividad de la prueba de aminas durante la vaginitis inespecífica.
4. Para diagnosticar la vaginitis inespecífica deben considerarse los signos clínicos y, en las secreciones, la

prueba de las aminas, la elevación del pH, la observación de células guía, la relación S/L y la detección microbiológica de *G. vaginalis*.

5. El tratamiento más adecuado de la vaginitis inespecífica se basa en la administración oral de metronidazol, aunque se espera que en breve este se sustituya por algún medicamento que sólo requiera de una dosis.

BIBLIOGRAFIA

1. Akerlund H., Mardh P.A.: Isolation and identification of the lower genital tract. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1974; 53: 85-90.
2. Bailey R.K.: Factors affecting isolation and identification of *Haemophilus vaginalis* (*Corynebacterium vaginale*). J. Clin. Microbiol., 1979; 9: 65-71.
3. Bailey W.R., Scott E.G.:
DIAGNOSTICO MICROBIOLOGICO
Editorial Medica Panamericana, 6a. Edicion
Buenos Aires, 1983.
4. Conde G.C.: Cervicovaginitis: una vision panoramica. Infectologia, 1985; 2: 30-31.
5. Conde G.C., Calderon J.E., Fernandez H.A., Leon M.E., Reyes S.J.: Caracteristicas microbiologicas de la vaginosis bacteriana. Ginecol. Obstet. Mex., 1987; 55: 74-79.
6. Criswell B.S., Ladwig C.L., Gardner H.L., Dukes C.D.: *Haemophilus vaginalis*: vaginitis by inoculation from culture. Obstet. Gynecol., 1969; 33: 195-199.
7. Csango P.A.: Tratamiento de la vaginitis por *Gardnerella*

- vaginalis: una comparación de pluampicilina con el metronidazol. Ann. Clin. Res., 1985; 17: 76-80.
8. De la Cruz, G.R.: Vaginitis inespecífica y *Gardnerella vaginalis*. Infectologia, 1985; 4: 2.
 9. De la Cruz G.R.: Diagnóstico rápida de infecciones cervicovaginales. Infectologia, 1985; 5: 115-121.
 10. Dunkelberg W.D.: Method for isolation and identification of *Corynebacterium vaginale*. Appl. Microbiol., 1970; 19: 47-52.
 11. Estivalet S.T., Rocha M.T., Herrera F.: The clinical importance and laboratory diagnosis of *Gardnerella vaginalis* in patients with vaginal infections. Rev. Microbiol. Sao Paulo, 1989; 20: 5-9.
 12. Friedrich E.G.: Vaginitis. Am. J. Obstet. Gynecol., 1985; 152: 247-251.
 13. Greenwood J.R., Prickett M.J.: Transfer of *Haemophilus vaginalis* Gardner and Dukes to a new genus, *Gardnerella*: *G. vaginalis* (Gardner and Dukes). Comb. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 1980; 30: 170-178.
 14. Greenwood J.R., Pickett M.J.: Salient features of *Haemophilus vaginalis*. J. Clin. Microbiol., 1979; 9: 200-204.
 15. Hubrechts J.M.: Susceptibilidad de *Gardnerella vaginalis* al

- tianfenicol: experiencia clinica con vaginitis no especifica. Sex. Trans. Dis., 1984; 4: 456-459.
16. Kelsey M.C., Hahn G.K.: Non - specific (anaerobic) vaginitis: relevance of clinical and laboratory studies in a practice population. Journal of the Royal College of General Practitioners, 1987; 37: 56-58
17. Krohn M.A., Hillier L.S., Eschenbach D.A.: Comparison of methods for diagnosis bacterial vaginosis among pregnant women. J. Clin. Microbiol., 1989; 27: 1266-1271.
18. Krieg N.R., Holt J.G.:
BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY
Williams and Wilkins, 9th. Edition
Baltimore, 1984.
19. Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J.:
MANUAL DE MICROBIOLOGIA CLINICA
Editorial Medica Panamericana, 4a. Edición
Buenos Aires, 1987.
20. Lien E.A., Hillier S.L.: Evaluation of the enhanced rapid identification method for *Gardnerella vaginalis*. J. Clin. Microbiol., 1989; 27: 566-567.
21. Linaldi A., Urbina J.R.: Vaginitis por *Gardnerella vaginalis* en niñas y adolescentes. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex., 1988; 45: 101-103.

22. Lotfi H., Doti N., Vargas L.H., Olcese E.: Flujo genital. Relación con *Gardnerella vaginalis*, correlación entre diferentes métodos diagnósticos. *Obstet. Ginecol. Lat.*, 1984; 2: 140-143.
23. Martínez R.H.: Aislamiento y caracterización de *Gardnerella vaginalis* y su asociación con microorganismos anaerobios en pacientes con leucorrea. Tesis del IPN, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, 1988.
24. O'dowd T.C., West R.R.: Clinical prediction of *Gardnerella vaginalis* in general practice. *Journal of the Royal College of General Practitioners*, 1987; 37: 59-61.
25. Pavón S.Y.: Incidencia de *Gardnerella vaginalis* en pacientes con vaginitis inespecífica. Tesis I.M.S.S. Facultad de Química, UNAM, 1986.
26. Peixoto, S. Costa, L.F. and Tomioka, E.: Diagnostic procedures and therapeutic assay with tinidazole in leukorrhoea caused by *Gardnerella vaginalis*. *J. Bras. Ginec.*, 1984; 94: 291-294.
27. Plot P., Van Dyck E., Totten P.A., Holmes K.K.: Identification of *Gardnerella (Haemophilus) vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1982; 15: 19-24.
28. Purdon A., Hanna J.H., Morse P.L., Engelkirk P.G.: An evaluation of single dose metronidazole treatment for

Gardnerella vaginalis. Obstet. Gynecol., 1988; 64: 271-274.

29. Reed B.D., Zazove P.: Differentiation of *Gardnerella vaginalis*, *Candida albicans* and *Trichomonas vaginalis* infections of the vagina. J. Fam. Pract., 1989; 28: 673-680.
30. Reyn A., Birch-Andersen A., Lapage S.P.: An electron microscopy study of thin sections of *H. vaginalis* and some possibly related species. Can. J. Microbiol., 1966; 12: 1125-1136.
31. Rosenfeld W.D., Clark J.: Vaginosis bacteriana. Clinicas Pediátricas de Norteamérica, 1989; 3: 528-538.
32. Shaw C.E., Forsyth M.E., Bowie W.: Rapid presumptive identification of *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*) human blood agar media. J. Clin. Microbiol., 1981; 14: 108-110.
33. Skarin A., Sylwan J.: Vaginal lactobacilli inhibiting growth of *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* and other bacterial species cultured from vaginal content of women with bacterial vaginosis. Acta Path. Microbiol. Scand., 1986; 94: 399-403.
34. Spiegel C.A., Amsel R., Eschenbach D., Schoenknecht F., Holmes K.K.: Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. N. Engl. J. Med., 1980; 303: 601-606.
35. Thomason J.L., Schreckenberger P.C., Sellacy W.N.:

- Clinical and microbiological characterization of patients with nonspecific vaginosis associated with motile, curved anaerobic rods. *J. Infect. Dis.*, 1984; 149: 801-807.
36. Torres A.I., Conde C.G.: *Mobiluncus* ¿nuevo patógeno microbiano?. *Infectologia*, 1986; 2: 44-49.
37. Totten P.A., Anset R., Hale J., Piot P., Holmes K.K.: Selective differential human blood bilayer media for isolation of *Gardnerella (Haemophilus) vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.*, 1982; 15: 141-147.
38. Weaver Ch.H., Mengel M.B.: Bacterial vaginosis. *J. Fam. Pract.*, 1988; 27: 207-215.
39. Yong D.C.T., Thompson J.S.: Rapid microbiological method for identification of *Gardnerella (Haemophilus vaginalis)*. *J. Clin. Microbiol.*, 1982; 16: 30-33.
40. Zinneemann K., Turner G.C.: The taxonomic position of *Haemophilus vaginalis (Corynebacterium vaginale)*. *J. Pathol. Bacteriol.*, 1963; 85: 213-219.