

Nº 30
261



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MEXICO**

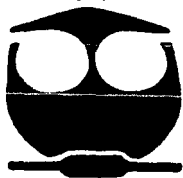
FACULTAD DE QUIMICA

**Mobiluncus UN GENERO BACTERIANO
RECIENTE ASOCIADO A LA ETIOLOGIA
DE LA VAGINOSIS BACTERIANA.**



EXAMEN DE TÍTULOS
PARA PRESENTACIÓN

TRABAJO ESCRITO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
BLANCA CELIA CASTILLO SANDOVAL



MEXICO, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

CONTENIDO:

INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	3
CAPITULO I GENERALIDADES.....	4
Taxonomía.....	5
Morfología.....	7
Composición química y antigénica.....	9
Identificación.....	11
-Requerimientos nutricionales.....	11
-Morfología microscópica.....	12
-Medios de cultivo.....	13
-Condiciones de incubación.....	13
-Morfología de las colonias.....	14
-Pruebas bioquímicas.....	17
-Pruebas alternativas para la identificación de <i>Mobiluncus</i>	23
Susceptibilidad de <i>Mobiluncus</i> <i>sp.</i> a los agentes antimicrobianos.....	27
CAPITULO II. PAPEL PATOGENO.....	29
Tratamiento.....	35
CAPITULO III. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.....	39
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFIA.....	47

INTRODUCCION.

Uno de los problemas ginecológicos de indudable relevancia, han sido los cuadros de vaginosis bacteriana (VB), llamada así debido a que se relaciona principalmente con bacterias y no con hongos o protozoarios, además de que no se puede atribuir la causa del síndrome a un solo agente bacteriano. A pesar de un sinnúmero de estudios para establecer la etiología de la VB no ha sido posible definirla, de ahí que se continúen las investigaciones día con día. Entre los informes de estos estudios, aparece la descripción de una bacteria curva, anaerobia estricta, móvil con flagelos subpolares y paredes celulares en multicapas, de Gram variable, y que se relaciona con la VB. Spiegel y colaboradores han determinado que estos bacilos curvos son totalmente diferentes a cualquier otro género conocido, conduciendo así a la creación de un nuevo género llamado *Mobiluncus* cuyo nombre deriva de *mobilis* que significa capaz de moverse y *uncus* que significa gancho.

A pesar de que este género se ha denominado recientemente, estos microorganismos se reconocieron inicialmente en los fluidos vaginales desde 1815, aunque se aislaron por primera vez en 1913, a partir del endometrio de una mujer con fiebre postparto.

Las especies de *Mobiluncus* se asocian con la vaginosis bacteriana, puesto que se han aislado en el 82% de las mujeres con este síndrome.

Su papel en los procesos infecciosos sigue pobremente definido, aunque el aislamiento del microorganismo a partir de sitios normalmente estériles y su asociación durante la presencia de embarazos riesgosos sugieren su potencial patógeno.

La frecuencia reportada de las especies de *M. fungus* es probable que sea menor que su frecuencia actual real, dada su naturaleza exigente y la dificultad resultante para recuperarlas a partir de especímenes clínicos.

OBJETIVOS

Llamar la atención del médico acerca de la posible participación del recientemente designado género *Mobiluncus* en la enfermedad genital conocida actualmente como vaginosis bacteriana, de indudable relevancia en la etiología polimicrobiana aceptada por la mayoría de los investigadores.

Describir al género *Mobiluncus* spp. dentro de un contexto microbiológico y bioquímico.

Mencionar las pruebas convencionales con que se cuenta para poder identificar a estos microorganismos, pese a su difícil cultivo y aislamiento, así como los avances tecnológicos que sugieran pruebas con un alto grado de sensibilidad y especificidad que puedan ser confiables y accesibles a cualquier laboratorio para permitir establecer un diagnóstico acertado en un corto tiempo.

Mencionar algunos de los estudios realizados para determinar la respuesta de estos microorganismos a varios antimicrobianos.

CAPITULO I. GENERALIDADES.

En 1875, Kronig fue el primero en informar el aislamiento de microorganismos tipo vibrio, que se observaron en fluidos vaginales. Se informa que, en 1897, se demostró su presencia en secreciones vaginales por microscopia. Fue hasta 1913 cuando se señaló haber aislado a estos bacilos de vagina y cervix a partir de un caso de infección puerperal. En 1921 se demostró la presencia de estas bacterias en mujeres con signos de vaginitis. En 1947, investigadores checoslovacos informaron de algunos aislamientos y en 1948 se hizo patente la elevada frecuencia de su detección en la flora vaginal de mujeres que concurrían a una clínica por problemas de infertilidad. Hasta 1954 fue que se empezaron a describir algunas de sus características en una serie de diez cepas aisladas. En 1957, Gardner y Duker también mencionan la presencia de vibrios en las secreciones vaginales patológicas (18,29).

En años más recientes el interés por estos microorganismos curvos volvió a renacer en muchos investigadores, así se citan a Duriux y Dublanchet en 1980, Phillips y Taylor en 1982, Skarin y Mårdh en 1982, Sprott y colaboradores en 1982, 1983 y 1984, Blackwell y colaboradores en 1983, Spiegel y colaboradores en 1980 y 1983; con todo lo anterior, nuevamente se confirma su presencia en las secreciones vaginales (29,30).

Spiegel y col, después de muchos estudios, llegaron a la conclusión de que las bacterias curvas móviles en forma de bastoncillos son, definitivamente de interés, puesto que se asocian a la vaginitis no específica, que más adelante se va a conocer como vaginosis bacteriana; sin embargo, las descripciones publicadas previamente habían sido incompletas e inconsistentes y su posición taxonómica era incierta, por lo que se propusieron caracterizar y estudiar las cepas que tenían, comparándolas con cepas similares aisladas por otros investigadores, así como también, con especies fenotípicas semejantes de otros autores, e igualmente con las fenotípicamente similares de géneros ya descritos (26).

Después de todas estas investigaciones, se decidió que dichos bacilos curvos son totalmente diferentes a cualquier otro género conocido, proponiendo la creación del género *Mobiluncus* y la ubicación de dos especies, *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris*. Los resultados de esto se presentaron en el 83^{avo} Encuentro Anual de la Sociedad Americana de Microbiología, en Nueva Orleans, Louisiana en 1983 (26).

Taxonomía.

Spiegel y Roberts, en base a reacciones bioquímicas y estudios de homología de ADN realizados en 1984, colocaron a los bacilos curvos dentro de un nuevo género: el género *Mobiluncus*

distinguiéndose dos especies:

Mobiluncus curtisii y *Mobiluncus mulieris*

posteriormente, en base al mismo tipo de estudios, *M. curtisii* se dividió en:

M. curtisii subsp *curtisii* y *M. curtisii* subsp *homolesii*

Las bacterias vaginales curvas en forma de bastoncillo son diferentes a los miembros de la familia *Propionibacteriaceae*, ya que ni *Propionibacterium* spp, ni *Subacterium* spp producen ácido succínico o tienen flagelos polares y *Propionibacterium* spp tiene un contenido de guanina-citosina G+C, de 59 a 66 moles %.

Existen algunos géneros previamente descritos, que producen succinato y que pueden también diferenciarse de los microorganismos curvos en forma de bastoncillos, presentes en la vagina, de la manera siguiente: *Actinomyces* spp son móviles y tienen contenidos de G+C de 60-63 moles %. Otros bacilos, *Anaerobiospirillum succiniciproducens* son microorganismos largos (20µ), espirales, con un contenido G+C de 44 moles %. *Bacteroides* spp puede ser inmóvil y tener flagelos peritricos. *Campylobacter* spp es asacarolítico, oxidasa positiva, con un flagelo polar y contenido G+C de 30-35 moles %. *Succinomonas amyloxylicus* no son curvos y tienen un solo flagelo polar. *Succinococcus sextuscolvens* tiene un solo flagelo polar y *Volvella* spp es asacarolítica con un solo flagelo polar, un crecimiento estimulado por formato-fumarato y contenidos de G+C de

42 a 49 moles %.

Estudios de homología, mostraron menos de 1% de homología en el ADN, en comparación con trece cepas examinadas, incluyendo a *Actinomyces bovis*, *Actinomyces odontolyticus*, *Anaerovibrio lipolytica*, *Anaerobiospirillum succiniciproducens*, *Campylobacter fetus* subsp *venerealis*, *Campylobacter concisus* y *Melenomonas spulligena*.

Posteriormente a estos estudios se propuso el nuevo género *Mobiluncus*, para los aislamientos de microorganismos procedentes de muestras vaginales. Las características de estos aislamientos lo excluyen de las familias *Actinomycetaceae* y *Propionibacteriaceae*, siendo más similares a la *Bacteroidaceae*.

Intentativamente se colocaron las dos especies del nuevo género *Mobiluncus* en esta familia *Bacteroidaceae*, la cual incluye géneros de microorganismos curvos, anaerobios, en forma de bastoncillo, Gram negativos, con flagelos polares y productores de ácido succínico (10,26).

Morfología.

En el género *Mobiluncus*, cuyo nombre deriva de *mobiles* que significa capaz de movimiento activo y *uncus* que significa gancho curvo, como ya se mencionó, pueden distinguirse dos tipos

morfologicos mediante la tinción de Gram modificada por Kopeloff, utilizando fucsina básica como colorante de contraste:

- Un bacilo de tamaño pequeño, de 1.7 μ de longitud media y de un ancho menor de 0.5 μ , variable al Gram, que corresponde a *Mobiluncus curtisii* denominado así, en honor a A. H. Curtis quien fue el primero en aislarlo (9,26,29).

- Un bacilo grande, de una longitud media de 2.9 μ y de un ancho menor de 0.5 μ , Gram negativo, que corresponde a *Mobiluncus mulieris* de *mulieris* que significa mujer.

Estos bacilos pueden presentarse aislados o en pares, dando la apariencia de "alas en vuelo" o "gaviota", algunas veces se encuentran formando una S característica. Son bacilos con extremos puntiagudos, no esporulados y móviles por múltiples flagelos que generalmente se encuentran presentes subterminalmente en uno de los extremos de la célula bacteriana. Cuando se examina mediante microscopia de luz una preparación en fresco, puede observarse que sus movimientos son en ondas, muy rápidos y de corta duración con dirección en línea recta o ligeramente arqueada; para vez se mueven fuera del campo visual y muestran una actividad de "sacacorcho" o en espiral muy característica, de tal manera que pareciera como si uno de los extremos del bacilo estuviera atado a las células epiteliales o al portaobjetos, zafándose después para moverse de acuerdo a su patrón ondulante, antes de detenerse

nuevamente (26,29).

Composición química y antigénica.

Las especies descritas de *Mobiluncus* que se han encontrado en la vagina humana asociadas con vaginosis bacteriana (vaginitis no específica, término antiguo), presentan un contenido de Guanina + Citocina de 49 a 52 moles % como se determinó por el método de desnaturalización térmica (17,26).

Micrografías electrónicas han revelado paredes celulares en multicapa, carentes de una membrana externa. La delgadez de la capa de peptidoglicanos explica la tendencia de los microorganismos a teñirse de manera Gram negativa (26). No obstante, la ausencia aparente de una membrana exterior, sugiere que estos microorganismos se asemejen más cercanamente a los Gram positivos. Con esto se explica la variabilidad de las reacciones al Gram que presentan y que se han descrito paredes en multicapas similares, tanto para los Gram negativos como para los Gram positivos (10,26)

Se han examinado y comparado las proteínas y los perfiles proteicos antigénicos de 114 aislamientos clínicos de *Mobiluncus*, con las cepas tipo de la American Type Culture Collection (ATCC), por electroforesis en gel de acrilamida dodecil sulfato de sodio. En base a los perfiles proteicos de las células tipo, fue posible

determinar los estándares para cada especie.

Las cepas de *M. curusii* subsp. *curusii* y *M. curusii* subsp. *hemelesii* poseen cada una, bandas de proteínas de 82 kDa, se ha observado que la más prominente es para la primera, mientras que la banda de 80 kDa es la principal para la segunda especie. Adicionalmente, cada una contiene una banda proteica distinta de 30 kDa; sin embargo, se tinte menos intensamente para *M. curusii* subsp. *hemelesii*.

La especie *M. mulleris* tiene una banda proteica principal de 92 kDa y una banda distinta más angosta de 99 kDa, pero carece de la proteína de 30 kDa vista en *M. curusii* (19,26).

Todas las cepas contienen numerosas proteínas menores entre 35 y 70 kDa y solo una molécula distinta de 47 kDa, con dobletes a 50 y 39 kDa.

En base a la comparación de estos perfiles proteicos de cepas tipo con aislamientos clínicos, es posible identificar al microorganismo a nivel de especie, hasta en un 82% de dichos aislamientos (19,26).

Las cepas ATCC de *Mobiluncus* y los aislamientos clínicos con perfiles proteicos típicos, han mostrado los siguientes perfiles antigénicos con sueros homologos: *M. curusii* subsp. *curusii*

contiene nueve proteínas antigénicas principales de 82,80,74,70, 63,60,54,47 y 30 kDa. *M. curvisili* subsp *hamelesii* muestra ocho de estas proteínas, de 82,80,74,70,60,54,47 y 30 kDa y tiene tres antígenos adicionales de 65,45 y 43 kDa.

Por lo tanto, *M. mulleris* y *M. curvisili* subsp *curvisili* poseen, cada uno, dos proteínas antigénicas del mismo tamaño molecular (47 y 80 kDa), mientras que *M. mulleris* y *M. curvisili* subsp *hamelesii* tienen tres proteínas antigénicas con los mismos tamaños aparentes (45,65 y 80 kDa). Sin embargo, la presencia de proteínas de pesos moleculares idénticos en diferentes especies y subespecies, no demuestra que compartan estructuras y funciones similares.

Se ha demostrado la existencia de moléculas antigénicas específicas de especie entre 68 a 74 kDa en *M. curvisili* y de más de 90 kDa en *M. mulleris* (19).

Identificación.

-Requerimientos nutricionales

Las bacterias del género *Mobiluncus* desarrollan en medios sólidos y líquidos, los primeros se emplean para el aislamiento y los segundos para ciertas pruebas de biotificación (18). Los medios de cultivo ensayados difieren según los autores, pero todos

ellos coinciden en la necesidad de utilización de enriquecimientos con sueros o con sangres de bovino, conejo o caballo y con la adición al medio de inhibidores para controlar la flora acompañante, los más utilizados, son colistina y ácido nalidixico, aunque también se ha mencionado el uso de metronidazol y gentamicina (23,27,30).

-Morfología microscópica

Los microorganismos *M. curusli*, referidos como "formas cortas" (SF), se consideran de 1 a 2 μ de largo, con variación al Gram, en forma de coma, resistentes a metronidazol y dan resultados positivos en las pruebas bioquímicas diferenciales que se citarán en el inciso correspondiente. En contraste, los microorganismos referidos como *M. multicus*, se señalan como "formas largas" (LF), se consideran, como ya se mencionó, de 3 a 4 μ de longitud, Gram negativos, curvos, sensibles al metronidazol y dan resultados negativos en tres de las reacciones bioquímicas. Sin embargo, Vetere y col reportan que un análisis cuidadoso de la literatura, muestra que no todas las cepas cumplen con estos requisitos, por lo que se hará mención a formas cortas típicas (TSF) y formas largas típicas (TLF), para aquellas que si los llenan y, como formas cortas atípicas (ASF) y formas largas atípicas (ALF), para las que no lo hacen (30).

La morfología de las colonias tanto de las formas cortas como

de las largas de *Mobiluncus*, ya sean típicas o atípicas, son indistinguibles, pero la hemólisis franca se ve más desarrollada comunmente alrededor de las colonias de las formas largas que de las cortas (10,30).

-Medios de cultivo

Se reporta que la tasa de desarrollo o el tamaño de las colonias de las diversas cepas de las especies de *Mobiluncus* no difiere en los medios sólidos. El crecimiento en los medios líquidos siempre es más pobre y lento que en los sólidos (18,30).

Los medios base más empleados son, el agar cerebro corazón suplementado con hemina, vitamina K y sangre, agar Schadler, agar Columbia, agar *Brucella*, Az, Todd Hewitt, DST, suplementados con suero fetal de bovino, sangre o suero equino (18,26). Además de los medios citados, también se pueden emplear el agar chocolate, agar BHI, medio Kik (0.6% de extracto de levadura, 2% de peptona con 5% de sangre de borrego o de conejo), agar sangre CNA y medio SA (agar CNA con 1.6% de sangre de conejo o de borrego, 2% de suero de conejo, 48 µg/ml de tindazol y 20 µg/ml de ácido nalidíxico (18,22,30).

-Condiciones de incubación

Según reportes de algunos investigadores, todas las cepas de

Mobiluncus crecen en condiciones de anaerobiosis a 33°C y a 37°C, pero no a 42°C, (26,30).

Recientemente se reporta la técnica de enriquecimiento en frío, la cual consiste en enfriar los especímenes, después de recolectarlos, durante aproximadamente 13 horas a 4-5°C; según los autores, esta técnica permite el aislamiento de *Mobiluncus* aun cuando los microorganismos estén presente en escasa cantidad, parece ser que el enriquecimiento en frío, disminuye el metabolismo de la flora competitiva a un nivel tal, que permite a *Mobiluncus* *opp* competir exitosamente con ellos, consecuentemente reportan haber observado un desarrollo más abundante que a temperatura ambiente (22).

Con respecto a la incubación al medio ambiente, no se reporta crecimiento sobre CBA (Columbia blood agar) aún después de subcultivos repetidos durante cuatro meses (30).

-Morfología de las colonias

Todas las cepas producen colonias transparentes muy pequeñas después de 10 días de incubación con 5% de O₂ en N₂. Otros investigadores reportan desarrollo del microorganismo formando colonias pequeñas de 2 a 3 mm, de bordes enteros, translúcidas, convexas y lisas, después de un periodo de incubación de 3 a 5 días en una atmósfera anaerobia húmeda (29). Algunos otros

reportan una atmósfera que contenga 80% de nitrógeno, 10% de dióxido de carbono y 10% de hidrógeno, como la más recomendable (9,30).

Vetere y col reportan que el crecimiento de las diversas cepas, tanto de las formas cortas como de las largas de *Mobiluncus*, se presenta en los medios de cultivo después de una incubación de 48 a 72 h y a pH de 6 a 7.2, mostrando un crecimiento muy escaso en dichos medios de cultivo a pH de 4, 4.5 y 5; el crecimiento es un poco más abundante en todos los valores de pH más altos que se probaron. En cualquiera de los casos no se observa diferencia en el tamaño de las colonias (30).

Debido a que en el síndrome de la vaginosis bacteriana la flora de la vagina cambia drásticamente, existe un incremento en el número de microorganismos no acidófilos, tales como *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma* y muchas bacterias anaerobias incluyendo a *Mobiluncus*. Desde hace tiempo se han estado obteniendo cultivos puros de *Mobiluncus spp* a partir de muestras, por dilución o por cultivo en caja, conteniendo bajas concentraciones de agentes antimicrobianos tales como ácido nalidixico y colistina. Estos procedimientos son bastante lentos, costosos y no selectivos.

Se ha demostrado por métodos de detección morfológica o por pruebas inmunológicas aplicadas a muestras clínicas, que el aislamiento de *Mobiluncus spp* a partir de dichas muestras, es

probablemente muy bajo en la mayoría de los estudios. Por lo tanto, son deseables métodos selectivos para cultivo (15).

Sin embargo, por otro lado, Pahlson y col proponen un método para mejorar el rendimiento del cultivo de *Mobiluncus* aprovechando la relativa resistencia a los álcalis, que detectaron en las especies de este género; así, después de someter a tratamiento alcalino cultivos puros de *M. curlii* (pH 12.0), los microorganismos sobrevivieron hasta después de 30 min, mientras que *M. multiens* sólo lo hace durante 5 minutos. Para incluir especies bacterianas representativas, todas las muestras probadas por este método, provenían de pacientes con vaginosis bacteriana; por lo tanto se incluyeron muestras con *Mobiluncus*. Se observó que la mayoría de las bacterias presentes en las muestras murieron en un corto tiempo. Solo en las que había presencia de *Mobiluncus*, los microorganismos persistieron durante el tratamiento y se encontraron después de 30 minutos. Esto demuestra que con este tratamiento previo al cultivo, se reduce el número de bacterias irrelevantes, lo que hace más fácil la detección de colonias de *Mobiluncus*, especialmente en muestras que las contienen en bajas cantidades. Haciendo una comparación entre el cultivo de las muestras clínicas después del tratamiento alcalino y el cultivo convencional, se reveló un rendimiento altamente mejorado durante el primero (15).

Una vez que se tienen las colonias aisladas, se debe hacer uso de las características propias de cada especie o subespecie para poderlas identificar. Así se mencionarán enseguida las:

-Pruebas bioquímicas

Las características siguientes las muestran ambas especies de *Mobiluncus*:

Hidrolizan el almidón, son sacarolíticas, oxidasa negativas, requieren suero de conejo al 2% para producir un desarrollo visible en el caldo peptonado y extracto de levadura. Crecen mejor en peptona-levadura suplementada con glucógeno y suero de conejo.

Con base en la capacidad de migración a través de agar blando CSS (medio Columbia suplementado con almidón soluble al 1%, rezasurina 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ y 2% de suero de conejo) y de la reducción de nitrato, las cepas de *M. curtiu* se subdividen en las dos subespecies anteriormente mencionadas *curtiu* y *homolesis*, que pueden diferenciarse de las de *M. multienis*, de acuerdo a los criterios mostrados en el cuadro No.1 (9,10,26,29).

Cuadro No. 1

CRITERIOS DIFERENCIALES DE *Mobiluncus* spp (26,29)

Características	<i>M. curvisii</i> subespecie <i>curvisii</i>	<i>M. curvisii</i> subespecie <i>hemelesii</i>	<i>M. mulieris</i>
Tamaño de las células	1.7 μ	1.7 μ	2.9 μ
Reacción al Gram	variable	variable	negativa
Estimulación por arginina	+	+	-
Amoniaco a partir de arginina	+	+	-
Hidrólisis de hipurato	+	+	-
Reacción de CAMP	débil	débil	fuerte
Produce > 1 meq de acetato/ml.	-	-	+
Acido a partir de glucógeno (pH<5.5)	-	-	+
Acido a partir de melobiosa (pH<6.0)	+(-)	+(-)	-
Reducción de nitrato	-	+	-(+)
Migración en agar blando	-	-	V

Nota: +(-) generalmente positivo, -(+) generalmente negativo
V variable

Algunas otras características bioquímicas, aunadas a las ya mencionadas en la Tabla No. 1 para estos microorganismos, incluyen:

Para *Moblituncus curisii* subsp *curisii*:

- Su crecimiento es estimulado por arginina.
- El almidón y el hipurato son hidrolizados en presencia de suero.
- La citrulina, ornitina y amoniaco se producen a partir de arginina.
- Son sacarolíticas, de débil reacción a pH de 5.5 a 6.5 a fuertemente a pH <5.5.

Los productos de fermentación a partir de glucógeno, incluyen:

succinato -- < 1 meq/100 ml

fumarato -- cantidades traza < 1 meq/100 ml

Produce las siguientes enzimas:

α glucosidasa -- 10-30 nmol

fosfatoamidasa -- < 5 nmol

leucina aminopeptidasa -- 5-10 nmol

El nitrato no se reduce a nitrito. Se produce una débil reacción de CAMP sobre agar *Biuella* suplementado con sangre de

borrego al 5%, en presencia de *Staphylococcus aureus* productor de β lisina (9,20,2b).

Para *Mobiluncus curisii* subsp *hemeleci*, las pruebas bioquímicas son similares a la otra subespecie, excepto en las siguientes:

- Las células no migran a través del agar suave.
- Son débilmente sacarolíticas (pH 5.5 a 6.5).

Los productos de fermentación de glucógeno en presencia de suero incluyen:

elementos traza de piruvato < 1 meq/100 ml
elementos traza de oxalacetato < 1 meq/100 ml

Entre las enzimas que producen, sobresale:

lipasa estearasa -- < 5 nmol

Reduce nitratos a nitritos.

Para *Mobiluncus mulieris* se menciona lo siguiente:

- Su crecimiento no está estimulado por arginina.
- No hidroliza el hipurato.

- A partir de arginina no produce citrulina, ornitina ni amoníaco.
- El almidón se hidroliza en ausencia de suero.
- Son fuertemente sacarolíticas.

Los productos de fermentación de glucógeno incluyen:

succinato -- > 1 meq/100 ml

acetato -- > 1 meq/100 ml

elementos traza de fumarato < 1 meq/100 ml

Entre las enzimas que produce están:

α glucosidasa 15 > 40 nmol

fosfatoamidasa < 5 nmol

leucina amidasa < 5 nmol

Se produce una fuerte reacción de CAMP sobre agar de *Brucella* suplementado con 5% de sangre de oveja, en presencia de *Staphylococcus aureus*. La reducción de nitrato a nitrito es variable, ya que sólo una de diez cepas probadas lo reducen (26).

Asimismo, a parte de las pruebas mencionadas, existen otras características bioquímicas que son variables para las diferentes especies y/o cepas (20,26,30).

Cuando se analizan los resultados, se encuentra que no todas

las cepas probadas muestran el comportamiento bioquímico descrito para cada especie o subespecie, por lo que se menciona la existencia de formas largas típicas (*M. mulierae*) y formas cortas típicas (*M. curtisii*) que son las que sí presentan dicho comportamiento bioquímico. La morfología celular y las características bioquímicas siguientes, son las diferencias más consideradas por los investigadores que han trabajado con *Mobiluncus spp.*: actividad de β galactosidasa, hidrólisis de arginina e hipurato y susceptibilidad a metronidazol (20).

Además, se han observado formas atípicas, tanto largas como cortas, consideradas bajo esta denominación -como ya se había mencionado anteriormente- debido a que no tienen el comportamiento esperado.

Un grupo de investigadores (30), reportan formas atípicas cortas que son morfológicamente iguales a las típicas, pero muestran características bioquímicas diferentes en una o más de las tres pruebas bioquímicas diferenciales. Lo mismo sucede para las formas atípicas largas. También se ha observado que algunas formas cortas muestran un perfil proteico de formas largas y viceversa.

A través de varios estudios, se vio que existe la posibilidad de que el género *Mobiluncus* pudiera dividirse en más de dos especies, ya que de acuerdo a sus resultados se sugiere que una

división categórica de los microorganismos en solo dos especies es insatisfactoria; sin embargo, aún son necesarios estudios posteriores para llegar a algo definitivo (20,30).

-Pruebas alternativas para la identificación de *Mobiluncus*

Debido a la dificultad de aislar a *Mobiluncus* a partir de los especímenes clínicos -debido al hecho de ser anaerobios estrictos, exigentes, que se encuentran en cultivos mixtos con otros anaerobios con los cuales compiten pobremente en los medios de cultivo y dan lugar a tasas de aislamiento subóptimas-, la prevalencia de las especies de *Mobiluncus* está pobremente definida y se requiere de pruebas alternativas que puedan superar, aunque sea en parte, las dificultades mencionadas (7).

* Anticuerpos monoclonales. Los anticuerpos monoclonales son altamente selectivos, pues poseen especificidades únicas para sus antígenos y son una herramienta potencialmente útil en la detección de estos microorganismos. Investigadores como Fohn y col reportan la producción de dichos anticuerpos monoclonales, específicos de especie y subespecie, contra *Mobiluncus curtisi* subsp *curtisi*, *M. curtisi* subsp *hemeleoi* y *M. mulieris*. Las células productoras de tales anticuerpos, pueden fusionarse con células plasmáticas malignas y formar células híbridas, esta fusión suele realizarse por la adición de polietilén glicol (7).

Las células malignas plasmáticas son pobres productoras de inmunoglobulina e incapaces de sobrevivir en los medios de cultivo seleccionados; sin embargo, después de la fusión se obtienen líneas de cultivo permanente, los híbridos celulares sobreviven y producen anticuerpos de una sola especificidad (anticuerpo monoclonal), cada híbrido secreta un anticuerpo homogéneo único (1,7).

También se han analizado por el método de inmunofluorescencia indirecta, con lo cual se mide la reactividad de las especies y cepas de *Mobiluncus*. Esta técnica se ha empleado para confirmar el diagnóstico clínico de vaginosis bacteriana, colectando las muestras del fluido vaginal de las pacientes (7).

* Hibridización de ADN. Debido a lo ya informado de las dificultades en el cultivo de *Mobiluncus*, y de que su aislamiento e identificación completa requiere de dos o casi siempre más semanas-, investigadores como Roberts y col, han estudiado la posibilidad de identificarlos mediante técnicas de hibridización por homología de ADN marcado con P^{32} en las bacterias obtenidas a partir de caldo o en suspensiones de exudados vaginales. lográndose identificar *Mobiluncus* mediante su ADN, aun en presencia de población mixta, en 2 a 7 días (1/).

* Otros métodos. Existen otras publicaciones, en las que los métodos empleados se basan en la detección de productos

metabólicos de los microorganismos, presentes en el fluido vaginal de las mujeres con vaginosis bacteriana. Por ejemplo, la cromatografía de gas detecta estos productos metabólicos. Cuando los lactobacilos son predominantes, el ácido láctico producido a partir de la glucosa por la ruta glicolítica, es el primer ácido orgánico de cadena corta que se produce. Entre las mujeres con vaginosis bacteriana, se pueden detectar succinato, acetato y, menos frecuentemente otros ácidos de cadena corta como propionato, butirato, e isobutirato. Se ha reportado una sensibilidad variable para este método, que va del 54% al 90% y una especificidad del 94% al 97%, comparada con el diagnóstico clínico (9,10).

Aún cuando se tienen informes de que la vaginosis bacteriana se caracteriza por un número exponencialmente grande de bacterias anaerobias, recientemente se ha usado a *Mobiluncus* spp como un marcador clínico para identificar a las pacientes con dicho padecimiento; sin embargo, existen pacientes con escasos o con ausencia de *Mobiluncus*, que también pueden tener la vaginosis (28).

Thomasen y col proponen una prueba de prolina amino peptidasa, para confirmar el diagnóstico de vaginosis bacteriana en pacientes con y sin *Mobiluncus* demostrados en la preparación húmeda o con tinción de Gram. La prueba se basa en la detección de la actividad enzimática, ya que la prolina amino peptidasa rompe el sustrato prolina β -naftilamina dando prolina y naftilamina,

esta última en forma libre, puede reaccionar con muchos colorantes de anilina para formar varios complejos coloridos (28).

Se ha reportado que una amplia variedad de bacterias y hongos producen amino peptidasa *in vitro* incluyendo algunos *Lactobacillus Mobiluncus* y *Candida*. Sin embargo, se ha observado un incremento de la actividad de prolina amino peptidasa en pacientes con vaginosis bacteriana (4,28), que tal vez se deba a un aumento tanto en el número como en los tipos de flora vaginal asociada al padecimiento, más que a la presencia de cualesquier agente etiológico. Para la prueba se inocula una muestra concentrada de la paciente, en placas de microtitulación, adicionando el sustrato prolina β -naftilamina, después de un periodo de incubación de 4 h a 35°C debidamente cubiertas para evitar la evaporación, se adiciona solución de sal de Garnet como indicador, protegiéndolo de la luz por ser inestable, los resultados deben leerse en 5 minutos sobre un fondo luminoso. Un color rojo o rosa es positivo y amarillo o anaranjado es negativo (28).

Esta prueba tiene un 81% de sensibilidad y un alto porcentaje de especificidad aun en muestras con escasos *Mobiluncus*. Inomason sugiere esta prueba como una alternativa fácilmente interpretable y que no requiere de equipo sofisticado o de entrenamiento especial para confirmar observaciones clínicas de la vaginosis. Otra ventaja de la amino peptidasa, es que las pruebas se pueden agrupar corriendo hasta 96 especímenes en una sola placa de

microtitulación en un periodo de 4 h, además de que la prueba es reproducible y fácil de leer tal como se describe; no obstante, se considera todavía en proceso de desarrollo y se continúan investigando factores que acorten el tiempo de investigación, así como la obtención de un color más estable (28).

Susceptibilidad de *Mobiluncus* spp a los agentes antimicrobianos.

Es importante conocer la susceptibilidad de *Mobiluncus*, con el objeto de identificar a los agentes que puedan ser útiles, por un lado para el desarrollo de un medio selectivo para facilitar su aislamiento y, por otro, para lograr un tratamiento eficaz del padecimiento causado por el microorganismo.

Estudios realizados por Spiegel, indican que *Mobiluncus* es susceptible a ampicilina, cefazolina, cefoxitina, cefalotina, cloramfenicol, clindamicina, imipenem, moxalactam, penicilina G, rifampicina, tobramicina, vancomicina y virginiamicina; todas las cepas probadas, excepto una, fueron susceptibles también a eritromicina y josamicina (23).

Son resistentes a colistina, cicloserina, ácido nalidixico y neomicina. La mayoría de las cepas de *M. curtisi* (bacilo corto) son resistentes a metronidazol. En cuanto a *M. mulieris*, se encontraron algunas cepas resistentes y otras susceptibles a este antimicrobiano.

Se menciona que al realizar pruebas de susceptibilidad a las especies de *Mobiluncus* frente a ampicilina, cefoxitina, cefalotina y moxalactam, se observa una marcada diferencia entre las dos especies, siendo más susceptible *M. curtisi* que *M. mulieris*, esta información es valiosa para escoger agentes selectivos para su aplicación *in vivo* e *in vitro*. Asimismo, eritromicina, metronidazol e hidroximetronidazol pueden servir para este mismo fin (23).

A pesar de que las cepas de *Mobiluncus* son susceptibles a los antibióticos β -lactámicos, la presencia de microorganismos productores de β -lactamasas en la vagina, los excluye para un uso efectivo de los mismos en el tratamiento de la vaginosis bacteriana.

Se ha encontrado también que el rojo de alizarina o el azul de Evans, son tinturas que en el laboratorio, pueden usarse para llevar a cabo una rápida diferenciación entre ambas especies, a diferencia de los procedimientos actualmente recomendados; no obstante son necesarios estudios posteriores. De otros agentes antimicrobianos probados, se encontró que el azul de Nilo A, mostró una mayor actividad contra *Gardnerella vaginalis* que contra *Mobiluncus spp.* La resistencia relativa de *Mobiluncus spp.* al metronidazol y tinidazol y, la inhibición selectiva de *G. vaginalis* por las bajas concentraciones del azul de Nilo A, pueden usarse para probar el desarrollo de un agar selectivo para las especies de *Mobiluncus* (20).

CAPITULO II. PAPEL PATOGENO.

Los miembros del género *Mobiluncus* están altamente asociados con uno de los problemas ginecológicos habituales que es la vaginosis inespecífica (VI), clasificada como tal, por los casos donde el flujo vaginal no muestra la presencia de *Trichomonas*, levaduras o gonococos. Recientemente, investigadores como Spiegel y col (26,29) han introducido el término de vaginosis bacteriana (VB) para referirse a esta entidad, ya que su relación es principalmente con bacterias, además de que no se puede atribuir la causa del síndrome a un solo agente bacteriano y debido a que, en la mayoría de los casos, hay ausencia de una respuesta inflamatoria verdadera (29).

La vaginosis bacteriana es una enfermedad infecciosa que aparece comunmente en el tracto genital inferior femenino, en la población en edad reproductiva y con vida sexual activa. Se caracteriza por la presencia de cantidades mayores de bacterias anaerobias, de las que se ven en mujeres normales (3).

Durante los últimos años se ha estudiado en detalle el espectro microbiano de la flora vaginal de mujeres con vaginosis bacteriana (6,11).

Se ha dedicado una atención particular a *Gardnerella vaginalis* y más recientemente a ciertos anaerobios

especialmente *Mobiluncus mulieris* y *Mobiluncus curtisi*, como también a *Mycoplasma hominis*. Sin embargo, se sigue desconociendo la etiología exacta de la vaginosis bacteriana (9,10,11).

Gardnerella vaginalis y *Mycoplasma hominis* pueden aparecer como microorganismos endógenos de la flora vaginal de mujeres sanas en cantidades bajas, es decir, menos de 10^7 UFC/ml de flujo vaginal; en mujeres con VB se observa un claro incremento de esta cantidad de microorganismos, por arriba de la cifra mencionada (11,29).

En contraste, *Mobiluncus spp* se encuentra raramente en mujeres sanas, pero se aísla de la vagina de mujeres con VB hasta en un 90% de los casos, por lo que recientemente se ha utilizado al género *Mobiluncus* como un marcador clínico para identificar a las pacientes con VB (11).

En pacientes con un diagnóstico clínico de VB, *Mobiluncus spp* puede aislarse junto con cualquiera de los microorganismos asociados con la descarga vaginal. como son bacilos anaerobios Gram negativos, principalmente especies de *Bacteroides* y con cocos anaerobios principalmente especies de *Peptostreptococcus*.

No se han detectado en ninguna instancia como anaerobios únicos. Gardner y Duker así como otros investigadores, han encontrado que *Mobiluncus* se asocia significativamente con la

presencia de *G. vaginalis*, debido a que se ha observado que su desarrollo se ve favorecido por la presencia del mencionado microorganismo (6,27,29). No existe una explicación clara de este hallazgo, pero tal vez un microorganismo le proporciona el ambiente favorable al otro. De tal manera, que las especies de *Mobiluncus* se encuentran más frecuentemente en mujeres colonizadas por *G. vaginalis* que en quienes no lo están (29).

Algunos investigadores sugieren que los anaerobios, y por supuesto *Mobiluncus* spp y *G. vaginalis*, actúan sinérgicamente (27,29).

Se observan diferencias muy marcadas cuando se analiza el flujo vaginal de mujeres con VB y de mujeres normales, utilizando cultivos anaerobios cuantitativos y cromatografía gas-líquido, por medio de las cuales se realiza la identificación de ácidos orgánicos de cadena corta que son metabolitos de la flora bacteriana de la vagina. En el flujo vaginal normal existe elevada concentración de ácido láctico como consecuencia de la prevalencia de los lactobacilos y estreptococos que son productores del mismo (21,29).

En la vaginosis bacteriana, el lactato se halla disminuido, mientras que el succinato, acetato, butirato y propionato se elevan encontrándose en forma predominante; *G. vaginalis* produce parte del succinato, bacterias anaerobias como *Mobiluncus* spp

y *Bacteroides sp* son productoras de succinato, *Peptococcus sp* productor de butirato y acetato, y *Propionibacterium* productor de propionato, ver figura No. 1 (29).

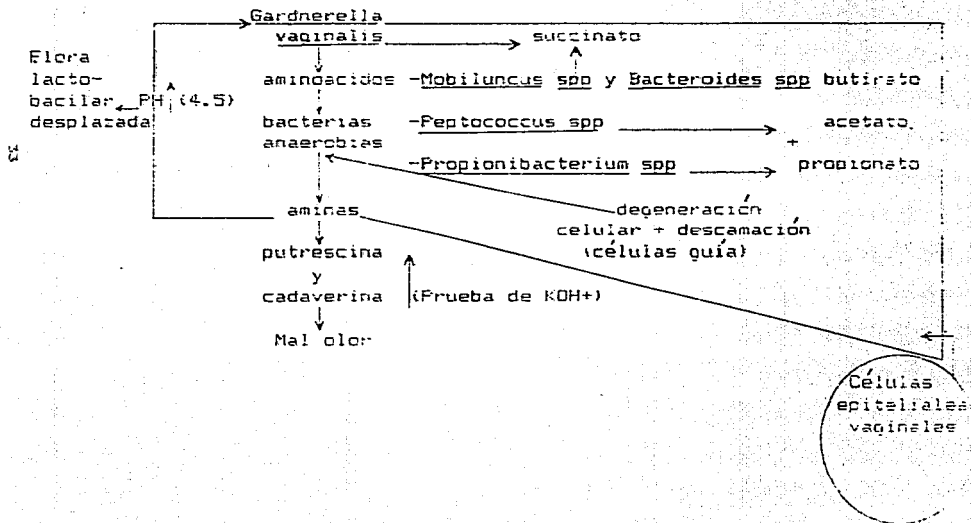
Por lo tanto, es muy probable que los anaerobios incluyendo *Mobiluncus spp* jueguen un papel muy importante junto con *G. vaginalis*, en la fisiopatología de la VB. Conocida anteriormente como vaginosis inespecífica. Fig. No. 1.

También se ha visto que es posible que exista una relación entre *G. vaginalis* productora de aminoácidos, dando como consecuencia una elevación en el pH de la secreción vaginal, lo que favorece el desarrollo de este tipo de microorganismos (27,29).

Como el papel etiológico de las especies de *Mobiluncus* en la vaginosis bacteriana sigue siendo incierto, se ha sugerido su potencial patogénico en los humanos a partir de su aislamiento, ya sea solo o en concierto con otros anaerobios a partir de varias fuentes como pueden ser, abscesos de glándulas mamarias y umbilicales y cultivos de sangre (7,9,11,31). Recientemente se han aislado especies de *Mobiluncus* a partir de membranas corioamnióticas de las placentas de un 11% de las mujeres con partos anticipados (7), de cultivos sanguíneos de una mujer con cirrosis hepática y de un absceso umbilical de una mujer con enfermedad pélvica inflamatoria (7,9).

FIGURA 1

Possible relación entre G. vaginalis, Mobiluncus sp y otras bacterias anaerobias, en la patogénesis de la vaginosis bacteriana (29).



Por otro lado, se tiene que *Mobiluncus spp.*, *G. vaginalis* y *M. hominis* pueden ascender ocasionalmente al tracto genital superior de las mujeres y se han aislado a partir de casos de endometritis y salpingitis (9). Asimismo, todos los microorganismos mencionados pueden invadir el tracto urinario (11), así como también se han aislado de abscesos e infecciones de heridas (11,31).

La VB está relacionada con aproximadamente un tercio de todos los casos de vulvovaginitis en la población de edad reproductiva. Holst realizó estudios para la búsqueda de los posibles reservorios, así como también de las formas de transmisión de microorganismos asociados -*Mobiluncus spp.*, *Gardnerella vaginalis* y *Mycoplasma hominis*- en mujeres con VB, sus compañeros varones y niños. Se sabe que éstas, así como algunas otras especies asociadas con la vaginosis bacteriana, por ejemplo, *Bacteroides spp.* y *Peptostreptococcus spp.* son parte de la flora intestinal normal (11). Se ve que dichos estudios sugieren y apoyan la hipótesis de que el reservorio de *Mobiluncus mulieris*, *M. curvifil.*, *G. vaginalis* y *Mycoplasma hominis* es también el tracto intestinal, puesto que los cuatro microorganismos se pudieron aislar del recto de mujeres, hombres y niños (11).

La diferencia en la tasa de aislamiento entre mujeres con VB por un lado y, mujeres sanas por otro, puede deberse a la aparición de microorganismos, en mayor número, en el recto de las

mujeres que desarrollan esta condición, en comparación con el recto de las mujeres sanas.

La recuperación poco frecuente tanto de *G. vaginalis* como de *Mobiluncus spp* y *Mycoplasma hominis* a partir del tracto genital de los compañeros sexuales de mujeres con VB, indica que la transmisión sexual, en el sentido comunmente aceptado, no es una forma importante de transmisión de estos microorganismos. Parece más probable su dispersión desde el recto hacia la vagina (4,11).

Tratamiento.

Se han empleado -con un éxito variable- muchos agentes terapéuticos para tratar la vaginosis bacteriana, existen estudios publicados sobre la eficacia del metronidazol oral dado en dosis de 800 a 1,200 mg/día durante 7 días (9). Algunos investigadores han propuesto una dosis única de 2 g de metronidazol para su tratamiento; sin embargo, en los estudios que comparan estos dos tipos de dosis, se muestra que las tasas de curación, al menos cuatro semanas después de la terapia, fueron de 73% con la dosis única y de 82% con la dosis de una semana (2,9). Otra forma de tratamiento es con tabletas intravaginales con 500 mg de metronidazol durante 7 días, con un 71% de eficacia. Existen esponjas vaginales que contienen de 200 a 1,000 mg de metronidazol y que también se han usado como un tratamiento local; aun no se conoce la eficacia de esta vía de entrada, no obstante, se sabe

que ingresa una concentración más alta de la droga directamente a la vagina, disminuyendo los efectos secundarios sistémicos (9,13).

La eficacia del metronidazol se atribuye, probablemente, a la actividad de esta droga contra las bacterias anaerobias y la actividad de su hidroximetabolito contra *G. vaginalis*, así como contra *M. mulleris*. El metronidazol y sus metabolitos no son activos contra *Mycoplasma hominis*, aún cuando el tratamiento con éste, aparentemente erradica al microorganismo.

Mobiluncus curtisii es resistente al metronidazol, por lo que se podría especular que su presencia juega un papel significativo en la recurrencia de la VB, misma que se presenta en el 10 a 12% de las mujeres tratadas con dicho metronidazol (19).

La clindamicina, otro antibiótico que es particularmente activo contra bacterias anaerobias y, moderadamente activo, contra *G. vaginalis* y *Mycoplasma hominis*, se ha usado en una crema de aplicación tópica para el tratamiento de la VB. En un estudio de evaluación de dosis, se emplearon 5 g de crema de clindamicina al 2% aplicada intravaginalmente una vez al día durante 7 días, mostrando una eficacia del 93% en 18 mujeres que se reevaluaron 4 semanas después de iniciada la terapia. Se vio también que menores concentraciones tienen menor eficacia (9,13). Si estos resultados preliminares se confirman con estudios más amplios, la clindamicina puede ser una alternativa en lugar del metronidazol,

particularmente para el tratamiento de la VB, tanto la recurrente como durante el embarazo, sugieren Holmes y col (5,19).

A pesar de que las cepas de *Mobiluncus* son susceptibles a los antibióticos β -lactámicos, la presencia de microorganismos productores de β -lactamasas en la vagina, excluye su uso efectivo en el tratamiento de la VB. Según datos reportados por Spiegel y col (25), las formas orales o tópicas de clindamicina e imipenem pueden representar modos potenciales alternativos de terapia cuando falla el metronidazol. Ambos agentes antimicrobianos tienen una amplia cobertura para anaerobios y ninguno sería susceptible a las β -lactamasas producidas, por ejemplo, por *Bacteroides* o presentes en vagina. Sin embargo, ambos son activos contra los lactobacilos vaginales y de esta manera pueden inhibir su crecimiento durante la terapia; existe evidencia de que esto contribuye a las fallas del tratamiento después de administrarse ampicilina y amoxicilina.

Se sabe que los lactobacilos pueden repoblar más prontamente durante la terapia con metronidazol que con ampicilina o amoxicilina, lo cual puede contribuir a la más alta tasa de curación con metronidazol.

La eritromicina no es efectiva, ni la tetraciclina o doxiciclina, de las que se ha reportado una eficacia de sólo el 15 a 50% contra la VB.

Otras alternativas que se han descrito, incluyen el empleo de un gel de ácido acético y crema de dienestrol, las que han resultado no satisfactorias, con tasas de curación de sólo 7 y 6%, respectivamente. Asimismo, se reporta que las tabletas vaginales de Povidone-Yodo, de 200 mg 2 veces al día durante 2 semanas, son completamente inefectivas (9).

CAPÍTULO III. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Las bacterias del género *Mobiluncus* están claramente asociadas con la vaginosis bacteriana como se ha mencionado previamente, por lo que estos microorganismos pueden servir como excelentes indicadores de dicho síndrome clínico (7).

Para establecer un diagnóstico clínico de la VB, se requiere tener tres de los siguientes criterios (6,8,9):

- * Un pH vaginal mayor de 4.7.
- * Una prueba de aminas positiva.
- * La presencia de células guía en el frotis vaginal.
- * Una descarga adherente y homogénea, característica del síndrome.

* El pH del fluido vaginal a niveles superiores de 4.5 en la VB se debe a la presencia de aminas (9,18). Dicho parámetro debe medirse usando papel pH de un rango apropiado (4 a 6), el disponible comercialmente es adecuado para este propósito.

La forma más apropiada de determinar el pH vaginal, es frotando los bordes lateral y posterior de la vagina y colocando directamente la muestra sobre del papel pH. En forma alterna, el papel puede colocarse también en la superficie del espejo después de que éste se ha removido de la vagina.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

Debe evitarse el moco cervical ya que tiene un pH más alto -7- que el del fluido vaginal. Este criterio de la determinación del pH del fluido vaginal, tiene mayor sensibilidad que la de los otros cuatro, pero la más baja especificidad, lo cual demostraron Hallen y col en los estudios que realizaron, ya que reportan que casi todas las mujeres con VB tuvieron un pH vaginal de más de 4.5, aunque también se encontró esta misma condición, en mujeres que no tenían diagnóstico de VB (8).

* La prueba de aminas es olfativa, el mal olor vaginal es el más común de los síntomas de las mujeres con VB. Este olor se define como "olor a pescado en descomposición" el cual aumenta en presencia de KOH.

Este olor se atribuye a la producción de aminas biógenas, que son predominantemente putrecina y cadaverina, que pueden encontrarse disminuidas o no aparecer en las secreciones normales, por lo que se emplea como uno de los criterios determinantes en el diagnóstico de la vaginosis bacteriana (9,18,29).

La prueba consiste en colocar una gota de fluido vaginal sobre un portaobjetos y añadirle una gota de KOH al 10%, de esta manera aumenta el olor y se detecta fácilmente. A pesar de que a esta prueba se le atribuye una alta especificidad, se ha reportado una baja sensibilidad en el diagnóstico de la VB (9,10).

* Montaje húmedo para detección de células guía. Las células guía son células epiteliales cuyos bordes están oscurecidos por la presencia de bacterias curvas que se encuentran ancladas, cuando se colonizan predominantemente por bacterias en forma de coma -*Mobiluncus*- se les conoce como células coma, se ha observado que la presencia de bacterias está restringida principalmente a la superficie de las células epiteliales. a través de sus prolongaciones celulares, se adhieren preferentemente con una orientación polar-lateral, con mayor frecuencia transversalmente debido a la forma curva de la bacteria; también se reporta haber observado que frecuentemente *Mobiluncus* se fija a cierta distancia celular (3).

De Boer y Platerma, refieren que las especies de *Mobiluncus* pueden adherirse a las células epiteliales de la vagina en microcolonias similares a las de las otras diversas especies bacterianas que colonizan las superficies mucosas. La presencia de la estructura llamada glicocalix, sobre los flagelos adherentes de *Mobiluncus*, indica que las microcolonias pueden estar embebidas en una matriz muy hidratada compuesta por exopolisacáridos (3).

Existe un estudio reciente que muestra que *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* spp y otras bacterias, pueden adherirse a las células epiteliales; no obstante, estas células guía se ven densamente colonizadas por la bacteria predominante en la microflora del espécimen (9).

Otro tipo de bacterias como los lactobacilos también pueden adherirse a células epiteliales exfoliadas, pero al encontrarse en concentraciones bajas, no llegan a oscurecer los bordes de las células epiteliales, por lo que es necesario tener experiencia y sumo cuidado para no confundirlas con células guía verdaderas (9).

Se recomienda que, al menos, el 20% de las células epiteliales vaginales presentes se señalen -sin lugar a dudas- como células guía, para poder establecer un diagnóstico de VB.

Las células guía se identifican colocando una gota de una muestra obtenida del fluido vaginal sobre de un portaobjetos y mezclándola con una gota de solución salina isotónica, se cubre con un cubreobjetos debiéndose observar 10 campos a 40X (2,9).

La presencia de células guía y una prueba positiva de aminas, son indicadores confiables de vaginosis bacteriana (2,8,9).

* Descarga adherente característica. El dato principal del síndrome de la vaginosis bacteriana que afecta a mujeres en edad reproductiva, es la presencia en las paredes de la vagina, de descargas de color blanco homogéneo, adherentes -y, como se mencionó anteriormente, malolientes- (6,9). Este cuarto criterio es subjetivo, por lo tanto no es sorprendente que los diferentes autores se refieran a él como no sensible ni específico (8,9).

Otra prueba complementaria de gran importancia es la tinción de Gram (24), utilizando la fucsina básica como colorante de contraste, que permitirá distinguir los dos tipos morfológicos:

a) Un bacilo de tamaño pequeño (1.7μ), Gram variable -*Mobiluncus curtisi*-.
-

b) Un bacilo curvo grande (2.9μ), Gram negativo -*Mobiluncus mulieris*-.
-

Estos bacilos pueden presentarse aislados o en pares dando la apariencia de "alas en vuelo" y, algunas otras veces, se encuentran formando una S muy característica (17,29).

Spiegel sugiere que el frotis vaginal teñido con Gram es de gran utilidad, ya que en las pacientes con vaginosis bacteriana se observa una alteración del patrón microbiano habitual, donde los lactobacilos están reemplazados por flora mixta que contiene principalmente bacilos pequeños Gram negativos y cocos Gram positivos, cocobacilos de Gram variable y, aproximadamente la mitad de las veces, bacilos curvos variables al Gram; por tanto, los laboratorios deben considerar el informe de tales frotis, como flora mixta consistente con un diagnóstico de VB (29).

En estudios realizados por Roberts y col. comparando a la tinción de Gram con otros métodos de identificación de *Mobiluncus*,

encontraron que de una población estudiada, de mujeres con presencia de este microorganismo, al 93% se le determinó la presencia de VB con la tinción de Gram. El 78% estaban colonizadas vaginalmente con *Mobiluncus* y la correlación entre el diagnóstico por tinción de Gram y los síntomas clínicos, fue de 90% (17).

No obstante que la tinción de Gram es una técnica rápida, no permite la determinación de especies y subespecies. Para un estudio confirmativo de VB y llegar a definir la especie de *Mobiluncus*, se debe de proceder a su aislamiento en los medios de cultivo adecuados, mencionados en la parte correspondiente, así como llevar a cabo también las pruebas bioquímicas señaladas anteriormente; o bien, si existe la posibilidad, aplicar alguno de los métodos alternativos -también señalados- como la cromatografía de gas, las sondas de ADN, o la inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales.

CONCLUSIONES.

1. Debido a diversas discrepancias en el comportamiento bioquímico, propiedades químicas y antigénicas del género *Mobiluncus*, es necesario hacer estudios posteriores para lograr la división definitiva.

2. El papel de *Mobiluncus* como agente etiológico de la vaginosis bacteriana sin lugar a dudas, aún se desconoce; sin embargo, estos bacilos curvos se han visto en los frotis vaginales directos teñidos, sólomente a partir de mujeres con dicho padecimiento, lo cual sugiere que pueden servir como marcador clínico para identificar a estas pacientes.

3. Existen diversos métodos para el diagnóstico de laboratorio, que van desde las características físicas del exudado vaginal, la microscopia y la identificación tradicional (cultivo y bioquímicas), hasta las nuevas pruebas alternativas (no aplicables en la gran mayoría de los laboratorios).

4. Del examen microscópico, que es el más empleado, se puede considerar lo siguiente:

- es insuficiente para diagnosticar con precisión la VB, puesto que requiere de experiencia y entrenamiento para leer las preparaciones húmedas. Sin embargo, muchos de los casos pueden identificarse de esta manera con personal preparado y competente.

- es una forma económica y rápida para la detección de la VB, acoplado con otros indicadores como pH vaginal arriba de 4.5, olor a pescado cuando se alcalinizan las secreciones vaginales con KOH y presencia de células gúla, ya que amplifican grandemente las posibilidades del diagnóstico preciso.

5. Existen estudios que indican que la mayoría, o a veces todas las cepas de *Mobiluncus curtisi* y algunas de *Mobiluncus mulleris*, son resistentes a metronidazol, la droga de elección para el tratamiento de la VB. Se podría especular que la presencia de *Mobiluncus spp* resistente a metronidazol, juega un papel significativo en la recurrencia del síndrome en el 10-12% de las mujeres tratadas con esta droga.

BIBLIOGRAFIA.

1. Benacerraf B.J. y Unanue E.R.
INMUNOLOGIA.
2a Edición.
Editorial Médica Panamericana.
Argentina (1986).
2. Blackwell A.L., Phillips I., Fox A.R. and Barlon D. "Anaerobic vaginosis (non-specific vaginitis): clinical microbiological and therapeutic findings". Lancet 8364:1379-1382 (1983).
3. Boer J.M. and Platema F.H.F. "Ultrastructure of the in vivo adherence of *Mobiluncus* to vaginal epithelial cells". Can. J. Microbiol. 34:757-761 (1991).
4. Celig D.M. and Schreckenberger P.C. "Clinical evaluation of the Rapid-ANA II panel for identification of anaerobic bacteria". J. Clin. Microbiol. 29/3:457-462 (1991).
5. Cook R.L., Redondo-López V., Schmitt Ch., Meriwether C. and Sobel J.D. "Clinical, microbiological and biochemical factors in recurrent bacterial vaginosis". J. Clin. Microbiol. 30/4:870-877 (1992).
6. Eschenbach D.A., Hillier S., Critchlow C., Stevens C., De Kuen T. and Holmes K.K. "Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis". Am J. Gynecol. 158/4:819-827 (1988).
7. Fohn M.J., Lutcher S.A. and Hillier S.L. "Production and characterization of monoclonal antibodies to *Mobiluncus* species". J. Clin. Microbiol. 26/12:2598-2603 (1988).
8. Hallen A., Pahison L. and Forsum U. "Bacterial vaginosis women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp". Genitourin. Med. 63:386-389 (1987).

9. Hillier S. and Holmes K.K. "Bacterial vaginosis" in: SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES. Holmes K.K., Mardh P.A., Sparling P.F. and Wiesner P.J. Second Edition. Mc Graw-Hill Book Co. New York, (1970).
10. Hillier S. and Moncla B.J. "Anaerobic Gram-positive nonspore forming bacilli and cocci". in: MANUAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. Balows A., Hausler W.J., Herrmann J.K., Isenberg H. and Shadomy H.J. Fifth Edition. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1991).
11. Holst E. "Reservoir of four organisms associated with bacterial vaginosis suggest lack of sexual transmission". J. Clin. Microbiol. 28/9:2035-2039 (1990).
12. Goran P., Larsson B. and Bergman B.B. "Is there a casual connection between motile curved rods, *Mobiluncus* species, and bleeding complications?". Am. J. Obstet. Gynecol. 154:107-108 (1986).
13. Larsson P.B., Bergman B., Forsum U. and Pahlson C. "Treatment of bacterial vaginosis in women with vaginal bleeding complications or discharge and harboring *Mobiluncus*". Gynecol. Obstet. Invest. 29:296-300 (1990).
14. Mazzulli I., Simor A.E. and Low D.E. "Reproducibility of interpretation of Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis". J. Clin. Microbiol. 28/7: 1506-1508 (1990).
15. Pahlson C., Hallen A. and Forsum U. "Improved yield of *Mobiluncus* species from clinical specimens after alkaline treatment". Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. 94/Suppl. B: 113-116 (1986).
16. Roberts M.C., Hillier S.L., Schoenknecht F.D. and Holmes K.K. "Nitrocellulose filter blots for species identification of *Mobiluncus curvatus* and *Mobiluncus mulieris*". J. Clin. Microbiol. 20/4:826-827 (1984).

17. Roberts M.C., Hillier S.L., Schoenknecht F. D. and Holmes K.K. "Comparison of Gram stain, DNA probe and culture for the identification of species of *Mobiluncus* in female genital specimens". J. Infect. Dis. 152/1:74-77 (1985).
18. Scapini J.C. y Guzmán C.A. "Detección de bacilos Gram negativos curvos anaerobios en pacientes con vaginosis". Obstet. Ginecol. Latinoam. Set.-Oct.:322-325 (1986).
19. Schwebke J., Hillier S.L., Fohn M.J. and Lubenart S.A. "Demonstration of heterogeneity among the antigenic proteins of *Mobiluncus* species". J. Clin. Microbiol. 28/3: 463-468 (1990).
20. Skarin A. "Antigenic and biochemical characteristics of *Mobiluncus muliensis* and *Mobiluncus curtisi*". Acta Path. Microbiol. Immunol. Scand. 94/Sec.B:127-133 (1986).
21. Skarin A. and 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. Immunol. Scand. 94/Sec.B:399-403 (1986).
22. Smith H.J. and Moore H.B. "Isolation of *Mobiluncus* species from clinical specimens by using cold enrichment and selective media". J. Clin. Microbiol. 26/6:1134-1137 (1988).
23. Spiegel C.A. "Susceptibility of *Mobiluncus* species to 23 antimicrobial agents and 15 other compounds". Antimicrob. Agents Chemother. 31/2:249-252 (1987).
24. Spiegel C.A., Amsel R. and Holmes K.K. "Diagnosis of bacterial vaginosis by direct gram stain of vaginal fluid". J. Clin. Microbiol. 18:170-171 (1983).
25. Spiegel C.A., Eschenbach D.A., Amsel R. and Holmes K.K. "Lurved anaerobic bacteria in bacterial (nonspecific) vaginosis and their response to antimicrobial therapy". J. Infect. Dis. 148/5:817-822 (1983).

26. Spiegel C.A. and Roberts M. "*Mobiluncus* gen. nov., *Mobiluncus curtsii* subsp. *curtsii* subsp. nov., *Mobiluncus curtsii* subsp. *hameleus* subsp. nov. *Mobiluncus mulleris* sp. nov., curved rods from the human vagina". Intern. J. System. Bacteriol. 34/2:177-184 (1984).
27. Teo Ch., Kwong L.G. and Benn R. "Incidence of motile, curved anaerobic rods (*Mobiluncus* species) in vaginal secretions". Pathology 19:193-196 (1987).
28. Thomason J.L., Gelbart S.M., Wilcoski L.M., Peterson A.K., Jilly B.J. and Hamilton P.R. "Proline aminopeptidase activity a rapid diagnostic test to confirm bacterial vaginosis". Obstet. Gynecol. 71/4:607-610 (1988).
29. Torres A.I. y Conde C.J. "*Mobiluncus*, nuevo patógeno microbiano?". Infectologia 6/2:44-49 (1986).
30. Vetere A., Borriello S.P., Fontaine E., Reed P.J and Taylor-Robinson D. "Characterisation of anaerobic curved rods (*Mobiluncus* spp) isolated from the urogenital tract". Med. Microbiol. 23:279-288 (1987).
31. Weinbren M.J., Peripanayagam K.M., Malnick H. and Ormerod F. "*Mobiluncus* spp: pathogenic role in non-puerperal breast abscess". (Letter) J. Clin. Pathol. 39:342-343 (1988).