

38
24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"SINTESIS BIBLIOGRAFICA DE *Gardnerella vaginalis*.
1983 - 1994"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A :
BEATRIZ PINEDA RAMIREZ

ASESOR: OFI ANDREA BECERRIL OSNAYA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

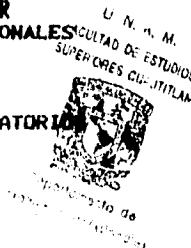
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:
" Síntesis Bibliográfica de Gardnerella vaginalis 1983-1994 "

que presenta la pasante: Beatriz Pineda Ramírez
con número de cuenta: 8152619 - 6 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Biológica

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 19 de Marzo de 1996

| | | |
|------------------|---|--|
| PRESIDENTE | <u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez</u> | |
| VOCAL | <u>D.F.I. Andrea Becerril Osaya</u> | |
| SECRETARIO | <u>M. en C. Sofía González Gallardo</u> | |
| PRIMER SUPLENTE | <u>O.F.B. Marcela Hernández Vargas</u> | |
| SEGUNDO SUPLENTE | <u>M. en C. Stella Maris Reginaldi Rivera</u> | |

En la pugna entre el arroyo y
la roca , siempre triunfa el
arroyo.....no porque sea muy
fuerte, sino porque persevera.

H. Jackson Brown.

En agradecimiento a mi
asesora, QFI Andrea
Becerril Osnaya, por su
amistad y valiosos consejos
y por su tiempo robado
para la elaboración de esta
tesis.

Gracias al jurado, por
dedicarle tiempo a la
lectura de este
material.

Y también gracias a
mi amigo Pedro
Romero, por su ayuda
desinteresada para
comenzar este trabajo.

A mis padres, Alfonso y
Beatriz porque yo se que
nunca dudaron en que
finalmente alcanzara esta
meta. Este trabajo es para
ustedes. Yo soy lo que
ustedes hicieron de mi.

Gracias

Los amo.

A Mario, Víctor y
Marisol, mis hermanos,
compartiendo juntos
momentos maravillosos,
este es uno más,
los quiero, nunca cambien

A ti Alberto, gracias por tu
apoyo, por demostrarme
que uno puede alcanzar lo
inalcanzable con esfuerzo y
tenacidad, me felicito por
tenerte como pareja.

Te amo.

A Pamela y Augusto,
porque fueron el motor
principal para terminar este
trabajo, gracias hijos por
soportar el trajin de su
mamá.

A mi familia y amigos por
brindarme siempre apoyo
incondicional en mi vida.

Gracias.

ÍNDICE.

| | |
|--|----|
| Índice de tablas | 1 |
| Resumen. | 3 |
| Introducción | 5 |
| I. Antecedentes | 6 |
| II. Historia | 9 |
| III. Taxonomía | 10 |
| IV. Características Generales del Microorganismo | 11 |
| V. Asociación con otros Microorganismos | 14 |
| VI. Medios de Cultivo y Aislamiento | 16 |
| VII. Diagnóstico e Identificación | 20 |
| VIII. Patogénia | 28 |
| IX. Tratamiento | 34 |
| X. Epidemiología | 42 |
| XI. Etiología de la vaginosis bacteriana | 49 |
| Bibliografía. | 52 |

INDICE DE TABLAS.

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Pruebas bioquímicas. | 13 |
| Tabla 2. Organismos Asociados con <i>G. vaginalis</i> . | 14 |
| Tabla 3. Aislamiento de Anaerobios y <i>Gardnerella vaginalis</i> en secreciones vaginales de dos grupos de pacientes | 15 |
| Tabla 4. Aislamiento de <i>G. vaginalis</i> en tres medios de cultivo | 19 |
| Tabla 5. Microflora vaginal en pacientes con y sin vaginosis bacteriana determinada por tinción de Gram en frotis de fluido vaginal | 22 |
| Tabla 6. Características microbiológicas de <i>G. vaginalis</i> . | 23 |
| Tabla 7. Diferencias entre <i>G. vaginalis</i> y coriformes catalasa (-) no identificados (UCO) presentes en vagina. | 24 |
| Tabla 8. Reacciones positivas obtenidas por <i>G. vaginalis</i> en el Sistema API Step | 26 |
| Tabla 9. Características fisiológicas de <i>G. vaginalis</i> que complementan las tablas anteriores | 27 |
| Tabla 10. Asociación de <i>G. vaginalis</i> y <i>U. urealyticum</i> en el embarazo | 32 |
| Tabla 11. Régimen de tratamientos para <i>G. vaginalis</i> asociada con vaginosis bacteriana (1955-1982) | 36 |
| Tabla 12. Concentración mínima inhibitoria (MIC) y mínima bactericida (MBC) del Metronidazol y el metabolito "hidroxi" en 8 muestras de <i>G. vaginalis</i> después de 48 hrs. de incubación anaeróbica | 38 |
| Tabla 13. Concentración mínima inhibitoria MIC (mg/l.) de Metronidazol (M), Tinidazol (T) y Metabolitos de 10 muestras de <i>G. vaginalis</i> . | 39 |
| Tabla 14. Efectos secundarios de los diferentes tratamientos (primera prescripción) | 39 |

| | |
|---|-----------|
| Tabla 15. Actividad "in vitro" contra <i>G. vaginalis</i> incubada aerobícamente | 41 |
| Tabla 16. Enfermedades transmitidas sexualmente en adolescentes. Distribución por edades (13 a < 20 años) | 43 |
| Tabla 17. Enfermedades transmitidas sexualmente en adolescentes con antecedentes previos de ETS (Enfermedades Transmitidas Sexualmente). 22 pacientes (18,96%) | 43 |
| Tabla 18. Diagnóstico de infección con un sólo microorganismo | 44 |
| Tabla 19. Diagnóstico de dos tipos de microorganismos en la infección. | 45 |
| Tabla 20. Diagnóstico de tres tipos de microorganismos en la infección | 45 |
| Tabla 21. Frecuencia relativa de un estudio realizado a 318 pacientes que asistían a diferentes centros hospitalarios | 46 |
| Tabla 22. Prevalencia de <i>G. vaginalis</i> de acuerdo a la edad | 47 |
| Tabla 23. Microorganismos identificados en muestras genitales de 193 mujeres embarazadas | 48 |
| Tabla 24. Enfermedades transmitidas sexualmente en el adolescente | 50 |

RESUMEN.

En 1980, Greenwood y Pickett esclarecieron la taxonomía del microorganismo mediante estudios de identificación del DNA, y al no haber relación genética entre *H. vaginalis* y otras especies de *HAEMOPHILUS* (como se creía), propusieron un nuevo género llamado *Gardnerella* y su correspondiente especie, denominándose *Gardnerella vaginalis*.

Dicho microorganismo se define como un bacilo anaerobio facultativo, pleomórfico de aproximadamente 0.5 μm . de diámetro y 1.5-2.5 μm . de largo; no capsulado, inmóvil, quimiorganotrofo con metabolismo fermentativo, productor de ácidos (principalmente el ácido acético) pero no de gas. Gram (-) o variable; pared celular laminada, y que necesita requerimientos especiales para su crecimiento.

Dentro de las características bioquímicas positivas importantes se encuentran:

- Inhibición de peróxido
- Hidrolisis de almidón
- Hidrolisis de Hipurato
- Prueba de dextrina, maltosa y ribosa

Y dentro de las negativas:

- Prueba de oxidasa y catalasa
- Producción de Indol
- Ureasa
- Producción de ácido sulfúrico, entre otras.

G. vaginalis se encuentra asociada a otros microorganismos en la vaginosis bacteriana, predominando: *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides spp*, *Mobiluncus*, *S. epidermidis*, *Candida spp*, *Mycoplasma hominis*. Aparentemente se presenta una alteración en el balance de anaerobios/aerobios y una disminución importante de lactobacilos.

El crecimiento de *G. vaginalis* es lento en los medios de cultivo habituales y difícil de diferenciar de las otras bacterias vaginales, además es muy especial en sus requerimientos nutricionales; el medio ideal para su aislamiento es el HBT (Agar Sangre Humana Semiselectivo de dos capas), y su crecimiento se observa como colonias blancas, puntiformes, β -hemolíticas de 0.3-0.5 mm. de diámetro después de 48-72 horas de incubación a 37°C.

Para la identificación y diagnóstico de *G. vaginalis*, existen diversos métodos; Ansel y col. proponen el cumplimiento de al menos 3 de las siguientes características independientemente del método de diagnóstico subsecuente:

1. pH de la secreción vaginal mayor de 4.5
2. Presencia de células "clave" o guía en el exámen en fresco.
3. Prueba positiva de KOH
4. Secreción vaginal grisácea, delgada y homogénea.

La multiplicación del microorganismo observada in vivo e in vitro dependerá de los nutrientes y las condiciones que éste requiera, y su resistencia va en función de la producción de toxinas y reacciones inmunológicas dañinas.

G. vaginalis produce una toxina conocida como toxina citolítica (CTOX) con actividad lítica sobre los eritrocitos humanos y células nucleadas como los neutrófilos y las células endoteliales ; por lo general el microorganismo presenta adhesividad y hemaglutinación hacia las células del epitelio vaginal. No obstante teniendo el antecedente de que *G. vaginalis* esta asociada con otros microorganismos es común encontrarla en diferentes enfermedades acompañada de uno o más de éstos.

El tratamiento para la vaginosis bacteriana dependerá básicamente de si la paciente esta embarazada o no, y el esquema que sugieren el Dr. William R. Bowie y col. es el siguiente:

- Régimen: Metronidazol, 500 mg. por vía oral dos veces al día / 7 días
Alternativas: Fosfato de clindamicina, crema al 2 %, 5 g. por vía vaginal al acostarse por 7 días
Metronidazol gel, al 0.75 % 5 g. por vía vaginal dos veces al día por 5 días
Clindamicina, 300 mg. vía oral dos veces al día / 7 días.

La etiología de la vaginosis bacteriana todavía tiene algo de controversial, aunque muchos autores la relacionan con el incremento de *G. vaginalis* (principalmente) y otros anaerobios propios de la flora vaginal, dicho microorganismo se ve incrementado con el consumo de anticonceptivos, vida sexual activa y embarazo.

INTRODUCCION

Con esta revisión bibliográfica se pretende dejar un estudio general sobre *G. vaginalis*, como consulta sobre los principales aspectos de esta bacteria.

La mayoría de las infecciones vaginales son causadas por *C. albicans*, *T. vaginalis* y *G. vaginalis* así como otros muchos microorganismos tales como: HERPES VIRUS TIPO II, PAPILOMAVIRUS, *Chlamydia trachomatis*, algunos MYCOPLASMAS y *N. gonorrhoeae*. La mayoría de estos microorganismos son transmitidos sexualmente.

Se presume que *G. vaginalis* es el responsable de la vaginosis bacteriana, aunque se ha encontrado que algunos anaerobios, como especies de BACTEROIDES y PEPTOCOCCUS actúan sinérgicamente con *G. vaginalis* y estos son responsables de algunos signos y síntomas clínicos en este problema.

La vaginitis bacteriana es un síndrome marcado por ciertas características especiales en el flujo vaginal en mujeres en edad reproductiva principalmente, este término no sólo se había aplicado a las infecciones causadas por *G. vaginalis*, sino a cualquier otro caso de vaginitis en los cuales no se ha podido encontrar un agente etiológico; ahora se piensa que es *G. vaginalis* el microorganismo responsable de dicha enfermedad.

El término "vaginosis" fue propuesto para sustituir al de "vaginitis no específica" dado que el sufijo "-osis" indica una condición de enfermedad, entonces el término de vaginosis describe enfermedades específicas de la vagina.

En la actualidad se conoce más acerca de esta enfermedad y el microorganismo que se cree la ocasiona (*G. vaginalis*), por medio de técnicas de laboratorio que lo permiten; dichas técnicas van desde una simple tinción de Gram, hasta ensayos más elaborados y complicados como la Inmunofluorescencia, la Cromatografía de Gases o el Análisis por Western Blot, por mencionar algunas. Con dichas técnicas, el aislamiento, la identificación o diagnóstico y la patogenia, han podido vislumbrarse un poco más, pero aún así no puede afirmarse una etiología cierta de la enfermedad.

Determinar la etiología de la enfermedad ha sido un problema, y por consiguiente un tratamiento específico y adecuado también lo es, pero se ha tratado de hacer un esquema lo más acertado posible, esto es, se sabe que *G. vaginalis* es un anaerobio, entonces se empezó por probar con tratamientos que eran eficaces para dichos microorganismos, y así partiendo de lo general a lo particular se han llegado a establecer tratamientos que han dado resultados satisfactorios como lo es el uso del metronidazol principalmente.

INTRODUCCION

Con esta revisión bibliográfica se pretende dejar un estudio general sobre *G. vaginalis*, como consulta sobre los principales aspectos de esta bacteria.

La mayoría de las infecciones vaginales son causadas por *C. albicans*, *T. vaginalis* y *G. vaginalis* así como otros muchos microorganismos tales como: HERPES VIRUS TIPO II, PAPILOMAVIRUS, *Chlamydia trachomatis*, algunos MYCOPLASMAS y *N. gonorrhoeae*. La mayoría de estos microorganismos son transmitidos sexualmente.

Se presume que *G. vaginalis* es el responsable de la vaginosis bacteriana, aunque se ha encontrado que algunos anaerobios, como especies de BACTEROIDES y PEPTOCOCCUS actúan sinérgicamente con *G. vaginalis* y estos son responsables de algunos signos y síntomas clínicos en este problema.

La vaginosis bacteriana es un síndrome marcado por ciertas características especiales en el flujo vaginal en mujeres en edad reproductiva principalmente, este término no sólo se había aplicado a las infecciones causadas por *G. vaginalis*, sino a cualquier otro caso de vaginitis en los cuales no se ha podido encontrar un agente etiológico; ahora se piensa que es *G. vaginalis* el microorganismo responsable de dicha enfermedad.

El término "vaginosis" fue propuesto para sustituir al de "vaginitis no específica" dado que el sufijo "-osis" indica una condición de enfermedad, entonces el término de vaginosis describe enfermedades específicas de la vagina.

En la actualidad se conoce más acerca de esta enfermedad y el microorganismo que se cree la ocasiona (*G. vaginalis*), por medio de técnicas de laboratorio que lo permiten; dichas técnicas van desde una simple tinción de Gram, hasta ensayos más elaborados y complicados como la Inmunofluorescencia, la Cromatografía de Gases o el Análisis por Western Blot, por mencionar algunas. Con dichas técnicas, el aislamiento, la identificación o diagnóstico y la patogenia, han podido vislumbrarse un poco más, pero aún así no puede afirmarse una etiología cierta de la enfermedad.

Determinar la etiología de la enfermedad ha sido un problema, y por consiguiente un tratamiento específico y adecuado también lo es, pero se ha tratado de hacer un esquema lo más acertado posible, esto es, se sabe que *G. vaginalis* es un anaerobio, entonces se empezó por probar con tratamientos que eran eficaces para dichos microorganismos, y así partiendo de lo general a lo particular se han llegado a establecer tratamientos que han dado resultados satisfactorios como lo es el uso del metronidazol principalmente.

ANTECEDENTES

El microorganismo que nos interesa se aloja en los órganos del aparato genital femenino principalmente, dichos órganos se dividen en dos grupos, los cuales se describen de la siguiente manera: los externos que comprende, vulva y vagina; y los internos formados por útero, trompas y ovarios. Los primeros son los de mayor interés puesto que es ahí donde prevalece el microorganismo.

La vulva, representa la parte externa del aparato genital, es una estructura compleja formada por: labios mayores, pubis, labios menores, clitoris, vestíbulo, meato urinario, orificio vaginal, himen y glándulas vulvovaginales o de Bartholin.

La vagina, es un conducto músculo membranoso que une la vulva al útero. Tiene unos 9 ó 10 cm. de longitud. El extremo superior, dilatándose a manera de caliz, forma el fornix o fondo de saco, en el cual viene a insertarse el cuello del útero. (21)

La vagina esta cubierta por un epitelio escamoso estratificado idéntico al que cubre al ectocervix. No hay glándulas en la mucosa vaginal, excepto como se dijo anteriormente las de Bartholin, localizadas cerca del orificio uretral.

La vagina del feto es estéril y se coloniza por primera vez durante su paso por el canal del parto materno; el efecto estrógeno creado por la madre durante el embarazo actúa directamente sobre el epitelio vaginal de la niña que está por nacer, favoreciendo la concentración de glucógeno a ese nivel, lo que facilita la permanencia de lactobacilos, bacterias anaerobias y aerobias que forman el "Inóculo original". Esta situación se mantiene los primeros días de vida extrauterina, conforme el tiempo avanza el efecto estrógeno desaparece y las concentraciones de glucógeno disminuyen por lo que el medio se alcaliniza teniendo un pH de 6.0 a 8.0, el epitelio se atrofia y los microorganismos dominantes son cocos y bacilos Gram (+) y (-) así como anaerobios facultativos, situación que permanece estable hasta la menarca. Cuando la mujer inicia la adolescencia los cambios hormonales que se suceden normalmente, entre los que destacan la aparición de estrógeno favorecen el desarrollo de un epitelio proliferativo, rico en glucógeno que facilita el crecimiento de lactobacilos y otros gérmenes anaerobios y aerobios. (82)

La descarga vaginal normalmente presenta una mezcla de varios componentes: secreciones de glándulas de Bartholin y de Skene, trasudación a través de la pared vaginal, descamación de células epiteliales vaginales, mucosa cervical, fluido endometrial y tubal y leucocitos. La cantidad media de secreción vaginal producida por una mujer en edad reproductiva es de alrededor de 1-3 g./ 24 hrs., y esta varía de acuerdo con la edad, paridad, práctica de anticonceptivos, actividad sexual, presencia del ciclo ovulatorio y algún otro tipo de desorden como la cervicitis y las infecciones del tracto genital superior. (63)

La mayoría de los constituyentes orgánicos de la secreción vaginal son proteínas, carbohidratos, urea y ácidos grasos; y la mayoría de dichas proteínas son albúmina, inmunoglobulinas y aminoácidos. Todas las mujeres producen ácidos, principalmente láctico y acético. (63)

I.

La secreción genital puede incluir sustancias como macromoléculas, con fuerza selectiva para algunas especies microbianas. (53)

La conservación de un pH ácido en la vagina de la mujer madura depende del nivel de ácido láctico, resultado del catabolismo del glucógeno. El factor odorífero tiene su origen en el metabolismo microbiano, especialmente de la acción de bacterias anaerobias estrictas sobre fuentes proteinadas.

La flora que coloniza habitualmente el tracto genital en la mujer se encuentra confinada a tres sitios anatómicos bien específicos: genitales externos, vagina y cervix. El resto de los órganos del tracto genital normalmente son estériles y la presencia en ellos de cualquier microorganismo es patológico. (82)

La habitual microflora de la vagina, desde la menarca hasta la menopausia, está dominada por lactobacilos anaerobios, llamados bacilos de Doderlein (bastones G(+) acidófilos (63) que fermentan al glucógeno. El lactobacilo generador de peróxido (LB+) está presente en la vagina de la mayoría de las mujeres sanas. Los niveles de LB+ en vagina dependen de otros factores como el pH o la viabilidad del sustrato (2). Las recién nacidas y las postmenopausicas tienen microorganismos propios de esta región. (19)

Las secreciones alrededor de la uretra de la mujer y de los hombres no circuncidados con frecuencia contienen *Mycobacterium smegmatis* (comensal inocuo), **DIFTEROIDES**, **STREPTOCOCCUS** no hemolíticos y *S. epidermidis*. Cuando se efectúan cultivos aerobios y anaerobios, habitualmente encontramos, además de los microorganismos ya mencionados, **MICROCOCOS**, *Streptococcus faecalis*, **ESTREPTOCOCCOS** microaerófilos y anaerobios, **UREAPLASMAS** y levaduras. (23)

Esta flora bacteriana vaginal y del cuello uterino forman un ecosistema dinámico que varía en la misma paciente de un día a otro con el ciclo menstrual, el embarazo y el parto, la edad, el sitio donde se tomen las muestras, las técnicas bacteriológicas empleadas, el glucógeno (contenido en las células epiteliales), pH, soporte hormonal, coito, métodos anticonceptivos, procedimientos de higiene, metabolismo del huésped, régimen de drogas (45) (53) (63) y lo mismo sucede cuando hay inmunosupresión (3)

Existe cierto grupo de microorganismos que pueden aislarse de los genitales femeninos sin que haya sintomatología en las pacientes: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* y *Gardnerella vaginalis*, los cuales ciertamente son patógenos potenciales pero también llegan a contribuir en la flora normal en porcentaje nada despreciable de la población abierta sana. (45)

Estos microorganismos se conocen como patógenos y tienen la propiedad de provocar procesos infecciosos sin tener en cuenta su número, su puerta de entrada ni la presencia de otros microorganismos. La salud general del huésped, su contacto anterior con determinados m.o., sus antecedentes clínicos y diversos ataques tóxicos, traumáticos o iatrogénicos de origen no microbiano, son significativamente determinantes de la enfermedad infecciosa. (19)

El término de vaginosis bacteriana se aplica a aquellos casos de vaginitis o vulvovaginitis de los cuales no se ha podido encontrar un agente etiológico. Las vaginitis

I.

no específicas (o vaginosis bacterianas) habían sido una categoría a donde iban a parar todos aquellos casos de flujo anormal (40), ahora se sabe que esta enfermedad se caracteriza por un incremento en el pH vaginal y se manifiesta como una descarga lechosa cremosa y un olor aminaceo o a pescado (7) y no se atribuye a *Neisseria gonorrhoeae*, *Clamidia trichomatis*, *Trichomona vaginalis* o infecciones por *CANDIDA* (17).

El exudado de las pacientes infectadas con *G. vaginalis* es pobre en neutrófilos, no existe sintomatología, ni datos microscópicos de inflamación. Por esta razón se sustituye el término de "vaginítis" por "vaginosis". (25) (38)

La vaginosis bacteriana esta asociada con un significativo aumento en el número de *G. vaginalis* y varios anaerobios obligados, sobre todo *Bacteroides spp* y *Peptococcus spp* (43), una disminución de lactobacilos vaginales, y además un patrón definido en cromatografía líquido-gaseosa de ácidos en las secreciones vaginales (17) (19). Esto se traduce en cambios fisicoquímicos de las mismas secreciones en el que intervienen algunas características propias del huésped que no han sido a la fecha bien determinadas. (64)

En la secreción expulsada por la vagina de mujeres con vaginosis bacteriana, se eliminan ácidos volátiles distintos del ácido acético tales como propiónico, butírico, isobutírico e isovalérico, productos de peptococo, *Bacteroides* y otros gérmenes anaerobios. (64)

Se cree que esta enfermedad es transmitida por contacto sexual y ocasionalmente por el incremento del microorganismo (*G. vaginalis*) en la flora normal (3) (22). De todas las enfermedades transmitidas sexualmente, las cuales son clínicamente manifestadas, esta es la que más prevalece. (60)

Entre otros factores que intervienen para una predisposición de vaginosis bacteriana se encuentra el DIU (Dispositivo Intra Uterino). El Dr. Paavonen (52) presentó datos que sugirieron que la presencia de cervicitis también puede desarrollar el síndrome.

La vaginosis bacteriana es la más común de las infecciones vaginales en las mujeres en la etapa de embarazo, y esto esta asociado particularmente con una alta concentración de microorganismos. Evidencias indirectas sugieren que la vaginosis bacteriana puede ser un factor de riesgo en las infecciones post-parto. (77)

II.

HISTORIA

En 1953, Sidney Leopold (1) a partir de la uretra de hombres que tuvieron signos y síntomas de prostatitis, y de la vagina de mujeres que tenían evidencia de cervicitis, aisló un bacilo Gram (-), no móvil, no capsulado y pleomórfico empleando el medio de Agar de Casman en donde crecieron pequeñas colonias hemolíticas, incoloras, sugiriendo que estas guardaban relación con el género *Haemophilus spp*, pero no se le atribuyó la capacidad de causar tales enfermedades.

La bacteria pudo ser aislada de la orina de varones cuyas esposas tenían el organismo en la vagina hasta en un 45 % . Esto indica que el hombre es un portador del germen en su uretra. (40)

Gardner y Dukes (66) en su artículo clásico publicado en 1955, atribuyen la vaginosis bacteriana a un bacilo Gram (-) pleomórfico con características similares a las descritas por Leopold, al que llamaron *Haemophilus vaginalis*. La mayoría de las llamadas vaginitis inespecíficas no parecen ser ocasionadas por dicho microorganismo, basando su diagnóstico en las características microscópicas y el aspecto físico de la secreción, así como aumento del pH. Las mujeres con la flora inespecífica manifestaban un material acuoso grisáceo en la vagina, que se adhería a la pared de esta zona y tenía un olor desagradable, con un pH entre 5.0 y 5.5. En la observación en fresco se encontraron células del epitelio vaginal con un aspecto granuloso, con límites poco precisos y llenos de bacilo.

TAXONOMIA

La asignación original del bacilo de Leopold al género HAEMOPHILUS fue hecho en base a que la bacteria requería los factores X (hemo) y V (dinucleótido de adenina nicotinamida) para su crecimiento. El nombre *Haemophilus vaginalis* fue utilizado desde 1955 hasta 1961 cuando LaPage demostró que ni el hemo ni el dinucleótido de adenina nicotinamida eran esenciales y sugirió que el *Haemophilus vaginalis* debería pertenecer al género CORYNEBACTERIUM. En 1963, Zimmernann y Turner concluyeron que la bacteria no era gram-variable sino gram-positiva, y propusieron el nombre específico de *Corynebacterium vaginale*.(60) Pese a la oposición de microbiologistas tales como Washington, Greenwood y Pickett, el nombre propuesto fue vastamente aceptado. El manual de Bergery sobre bacteriología determinativa mantuvo el nombre de *Haemophilus vaginalis*. La razón principal por no haberse adoptado el nuevo nombre de *Corynebacterium vaginale*, fue el hecho, de que la bacteria no era un Corynebacterium. Los Corynebacterium son catalasa positivos, tienen arabinosa y ácido teicoico en la pared celular y son gram-positivos, además poseen un contenido significativo de guanina-citocina, y desde el punto de vista serológico se aglutinan consigo mismos. (45)

Finalmente, fue hasta 1980 que Greenwood y Pickett esclarecieron la taxonomía del microorganismo al utilizar 104 pruebas bioquímicas de cultivo y proliferación, así como los estudios de identificación del DNA hechos en muchas especies de HAEMOPHILUS. Los estudios de hibridación dieron una diferencia más clara ya que el DNA de *H. vaginalis* (*Corynebacterium vaginale*) solamente se liga con el DNA de este mismo microorganismo y no hibridiza con el DNA de otros miembros del género HAEMOPHILUS, y ello fue prueba de que no había relación genética entre *H. vaginalis* y otras especies de HAEMOPHILUS. Al no haber relación genética con el género CORYNEBACTERIUM ni con el género HAEMOPHILUS, Greenwood y Pickett propusieron un nuevo género llamado GARDNERELLA y su correspondiente especie, llamándose *Gardnerella vaginalis*. (1)

CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL MICROORGANISMO

Greenwood (3) define a *G. vaginalis* como un bacilo pleomórfico de aproximadamente 0.5 micras de diámetro y 1.5 a 2.5 micras de largo, no capsulado, inmóvil, quimiorganótrofo con metabolismo fermentativo, productor de ácidos pero no de gas a partir de gran cantidad de carbohidratos.

G. vaginalis es capaz de degradar el almidón y no necesita de los factores X y V para su proliferación; pero no obstante requiere al menos de 5 ó más vitaminas y 2 ó más purinas/pirimidinas. (3) (57) (66)

La cepa tipo de *G. vaginalis* es la 594 de Gardner y Dukes (ATCC 14018; NCTC 10287). Estudios basados sobre la hibridación del DNA en la exclusiva pared celular de tres capas del microorganismo indican que este género no se relaciona con ningún otro taxón. Si bien la pared celular es morfológicamente semejante a la de un microorganismo gram-negativo su composición química (o sea aminoácidos e hidratos de carbono) es la de una bacteria gram-positiva.

Es un anaerobio facultativo y fermentativo, y el ácido acético es su principal producto final; casi todas las cepas no necesitan sustancias de tipo coenzima. El pH óptimo para su desarrollo es de 6 a 7. Una beta-hemólisis definida se produce en agar sangre humana o de conejo, pero no ovina. (19) (67)

En forma general y sintetizando las características taxonómicas son las siguientes:

- Bastones pleomórficos con un diámetro de aproximadamente 0.5 micras y una longitud de 1.5 - 2.5 micras
- No se encuentran filamentos
- No capsulados ni formadores de endoesporas
- Tinción de gram-negativo o variable
- Pared celular laminada
- Motilidad negativa
- Anaerobio facultativo
- Necesita requerimientos especiales para su crecimiento
- Catalasa y Oxidasa negativa
- Quimiorganotrópicamente tiene un metabolismo de tipo fermentativo
- Produce ácido pero no gas de una variedad de carbohidratos incluyendo maltosa y almidón
- El ácido acético es el principal producto de fermentación
- El hipurato es hidrolizado
- Produce hemólisis en sangre humana pero no en sangre de carnero
- La proporción de G + C del DNA es 42-44

(20) (57)

IV.

La pared celular contiene aminoácidos N-acetilglucosamina, alanina, ácido aspártico, ácido glutámico, glicina, histidina, lisina, metionina, prolina, serina, treonina y triptófano.

El análisis de los ácidos grasos de la pared celular muestra: laurato, miristato, estearato y oleato (Greenwood y Pickett, 1980), ácido palmítico, esteárico y ácidos monoenoico Carbono-18 (Moss y Dunkelberg, 1969). El análisis de carbohidratos ha identificado 6-deoxitalosa pero no arabinosa en la pared de algún tipo de muestra (Vickerstaff y Colw, 1969). Una fracción semejante a un lipopolisacárido está asociada con la pared celular. (20)

Greenwood (57) describe evidencias acerca de la controversia en la clasificación de *G. vaginalis* como bacteria Gram-negativa, por ejemplo en un estudio realizado por Reyn y col. en el cual utilizaron microscopía electrónica, presentan evidencias de que *Gardnerella vaginalis* es una bacteria Gram-positiva. Por otra parte, Harper y Davis usaron cromatografía en capa fina para demostrar la composición de aminoácidos en la pared celular de tipo gram-positivo. Además el patrón de susceptibilidad a antibióticos de *GARDNERELLA* y su mecanismo regulador para la síntesis de citrato es más típico de las bacterias gram-positivo que gram-negativo.

En contra parte a lo encontrado por Reyn y col., Criswel y col. demostraron por micrografía electrónica una membrana exterior Gram-negativa en el microorganismo. Esta evidencia presentó que en la pared celular de *G. vaginalis* existían polisacáridos, una sustancia que se encuentra casi exclusivamente en las bacterias Gram-negativas. (57)

En el año de 1983, Sadhu y col. (36), concluyen que el nivel ultra estructural de la pared celular de la bacteria mostró una organización Gram-positiva, pero estas estructuras son inexplicablemente delgadas en la mayoría de las células, de este modo contribuyen al error de asumir que éstas son Gram-negativas.

La siguiente tabla muestra características bioquímicas importantes para *G. vaginalis* que ayudan a clasificarla taxonómicamente:

IV.

Tabla 1. Pruebas Bioquímicas.

| PRUEBA | RESULTADO |
|---|-----------|
| Producción de Indol | negativo |
| Ureasa | negativo |
| Voges-proskauer | negativo |
| Rojo de metilo | positivo |
| Producción de ácido sulfhídrico | negativo |
| Nitrato a nitrito | negativo |
| Inhibición de peróxido | positivo |
| Prueba de Benzadina (citocromas) | negativa |
| Hidrólisis de almidón | positiva |
| Hidrólisis de hipurato | positiva |
| Crecimiento en agar de telurito 0.01% | negativo |
| Crecimiento en agar Thayer Martín | negativo |
| Producción ácida de: | |
| Dextrosa, dextrina, maltosa, ribosa y almidón | positivo |
| L-Arabinosa, fructuosa, galactosa, inulina, lactosa manosa y sacarosa | dudoso |
| Arbutin, cefobiosa, glicerol, inositol, manitol, salicina | negativo |

(20)

Conjuntando estas características bioquímicas, así como las morfológicas, tenemos ya un patrón para poder identificar a *Gardnerella vaginalis*, como se verá más adelante.

V.

ASOCIACIÓN CON OTROS MICROORGANISMOS.

Existe una importante correlación entre los anaerobios y *G. vaginalis* en la vaginosis bacteriana. Diversos autores (27) entre los que se encuentran Eva Hjelm y el Dr. Sprott, describen bastones curvos anaerobios en la vaginitis, pero éstos son aislados únicamente cuando otros anaerobios están presentes.

Los microorganismos anaerobios comprenden varias especies, predominando los PEPTOCOCCUS, PEPTOSTREPTOCOCCUS, BACTEROIDES spp; se ha comprobado que *Mobiluncus* es parte de la flora existente en la vaginosis bacteriana, además que su aislamiento y su identificación definitiva es muy laboriosa y altamente costosa.

Otro tipo de microorganismo que también se incrementa en la vaginosis bacteriana son los micoplasmas, probablemente se favorezca su desarrollo debido a la presencia de succinato y otros ácidos orgánicos de cadena corta. (45)

En un estudio realizado por Yolanda Pavón y col. (3) en un 71.6 % de los casos estudiados. *G. vaginalis* se encontró asociada con otros microorganismos siendo *S. epidermidis* el aislado con mayor frecuencia, comparado con los resultados de Yarritu en 1981, que reporta sólo un 23 % de asociación con éste microorganismo y en mayor asociación a *Candida spp.*

La investigación de Shenna Reily y col. (14) de 9225 muestras, *G. vaginalis* se encontró en 623 (6.7 %) y de esos aislamientos la siguiente tabla muestra la relación con otros microorganismos.

TABLA 2. ORGANISMOS ASOCIADOS CON *G. vaginalis*

| ORGANISMO | NUMERO |
|--|-----------|
| <i>C. albicans / Candida sp</i> | 94 (15 %) |
| <i>Streptococcus</i> β -hemolítico, Lancefield grupo B | 9 (1.4 %) |
| <i>T. vaginalis</i> | 7 (1.1 %) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 1 |
| <i>Streptococcus</i> β -hemolítico, Lancefield grupo G | 1 |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1 |
| <i>Herpes simple</i> | 1 |

Por otra parte, en el estudio realizado por Elizabeth Holst y col. (28) con respecto a la asociación de microorganismos en una vaginosis bacteriana y el parto prematuro, se encontraron hasta 15 especies involucradas, de las cuales destacan por su alto porcentaje: *Prevotella bivia*, *Peptostreptococcus anaerobius*, *Peptostreptococcus asaccharolyticus* y *Gardnerella vaginalis*.

V.

Otros autores como I. M. Dattani y col. (32) reportan en su trabajo a *G. vaginalis* como el microorganismo principal asociado con *Mycoplasma hominis* y *Bacteroides spp.*, entre otros y en esa escala de importancia.

Morag I. Brown (108) sugiere que la vaginosis bacteriana puede llamarse también "vaginosis anaerobica" debido a la mezcla tan obvia de microorganismos presentes en dicha enfermedad, el asegura que de hecho ésta se manifiesta más claramente cuando en los cultivos aparece *G. vaginalis* acompañada de algún otro organismo como lo muestra la siguiente tabla:

Tabla 3. AISLAMIENTO DE ANAEROBIOS y *Gardnerella vaginalis* EN SECRECIONES VAGINALES DE DOS GRUPOS DE PACIENTES:

| | Cultivos positivos de anaerobios (proporción y porcentaje) |
|------------------------------|---|
| Medicina Genitourinaria | 64 / 141 |
| <i>G. vaginalis</i> positivo | 49 / 66 (74 %) |
| <i>G. vaginalis</i> negativo | 15 / 75 (20 %) |
| Planeación Familiar | 41 / 110 |
| <i>G. vaginalis</i> positivo | 27 / 38 (71 %) |
| <i>G. vaginalis</i> negativo | 14 / 72 (19 %) |

La tabla concluye que *Gardnerella vaginalis* aparece en proporción mayor siempre acompañada de otros anaerobios, además de numerosos polimorfonucleares; cuando *G. vaginalis* no se reporta, el número de muestras positivas (vaginosis bacteriana o anaerobica) es por mucho menor a aquellas que si la reportan.

VI.

MEDIOS DE CULTIVO Y AISLAMIENTO

Los microorganismos varían en sus requerimientos de desarrollo. Todos los microorganismos requieren fuentes de nitrógeno, carbono y oligoelementos. Algunos pueden utilizar un medio químicamente simplificado como amoníaco o nitrato, mientras que otros pueden fijar nitrógeno libre. Otros requieren hidrolizados de proteínas en forma de peptonas, que proveen componentes nitrogenados en una forma más accesible. Estas peptonas son materiales hidrosolubles obtenidos de proteínas mediante ácidos, álcalis o enzimas añadidas o intrínsecas. Casi todos los microorganismos tienen capacidad limitada de sintetizar estas macromoléculas. (11-1)

G. vaginalis es un microorganismo de crecimiento lento que en los medios de cultivo habituales es difícil de diferenciar de las otras bacterias vaginales. En el trabajo original de Gardner y Duke se utilizó el preparado de agar sangre de Casman con sangre de conejo desfibrinada al 5 %. En los trabajos subsiguientes, especialmente por Dukenberg, se utilizó el agar de peptona-almidón-dextrosa. Siendo la bacteria de tipo anaeróbico de la clase II, crece mejor en una atmósfera con oxígeno reducido y en presencia de dióxido de carbono. El pH óptimo para su crecimiento es de 6.0 a 6.5. Esta sensibilidad al pH hace necesario que si se utiliza el almidón y dextrosa se tengan que hacer frecuentes subcultivos de la bacteria (cada 48 horas o menos), además de que dicha sensibilidad, es probablemente la razón por la que Gardner y Duke no pudieron producir infección en los voluntarios normales con un cultivo puro del organismo. La *Gardnerella vaginalis* produce ácido acético lo cual lleva a la auto eliminación del microorganismo. (40)

Si bien no hay objeción respecto a la alta correlación entre la enfermedad y el aislamiento del organismo, es sin embargo obvio que *G. vaginalis* puede ser aislada de un porcentaje significativo de mujeres asintomáticas. (40)

G. vaginalis originalmente se aísla en Agar Casman y en Agar Proteosa No. 3 ambos adicionados con sangre de carnero. (3) Según Taylor y Phillips (1983), y Shaw y otros investigadores (3), la bacteria crece rutinariamente en Agar Columbia a 37°C durante 48 hrs. El Agar Columbia, contiene 10 % (v/v) de sangre de carnero desfibrinada (DIFCO) en una atmósfera de CO₂ al 5 % (v/v). (5). Kinghorn y col. (8), inocularon las muestras en el mismo Agar y bajo las mismas condiciones y encontraron a *G. vaginalis* como colonias redondas, levantadas y resplandecientes, con un diámetro de 0.5 mm. y frecuentemente con una zona limitada de α -hemólisis. (8)

VI.

Sautter y Brown (1) colectaron 65 muestras vaginales secuenciales de 7 mujeres sexualmente activas por período de un mes., utilizaron Agar de sangre de carnero y (PSD) peptona-almidón-dextrosa para recuperar *G. vaginalis*. Del total de microorganismos aerobios y anaerobios facultativos, *G. vaginalis* se aisló predominantemente en un 40 %.

Para el estudio realizado por Sheena Reilly y col. (14) las muestras se inocularon en el siguiente medio de cultivo:

Agar Columbia (CA) conteniendo sangre de caballo; CA conteniendo sangre humana; CA conteniendo sangre lisada de caballo, todos con antibiótico selectivo para *Neisseria gonorrhoeae* y Agar extracto de malta selectivo para *Candida spp.* Se incubo a 37°C por 48 hrs. en una atmósfera al 5 % de CO₂; después del tiempo de incubación, las colonias mostraron β-hemolisis en CA conteniendo sangre humana, se hizo tinción de Gram y se confirmó bacilos Gram-variable.

El microorganismo no crece en medios selectivos comunes; en Agar vaginalis (consiste en Agar base Columbia conteniendo 1 % de Proteosa Peptona No 3 -DIFCO-) las colonias son pequeños puntos después de una incubación de 24 hrs., pero después de una incubación de 48 hrs. son de 0.4 - 0.5 mm. de diámetro. Las colonias son redondas, opacas y uniformes. Estas se hacen más largas (> 0.5 mm.) después de 48 hrs., pero su viabilidad disminuye rápidamente.

Muchos investigadores han utilizado como medio de aislamiento el Agar Chocolate enriquecido con algún suplemento poli vitamínico. Posteriormente, Dunkelberg y col. (101) diseñaron un sistema de aislamiento a partir de un nuevo medio de cultivo, el PSD; Goldberg y Washington emplearon el Columbia-CNA; Greenwood y col. formularon el Agar Vaginalis o Agar V.

Se ha señalado que los medios a base de almidón como el PSD y sus modificaciones, proporcionan mayor índice de aislamiento que el Agar Chocolate. El Agar V es comparable en cuanto a efectividad al PSD, siendo su manejo mucho más cómodo. Por otra parte los medios con antibióticos como agentes selectivos han proporcionado mejores resultados al inhibir la flora acompañante. (101)

Gardnerella vaginalis es muy especial en sus requerimientos nutricionales, pero no necesita el factor V (nicotinamida-adenina-dinucleótido), factor X (hemina) o sustancias semejantes a coenzimas (Dunkelberg y Mc Veigh, 1969; Edmunds, 1962). Dunkelberg y Mc. Veigh, 1969 (20) (101) reportaron que requiere: biotina, ácido fólico, niacina, tiamina, riboflavina y dos o más purinas/pirimidinas (Dunkelberg y Mc Veigh, 1969). El crecimiento se incrementa con carbohidratos fermentables que con adición de ciertas peptonas. (20) (101)

VI.

El Agar sangre humana semiselectivo de dos capas (Agar HBT) se inocula haciendo rodar un hisopo en un sector de la placa. A partir de este inóculo, se siembra en estrías con un asa para permitir una estimación semicuantitativa del desarrollo de aislamiento. (19)

Las colonias son no hemolíticas en Agar sangre de carnero, pero la mayoría de las muestras exhiben una β -hemólisis difusa en sangre de humano o de conejo.

El crecimiento óptimo del organismo se realiza a una temperatura de 35 - 37°C. Aunque podemos encontrar crecimiento a 25 y 42°C. El rango óptimo de pH es de 6.0 - 6.5. No se encuentra crecimiento a un pH de 4.0 y sí un ligero crecimiento a pH de 4.5. (20)

Totten y col. (54) (83) (101) diseñaron un medio selectivo y diferencial a base del empleo de sangre humana en bicapa (Medio HB) que se prepara colocando una capa basal de Agar Columbia adicionado con anfotericina B, colistina (10 mcg/ml) y ácido nalidíxico (15 mcg/ml). De esta preparación se agregan 7 ml. a cada caja de Petri, posteriormente se añade una capa sobrepuesta de la misma composición más la adición de 1 % de proteosa, peptona No. 3 (Difco Laboratories).

Después de esterilizar por autoclave, se agrega 5 % de sangre humana y 0.0075 % de Tween 80. Se vacían 14 ml. por placa de Petri y una vez que la capa basal se ha solidificado, las placas se incuban a 37°C en 5 % de CO₂ durante 48-72 hrs una vez sembradas las muestras obtenidas del raspado de la pared vaginal. (110)

Tanto el Tween 80 como la bicapa de Agar, incrementan la producción de hemólisis en la sangre humana, la cual se puede apreciar con mayor facilidad, independientemente del crecimiento de otros microorganismos de la flora vaginal; se observan colonias blancas, puntiformes, β -hemolíticas de 0.3 - 0.5 mm. de diámetro. Si se desea conservar las colonias, estas deben subcultivarse de 48 - 72 hrs, ya que uno de los productos que se liberan de manera considerable como efecto de su metabolismo, es el ácido acético que afecta negativamente su desarrollo pues el pH del medio decrece.

En un experimento realizado por M. A. Bratos Pérez y col. (101) donde utilizaron diferentes tipos de medios para el aislamiento de *G. vaginalis* (tabla) observaron que la hemólisis en el medio HBT fue más evidente que en el Agar V. En Agar Chocolate las colonias no estaban rodeadas de un halo verdoso. Asimismo, el tamaño de las colonias fue ligeramente mayor en el medio HBT que en el Agar V, y en éste mayor a su vez que en el Agar Chocolate. (101)

VI.

Tabla 4. AISLAMIENTO DE *G. vaginalis* EN TRES MEDIOS DE CULTIVO

| Intensidad del crecimiento | HBT | | Agar V | | Agar Chocolate | |
|----------------------------|-----------|--------|-----------|-------|----------------|--------|
| | + / n | (%) | + / n | (%) | + / n | (%) |
| 4 + | 111 / 125 | (88.8) | 105 / 125 | (84) | 33 / 110 | (30) |
| 3 + | 10 / 125 | (8) | 10 / 125 | (8) | 24 / 110 | (21.8) |
| 2 + | 1 / 125 | (0.8) | 1 / 125 | (0.8) | 32 / 110 | (29) |
| 1 + | 3 / 125 | (2.4) | 4 / 125 | (3.2) | 17 / 110 | (15.4) |
| No crecimiento | 0 / 125 | | 5 / 125 | (4) | 4 / 110 | (3.6) |

(101)

HBT Agar sangre humana semiselectivo de dos capas

AGAR V Agar Vaginalis

+ / n No. de positivos / total de muestras

El Agar HBT muestra una intensidad de crecimiento mayor con respecto a los otros medios y su confiabilidad también es patente, de acuerdo con los porcentajes obtenidos.

DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACION.

El diagnóstico se logra, valiéndose de métodos de cultivo microbiológicos; sin embargo el tiempo y recursos necesarios hacen muy difícil su práctica en laboratorios clínicos, y en especial, en sitios cuyos elementos de trabajo son modestos. La metodología para diagnóstico rápido se divide en: técnicas que ponen de manifiesto la presencia de microorganismos microscópicamente; las que detectan algún componente antigénico de los mismos; y aquellas que miden la cantidad de anticuerpos sintetizados a consecuencia de una infección.

Para la toma de muestras cervicovaginales, debe colocarse a la paciente en posición ginecológica y a través de un espejo vaginal sin lubricante, se toman muestras de paredes vaginales. El fluido vaginal puede colectarse con hisopos de alginato de calcio o hisopos de algodón. Para transportar la muestra se puede colocar el mismo, en medio de Amies o Stuart o directamente sembrar la muestra en el cultivo antes de 24 horas. (45)

Desde el punto de vista práctico, es necesario diferenciar con claridad los cuadros de la vaginosis bacteriana. Amsel y col. (126) * proponen para tal efecto el cumplimiento de al menos tres de las siguientes características:

1. pH de la secreción vaginal mayor de 4.5
2. presencia de células "clave" o gufa en el examen en fresco
3. prueba positiva de KOH
4. secreción vaginal grisácea, delgada y homogénea.

El pH vaginal se determina al tocar uno de los hisopos de algodón que contiene la muestra con papel para pH, al limpiar una pared vaginal con papel para pH o al mojar una tira de papel para pH con las secreciones que quedan en el espéculo vaginal después de extraerlo. Hay que tener cuidado de no extraer moco cervical al tomar la muestra, ya que su pH elevado puede alterar los resultados. (130)

Las células clave o gufa son células epiteliales recubiertas totalmente con bacterias cocobacilares, de tal manera que los bordes no se aprecian con nitidez; no hay que confundirlas con células granulosas, a las que se han adherido bacilos de Döderlein.

En ocasiones, a pesar de que la paciente presenta leucorrea fétida, con pH alterado, no se aprecian las células clave, y esto es debido probablemente, según Levison y col. (45) a que las pacientes presentan un proceso crónico y por consiguiente hay producción de inmunoglobulina A local, la cual bloquea la adhesión de las bacterias a la célula.

Las secreciones vaginales que se acumulan en el fondo del saco posterior se obtienen empleando un hisopo de algodón; la muestra se coloca en una laminilla, se añade una gota de solución salina normal y se aplica un cubreobjetos; se toma una segunda muestra de la pared vaginal y se coloca en otra laminilla, se añade una gota de hidróxido de potasio (KOH) y un cubreobjetos. El olor acre, parecido al del pescado, al añadir el KOH (prueba de olor positiva) es debido a la liberación de diaminas (putresina y

VII.

cadaverina) esto es un fuerte indicio de vaginosis bacteriana. En ocasiones las tricomonas generan también una prueba de olor positiva. (126) (130)

En el laboratorio los métodos para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana incluyen:

- Tinción de Gram directa en secreciones vaginales
- Evaluación de la flora vaginal
- Cultivos para *G. vaginalis*
- Pruebas bioquímicas del metabolismo de la bacteria vaginal
- Cromatografía de gases
- Prueba de prolina-aminopeptidasa
- Anticuerpos fluorescentes
- Técnica de inmunofluorescencia directa
- Técnica de inmunodifusión
- Microscopía electrónica
- Prueba rápida para determinar la presencia de prolina aminopeptidasa

(7) (45) (131)

La tinción de Gram distingue generalmente dos diferentes tipos de pared celular bacteriana, convenientemente llamadas gram-positiva y gram-negativa, estas difieren radicalmente en composición química y estructura molecular (Costerton y col., 1974; Beveridge, 1988). Las bacterias gram-negativas se caracterizan por una elaborada membrana externa que se apoya fuera de la membrana citoplásmica y regula el paso de solutos dentro del espacio periplásmico.

En 1966 Reyn y col. observaron que la naturaleza de la pared celular de *G. vaginalis* por mucho tiempo estuvo sujeta a disputa. Esta no retiene el cristal violeta durante un procedimiento convencional de tinción de Gram, pero despliega características gram-positivas tales como la formación de un septum durante la división celular. Y en 1980 Piot y col. presentaron un modelo de sensibilidad a antibióticos de *G. vaginalis* también asemeja a las bacterias gram-positivas. (36)

La determinación de la vaginosis bacteriana puede diagnosticarse por una evaluación de tinción de Gram del fluido vaginal, como lo realizó Spiegel y col. (42) encontrando una relación entre lactobacilos, *G. vaginalis* y otros microorganismos.

VII.

TABLA 5. Micro flora vaginal en pacientes con y sin vaginosis bacteriana determinada por tinción de Gram en frotis de fluido vaginal.

| MORFOLOGIA DE LOS ORGANISMOS OBSERVADOS | DIAG CON VAGINOSIS (n = 25) | NOSTICO CLINICO SIN VAGINOSIS (n = 35) | P valor |
|---|-----------------------------|--|---------|
| Cocos gram-positivo | 15 | 3 | <0.001 |
| Bacilos gram-negativo | 24 | 0 | <0.001 |
| <i>Lactobacillus</i> con morfología de (0-2+) | 25 | 5 | <0.001 |
| <i>Gardnerella</i> | 25 | 9 | <0.001 |
| Bastones curvos | 11 | 0 | <0.001 |

n= total de muestras trabajadas en cada caso

(42)

Como *Gardnerella vaginalis* puede constituir parte de la flora normal, el criterio es el siguiente:

Cuando se encontraron lactobacilos solos [bastones largos G(+)] o en presencia únicamente de *G. vaginalis* (bastones cortos Gram- variables) la muestra fue interpretada como normal. Cuando los lactobacilos estuvieron ausentes o presentes en bajo número (1 ó 2 +) y *G. vaginalis* y otras formas predominaron, la muestra se interpreto como vaginosis bacteriana.

El decremento y prevalencia en la concentración de *Lactobacillus* sobre la tinción de Gram en mujeres con vaginosis bacteriana es proporcional al decremento en cantidad y prevalencia de lactobacilos cultivables y al decremento de ácido láctico en el fluido vaginal. (42)

La tinción de Papanicolaou no es el método apropiado para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana, sin embargo, un resultado negativo prácticamente excluye la posibilidad de enfermedad. (91)

La microscopía electrónica de barrido se ha utilizado en este padecimiento para demostrar que los morfotipos cocobacilares se adhieren a la superficie de las células epiteliales descamadas de la vagina; de tal forma que este método nos brinda una imagen que muestra que las células clave o gufa no tienen destrucción del plasmalema. (45)

La detección de células clave es uno de los criterios para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana, se sabe que los frotis húmedos de éstas no se pueden almacenar. Larsson y Platz-Christensen (84) evaluaron la detección de las células clave con secado de aire rehidratado de los frotis húmedos, es un procedimiento que aun se investiga pero arroja buenos resultados. (83)

VII.

Se debe ser cauteloso en la observación de células clave, ya que tomando este dato en forma aislada, se tiene un riesgo importante de falsos positivos en el diagnóstico de vaginosis, puesto que muchas otras bacterias residentes en el área se pueden adherir a la célula epitelial, tales como estreptococos, los mismos *Lactobacillus* y difteroides. (64)

La identificación definitiva de la cepa, requiere un estudio laborioso de sus características microbiológicas (TABLA 6). Recientemente se han desarrollado otras tecnologías a base de anticuerpos monoclonales, fluorescentes y de biología molecular (dot blot). (45)

TABLA 6. Características microbiológicas de *G. vaginalis*

| PRUEBA | RESULTADO | % POSITIVO |
|--------------------------------|-----------|------------|
| Beta hemolisis (sangre humana) | + | 99 |
| Catalasa y oxidasa | - | 0 |
| Hidrólisis del hipurato | + | 90 |
| Hidrólisis del almidón | + | 100 |
| Crecimiento en MacConkey | - | 0 |
| Crecimiento en Kligler | - | 0 |
| Ácido de: Glucosa | + | 100 |
| Maltosa | + | 100 |
| Manitol | - | 0 |
| Almidón | + | 100 |
| Alfa glucosidasa | + | 100 |
| Beta glucosidasa | - | 0 |
| Inhibición por: Bilis | + | 100 |
| Sulfonamidas | - | 0 |
| 5 nitromidazol | + | 100 |

(45)

Yong y Thompson (61), idearon un micro método rápido que consta de las siguientes pruebas: almidón-hipurato-rafinosa RM-SHR (son sus siglas en ingles). La idea es diferenciar a *G. vaginalis* de otros microorganismos aislados del tracto vaginal como, *Lactobacillus*, especies de *Bifidobacterium* y difteroides. El criterio fue el siguiente: *Lactobacilli* raramente fermenta el almidón, mientras que *G. vaginalis* lo fermenta, muestras Aero-tolerantes de *Bifidobacterium* no hidrolizan el hipurato en contraste con *G. vaginalis* que en la mayoría de las veces lo hidroliza. Los difteroides son catalasa positiva y generalmente almidón negativo. Además, difteroides y *Lactobacilli* crecen en

VII.

medios compuestos con sangre de carnero (Agar soya tripticasa (BBL) adicionado con 5 % de sangre de carnero) en comparación con *G. vaginalis* que crece en agar sangre humana.

La hemolisis beta difusa que produce la *G. vaginalis* en cultivo con sangre humana pero no en agar con sangre de caballo ha sido muy útil para diferenciarla de otros microorganismos vaginales. Esta característica, junto con su morfología en el extendido de Gram y las reacciones con la catalasa y oxidasa suministran un método simple y confiable para su identificación. La incorporación de antibióticos selectivos como la colistina o la gentamicina en el medio apropiado con hem humano ayuda a la identificación, al inhibir a otras especies no vaginales. Otro medio alternativo que ha sido efectivo es el agar con base Columbia suplementado con anfotericina B (para inhibir *Candida albicans*) y colistina (para inhibir otros aislados vaginales). (40)

El mayor problema para el diagnóstico en el laboratorio es la diferenciación de *G. vaginalis* de otros cocobacilos catalasa negativa los cuales están presentes comúnmente en mujeres con vaginosis o sin ésta.

TABLA 7. Diferencias entre *G. vaginalis* y corineformes catalasa (-) no identificados (UCO), presentes en vagina

| PRUEBA | <i>G. vaginalis</i> | UCO |
|-------------------------------|---------------------|--------------|
| Beta-hemolisis (medio HBT) | + | - |
| Alfa-hemolisis (medio HBT) | - | V |
| Hidrólisis de hipurato | + | V |
| Hidrólisis de almidón | + | V |
| Lipasa | V | V |
| Alfa-glucosidasa | + | + |
| Beta-glucosidasa | - | V |
| Beta-galactosidasa | V | V |
| Maltosa (ácido) | + | + |
| Manitol (ácido) | - | V |
| Metronidazol 50 µg (agar PSD) | algunas zonas | ninguna zona |
| Sulfonamida 1 mg. | ninguna zona | V |
| Bilis 10 % (agar PSD) | algunas zonas | ninguna zona |

* Variable (> 10 % y < 85 % de reacciones positivas)

(54)

La técnica de Western-Blot fue valorada y probada para examinar la composición antigénica de muestras de *G. vaginalis*, todas las muestras examinadas mostraron un antígeno común de 41 KDa. En la investigación realizada por L. Boutoullier y col. (5) encontraron que estudios realizados en 1974 por Smaron y Vice utilizando Análisis Ouchterlony, mostraron que las muestras de *G. vaginalis* poseen un determinante antigénico común, no obstante esta técnica de inmunodifusión no indica el peso molecular.

Según Sheena Reilly y col.(14), los aislamientos se identifican como *G. vaginalis* si la prueba de sensibilidad en disco incubada anaerobicamente sobre agar sangre, revela:

- resistencia al metronidazol (5µg) ;
- sensibilidad al metronidazol (50 µg) ;
- lateralmente sensibilidad al trimetoprim (5 µg)

En un estudio realizado por Larry Reimer y Reller (44) encontraron que *G. vaginalis* es semejante a *P. anaerobius*, *Neisseria meningitidis* y *Neisseria gonorrhoeae*, estas son inhibidas por polianetosulfonato de sodio (SPS) en medio de cultivo sangre. Dado que la susceptibilidad hacia discos conteniendo SPS es comúnmente usada para identificar *P. anaerobius*, fue investigado el uso de una prueba similar para identificar a *G. vaginalis* y compararla con otros métodos para una identificación presuntiva. El resultado fue del 100 % en las pruebas inhibidas por SPS contenido en los discos.

Peter A. Csángó y col.(55) realizaron una caracterización de *G. vaginalis* mediante cromatografía de gases; los ácidos grasos que en mayor cantidad se detectaron fueron: el hexadecanoico (16:0), y el octadecanoico (18:1) y (18:0) utilizando diferentes medios de cultivo: agar chocolate, y agar sangre, y diferentes condiciones de tiempo: 2 y 3 días. De esto se deduce que la composición celular de ácidos grasos es relativamente simple.

El sistema API 20 Strep (API System, La Balme Les Grottes, Montalieu-Vercieu, France) que no se debe confundir con API 20S (Analytab Products Plainview, N.Y.), se emplea para identificar *G. vaginalis*, este método incluye una serie de pruebas bioquímicas --20- en una galería. Es indispensable que la suspensión del organismo usada en la primera parte de la galería, sea el estándar de 4 de Mc Farland; frecuentemente se requiere el crecimiento de más de una caja. (17)

VII.

TABLA 8 . Reacciones positivas obtenidas por *G. vaginalis* en el sistema API Strip

| PRUEBA | % POSITIVO |
|----------------------------|------------|
| Voges-Proskauer | 0 |
| Hidrólisis de Hipurato | 88 |
| Hidrólisis de Esculina | 0 |
| Pirrolidónilarginilamidasa | 0 |
| α -Galactosidasa | 0 |
| β -Glucuronidasa | 1 |
| β -Galactosidasa | 75 |
| Fosfatasa Alcalina | 0 |
| Aminopeptidasa Leucina | 98 |
| Arginina Dehidrolasa | 0 |
| Fermentación de Ribosa | 28 |
| Fermentación de Arabinosa | 16 |
| Fermentación de Manitol | 2 |
| Fermentación de Sorbitol | 0 |
| Fermentación de Lactosa | 1 |
| Fermentación de Trehalosa | 0 |
| Fermentación de Inulina | 0 |
| Fermentación de Rafinosa | 0 |
| Fermentación de Almidón | 70 |
| Fermentación de Glucógeno | 47 |

(17)

VII.

TABLA 9. Características fisiológicas de *G. vaginalis* que complementan las tablas anteriores.

| PRUEBA | REACCIÓN O RESULTADO |
|---|----------------------|
| Hidrólisis del ONPG * | d * |
| Prueba de rojo de metilo | + |
| Hidrólisis de caseína | d |
| Inhibición de peróxido de hidrógeno | + |
| Crecimiento a: | |
| pH 4 | - |
| pH 8 | d |
| 25 °C | d |
| 30 °C | d |
| Producción de ácido a partir de: | |
| dextrosa, dextrina, maltosa, ribosa, almidón | + |
| L-arabinosa, fructosa, galactosa, insulina, lactosa, manosa, sucrosa, y xilosa. | d |

* ONPG = o-nitrofenil-β-D-galactopiranosidasa

d = dudoso

(20)

Recientemente se incorporo otro método nuevo para el diagnóstico de *G. vaginalis*, éste se conoce como "The Affirm VP System" y ayuda también en el diagnóstico de tricomoniasis. (131)

El sistema usa pruebas de oligonucleótidos sintéticos para la detección simultánea de *G. vaginalis* y *T. vaginalis* en un sólo frotis vaginal. Los oligonucleótidos probados para *G. vaginalis* fueron muy sensibles a la prueba para la detección de $>5 \times 10^5$ UFC del organismo por ml., hecha una buena comparación con detección de células guía por montaje húmedo y también con el diagnóstico por tinción de Gram. Este sistema demostró una sensibilidad del 90 % y una especificidad del 97 %.

VIII.

PATOGENIA

El término patogenicidad y virulencia son sinónimos, y es la capacidad de producir enfermedad. Para que un microorganismo sea patógeno debe cumplir con los siguientes pasos:

1. Infectar; superficies mucosas de tracto respiratorio, gástrico o urogenital. Algunos microorganismos se introducen en el huésped a través de la piel por un trauma o una mordedura o picadura de un vector, pero la mayoría de las infecciones inician sobre las superficies de mucosas.

2. Entrada; usualmente es por superficie de mucosas del huésped

3. Multiplicidad; en los tejidos del huésped

4. Resistir o interferir con los mecanismos de defensa del huésped para remover o destruirlo.

5. Causar daño; sobre los tejidos del huésped.

La ruta de entrada en el huésped es a través de membranas mucosas. Estudios basados en la electromicroscopía muestran que algunas bacterias como el bacilo de la disentería, es ingerido y retenido por células epiteliales, otros como los gonococos son ingeridos y pasan a través de las células dentro del tejido sub-epitelial y otros, como la *Salmonella typhimurium* pasa a través y entre las células (Smith 1968; McGee y Horn 1979; Formal y col. 1983).

La multiplicación del microorganismo observada "in vivo" e "in vitro" dependerá de los nutrientes y las condiciones que éste requiera; por ejemplo *Corynebacterium renale* en la vaca y *Protus mirabilis* en el hombre causan infecciones severas en el riñón (Smith 1968). El crecimiento de ambas bacterias es fuertemente estimulado por la urea, la cual se concentra en el riñón, ambas bacterias poseen concentraciones elevadas de ureasas las cuales pueden ayudar en la utilización metabólica de la urea y liberar amonio el cual daña el tejido renal.

Existen muchos y variados mecanismos de defensa del huésped, que en suma consisten en factores celulares y humorales y estos proceden de fluidos corporales. Ellos se conocen como polimorfonucleares y fagocitos mononucleares, los cuales actúan en 4 pasos:

- movilización por inflamación
- quimiotaxis hacia la bacteria
- ataque e ingestión
- muerte por falta de oxigenación.

La bacteria puede inhibir uno o más de estos pasos, como en el caso del *staphylococcus* virulento que produce una pared celular de peptidoglican que le da una capacidad antiinflamatoria (Glynn, 1972; Easmon, 1984) mediante un proceso activo; o *Treponema pallidum* que mediante un proceso pasivo aparece rodeada por una envoltura la cual no estimula la respuesta inflamatoria (Penn, 1983). (122)

Las bacterias patógenas dañan el tejido del huésped por dos vías: 1) producción de toxinas y 2) estimulación de reacciones inmunológicas dañinas.

VIII.

G. vaginalis produce una toxina conocida como toxina citolítica (CTOX) (4). Esta toxina es una proteína anfifílica con un peso molecular de 61-63 KDa. La CTOX tiene una actividad lítica sobre los eritrocitos humanos y células nucleadas, como las células endoteliales y los neutrófilos. No hay efecto de CTOX hacia otras especies de eritrocitos, demostrando así su especificidad. El mecanismo citolítico de la toxina no está ligado hacia la actividad de fosfolipasa.

Gardnerella vaginalis es un microorganismo que se sigue investigando para conocer si está involucrado directamente en la vaginosis bacteriana; se le considera patógeno porque causa daño, y además se tienen evidencias de que forma parte de la flora normal bacteriana: la bibliografía reporta ampliamente que este microorganismo presenta adhesividad y hemaglutinación.

Gardner y Duker (69) descubrieron que en la descarga vaginal de la vaginosis bacteriana las células epiteliales estaban cubiertas por la bacteria, estas células fueron llamadas "células clave". La presencia de estas células cubiertas con bacilos Gram variable indicaron una asociación de adhesividad en las muestras de *G. vaginalis*.

Edmunds en (1962) (35) fue el primero en demostrar que *G. vaginalis* posee propiedades hemaglutinantes, por otro lado la adherencia fue demostrada por Mardh y Weström, 1976 y Sobel y col. en 1981 (69). Estos investigadores demostraron el alto grado de adhesión de *G. vaginalis* hacia las células epiteliales en comparación con otras bacterias de la flora normal.

Sobel y col. (69) demostraron que la adherencia de *G. vaginalis* hacia las células del epitelio vaginal en diferentes etapas del ciclo menstrual no varía; y que la adherencia hacia las células de cultivo de tejido vaginal es comparable con la adherencia hacia las células epiteliales vaginales exfoliadas.

La adhesión puede parecer lábil al calor y ser afectada por radiación ultravioleta. Esta adherencia puede inhibirse por un pre-tratamiento de las células epiteliales con periodato de sodio.(35)

En 1985 Ison y Eason (69) demostraron que la hemaglutinación fue manosa resistente y se descubrió que la D-galactosa y la D-galactosamina reducen marcadamente esta hemaglutinación; y no hay un efecto similar sobre la adhesión en las células escamadas del epitelio vaginal (Peeters y Piot, 1985) sugiriendo que el receptor complejo en estas células puede ser diferente.

Thomas G. y Cyril J. (35) utilizaron diferentes sistemas para la hemaglutinación y la adhesión en cultivo de tejidos para *G. vaginalis* con respecto a la sensibilidad:

- Periodato de sodio y tripsina
- Inhibición por lípidos y azúcares
- Grado de hidrofobicidad conferido sobre la superficie celular de la bacteria

Estos descubrimientos sugieren que dos adhesiones están presentes, las cuales parecen ser proteinasas debido a la respuesta de la bacteria hacia tratamientos con pronasa y con calor suave. No obstante, el efecto inhibitorio marcado de tripsina sobre la adhesión en cultivo de tejidos y el fracaso de anular la hemaglutinación implica que la separación de proteínas está involucrado.

VIII.

Por los descubrimientos obtenidos (35) (124) como ya se indicó existen al menos dos sistemas distintos de adhesión-proteína. El efecto de la irradiación ultravioleta en la hemaglutinación puede sugerir el involucrar fimbrias (Trus y col., 1980). Se han encontrado fimbrias en las cepas de *G. vaginalis* (Johnson y Davies, 1984) pero esto no es una evidencia de su papel en la hemaglutinación o la adhesión en las células epiteliales. Descubrimientos preliminares por microscopía electrónica examinaron el ataque de la bacteria hacia los eritrocitos y células de cultivo de tejidos, indicando que la hemaglutinación puede ser mediada por fimbrias pero que la adhesión en cultivo de tejidos puede ser mediada por alguna otra estructura fibrilar de la pared de la bacteria.

El descubrimiento de que el periodato de sodio anula la actividad de la hemaglutinación no necesariamente indica que estén involucradas residuos de carbohidratos sobre esta adhesión, ya que el periodato puede inactivar también algunas proteínas y puede causar la oxidación del NH₂-serina terminal, teonina y cisteína (Georghagan y col., 1980).

El efecto del periodato tanto en eritrocitos como en cultivo de tejidos sugiere que los receptores para la adhesión, pueden ser residuos de carbohidratos, aunque la oxidación de las proteínas es posible. Como quiera que sea, la pronasa no tiene efecto en ambos tipos de células, lo cual soporta la hipótesis de que el receptor puede no ser una proteína.

La neuraminidasa no tiene efecto en la adhesión sobre cultivo de tejidos pero reduce la actividad de hemaglutinación, indicando el papel del ácido N-acetilneuramínico en los receptores complejos de los eritrocitos.

La D-galactosa, D-galactosamina y la lactosa inhibieron la hemaglutinación, indicando la presencia de galactosa como receptor en los eritrocitos. La lactosa mostró un mayor nivel de inhibición con respecto a la galactosa, y cuando la lactosa fue combinada con el ácido N-acetilneuramínico la inhibición fue disminuida, indicando que la galactosa puede estar presente en una conformación particular o enlazada con el ácido N-acetilneuramínico como parte de un receptor complejo. La inhibición parcial de la hemaglutinación por ácido fosfatídico y la inhibición completa por fosfatidil serina es interesante; indicando un posible papel para la serina en un complejo receptor sobre los eritrocitos.

Resumiendo, el efecto de la irradiación ultravioleta en la hemaglutinación puede sugerir el involucrar fimbrias; el efecto del periodato tanto en eritrocitos como en cultivo de tejidos sugiere que los receptores para la adhesión, pueden ser residuos de carbohidratos. Por otra parte se presupone que los eritrocitos tienen como parte de un receptor complejo la presencia de N-acetilneuramínico y galactosa y que posiblemente la serina también forme parte de este receptor.

El fracaso de las pruebas de sacarina, fosfolípidos y serina (35) para inhibir la adhesión en cultivo de tejidos puede indicar la presencia de receptores separados sobre las células de cultivo de tejidos.

Las propiedades hidrofóbicas pueden aparecer debido a una superficie asociada a estructuras de proteínas.

VIII.

La vulvovaginitis por *Gardnerella vaginalis* es uno de los mayores problemas dentro de las enfermedades de transmisión sexual y su patogénesis está esencialmente sin resolver. Uno de los factores fundamentales es la ausencia de síntomas en el varón. Tampoco está claro cuales son las alteraciones de la flora microbiológica en el tracto genital femenino que se requieren para producir infección y el desarrollo de la enfermedad . (40)

En la literatura se ha encontrado que *G. vaginalis* es un organismo con baja virulencia y patogenicidad, no obstante que fue claramente asociado con el síndrome característico de leucorrea y comúnmente se encuentra en el tracto genital de la mujer y en mayor número en mujeres con enfermedad clínica.

Investigadores han demostrado una significativa asociación del incremento de la flora bacteriana anaerobia en presencia de *G. vaginalis* y la vaginosis bacteriana (1)

La relación del microorganismo y el desarrollo de enfermedad, parece ser, en alguna medida función de la magnitud de la replicación bacteriana. Estudios bacteriológicos cuantitativos llevados a cabo en la Universidad de la Florida y por Levison y col. han demostrado que la enfermedad, cuando se debe primariamente a *G. vaginalis*, esta asociada con la presencia de más de 10^7 unidades formadoras de colonias (UFC/g) por gramo de fluido vaginal. Si luego del tratamiento la persona es reinfectada por una pareja sexual no tratada, el paciente es generalmente asintomático; sin embargo, en este estado el conteo cuantitativo es menor de 10^7 unidades formadoras de colonias por gramo de fluido vaginal . (40)

La enfermedad vaginal asociada con *G. vaginalis* es superficial y no esta caracterizada por invasión de tejido. Gardner y Dukes's (3) observaron poco eritema o edema en la vulva y muy poca anomalía en la mucosa vaginal. En otro estudio (8) (el cual excluye a *T. vaginalis* e infecciones por hongos) se encontró evidencia microscópica de suaves cambios inflamatorios en únicamente el 11% (2 de 18) de pacientes con la enfermedad sintomática. Josey y col. (1) (9) en su evaluación a 164 pacientes con *Corynebacterium vaginale* asociado a leucorrea , observaron una fuerte inflamación vaginal raramente observada.

El hecho de que *G. vaginalis* se adhiera a las células epiteliales escamosas de vagina sugiere que éste es un organismo fuerte y tiene cierta importancia en las infecciones del tracto genital bajo. (13)

Se requiere documentar la presencia de otros organismos además de *G. vaginalis* , pero el cultivo de bacterias anaerobias es altamente limitante, costosa y tardado, el riesgo que existe es la sobre-interpretación de los hallazgos en la bacterioscopia, la presencia de bacilos curvos no es sinónimo de *Mobiluncus spp*, ya que no son los únicos; igual comentario podría hacerse al respecto de cocos gram positivos y su interpretación de *Peptostreptococcus spp*.

VIII.

La posibilidad de documentar la presencia de *Micoplasmas hominis* y *U. urealyticum* en vaginosis bacteriana puede ser crítica, sobre todo en aquellas pacientes que han recibido tratamientos fallidos previos. Se ha observado que una de cada dos o tres pacientes con vaginosis, se les aísla alguna variedad de micoplasma genital. El cultivo requiere medios especiales a base de infusión carne-corazón (PPL0) suplementado con levadura fresca, suero de caballo y algunas otras sustancias como rojo de fenol, arginina, urea o glucosa. *M. hominis* metaboliza la arginina hacia amonio y eleva el pH del medio los ureaplasmas producen ureasa que rompe la urea hacia amonio con cambios circulares de pH la identificación se realiza por pase a medio sólido e inhibición específica de cada especie.

Esta interacción de bacterias en la vaginosis bacteriana ha dado la pauta de que también se conozca como vaginosis multibacteriana o infección polimicrobiana. (69)

Conociendo de antemano esta interacción, la etiología de la vaginosis bacteriana es variada, requiere un análisis individual de cada paciente así como un procedimiento unificado de manejo de especímenes para valorar cada uno de los procedimientos realizados.

Teniendo el antecedente de que *G. vaginalis* esta asociada con otros microorganismos es común encontrarla en diferentes enfermedades acompañada de uno o mas de éstos. En un estudio realizado en la Universidad de Chicago (18) se encontró que *G. vaginalis* fue aislada aproximadamente con la misma frecuencia que *U. urealyticum*; ambos organismos se encontraron en la orina de 11 pacientes (8 mujeres con un embarazo sano y 3 con preclampsia).

Tabla 10. Asociación de *Gardnerella vaginalis* y *U. urealyticum* en el embarazo.

| ORGANISMO (ufc/ml) | EMBARAZO SANO | PRECLAMPSIA |
|------------------------------|---------------|-------------|
| <i>U. urealyticum</i> | | |
| < 10 | 10 / 72 | 1 / 51 |
| > 10 | 6 / 72 | 9 / 51 |
| Total (%) | 16 / 72 | 10 / 51 |
| <i>G. vaginalis</i> | | |
| < 10 | 7 / 72 | 1 / 51 |
| > 10 | 9 / 72 | 10 / 51 |
| Total (%) | 16 / 72 | 11 / 51 |

(18)

Mc Dowal (1981, por ejemplo) llegó a la conclusión de que *G. vaginalis* y *U. urealyticum* pudieran actuar sinérgicamente, especialmente en el embarazo (12).

VIII.

Así como este hay muchos trabajos en vías urinarias que involucran a *G. vaginalis* como otro de los agentes etiológicos (71), en Australia se encontró involucrado en un 7 % de un total de 123 muestras, como un ejemplo de lo antes mencionado. (70)

El papel de *G. vaginalis* como un patógeno sistémico fue extremadamente controversial hasta 1974. Anteriormente a esa fecha, la mayoría de los trabajos realizados demostraron que la bacteria no tenía posibilidad de dar lugar a una infección sistémica. Monif y Baer (40) descubrieron la capacidad de dicho organismo para funcionar como un constituyente de la progresión anaeróbica de pacientes con endometritis y endomiometritis. Los investigadores notaron que *G. vaginalis*, que era encontrada comúnmente en los pacientes obstétricos, raramente formaba parte del compartimento intravascular de pacientes ginecológicos. Los hallazgos de Venkataramani y Rathburn sobre 29 pacientes con bacteremia por *G. vaginalis* corroboraron estos hallazgos, 19 de estos casos derivaron de mujeres post-parto y 6 de pacientes con aborto séptico. *Gardnerella vaginalis* es el organismo que se aísla más comúnmente a partir de la sangre de pacientes post-parto, con fiebre, en el servicio de obstetricia de la Universidad de Washington.

Existen casos especialmente raros donde encontramos a *G. vaginalis* como posible agente etiológico, Finkellor (72) citó un caso de *G. vaginalis* en un absceso perinefrítico en el trasplante de riñón; y Nightingale (10) que reporta un caso de Cefalotoma complicado por osteomielitis presumiblemente debido a *G. vaginalis*, gracias al hallazgo de células "clave" en un aspirado de placenta. Así como esta, también se ha encontrado a este microorganismo en infecciones intraamnióticas (73); Balanopostitis (8); y se ha asociado a cistitis hemorrágica, pielonefritis crónica y bacteriuria sintomática (13).

IX.

TRATAMIENTO.

La vaginosis bacteriana, es una queja común entre las mujeres que buscan tratamiento en las clínicas de ginecología, enfermedades por transmisión sexual, perinatología, y en la consulta externa; aproximadamente el 45 % de todas las leucorreas vaginales sintomáticas se deben a la vaginosis bacteriana, enfermedad clínicamente leve.

A pesar de disponer de datos clínicos bastante sugestivos de la etiología bacteriana es recomendable no instituir tratamiento alguno sin antes haber hecho la correcta identificación bacteriológica del agente causal. Los procedimientos del laboratorio pueden incluir examen en fresco, frotis teñido, cultivos específicos, la reacción con sustancias químicas como el KOH, o la identificación de células alteradas en su morfología como las llamadas "clue cells" o células deladoras.

El tratamiento esta reservado para mujeres que se presentan con las siguientes características: - flujo grisáceo homogéneo

- ausencia de inflamación
- leucorrea con mal olor (o liberación de aminas de mal olor con alcalinización)
- demostración del microorganismo de *G. vaginalis* en ausencia de *T. vaginalis*.

(1)

El tratamiento de la vaginosis bacteriana ha sido controversial debido a que los gérmenes implicados son parte integrante de la flora normal.

En 1954, Gardner y Dukes, sugieren el empleo de agentes tópicos como la oxitetraciclina en forma de óvulo, para insertarse intravaginalmente durante 10 días. También sugieren el empleo de la crema de triple sulfas aunque menos efectiva que la anterior, lograba la curación en algunas pacientes según sus reportes.

Posteriormente se utilizó la nitrofurazona, ésta se combina con furazolona incrementando el espectro de acción tanto antibacteriano, antimicótico, como antiparasitario.

Más tarde, Gardner (9) recomendó el uso de cefradina como un agente alternativo y efectivo en la terapia de *G. vaginalis*; en el estudio realizado por Goldstein y col. se mostró que la cefradina puede ser un agente activo hacia una gran variedad de bacterias anaerobias y sugiere que la cefradina puede ser usada como un agente terapéutico en la vaginosis asociada con *G. vaginalis*.

En la investigación realizada por Joseph G. Lossick (1) algunos autores concluyeron que *G. vaginalis* es altamente susceptible a penicilina G, ampicilina, eritromicina y oleomicina; y menos susceptible a tetraciclina y cefalosporinas.

El microorganismo puede ser resistente a sulfonamidas, no obstante Jones y Bhattacharyya (1) trabajaron con muestras que pueden ser susceptibles a altos niveles de la droga y puede ser viable para el tratamiento vaginal.

IX.

Según Holmes (52) (83) puede haber tratamiento tópico y sistémico pero por estudios publicados se sabe que la forma tópica es muy limitada, en términos de terapia sistémica se sugiere que la ampicilina no produce una cura prolongada y las tetraciclinas parece que no son tan efectivas como la ampicilina. Ambas están asociadas con infección por *Candida*.

Las penicilinas se reportaron como un agente posible de aplicar en la vaginosis bacteriana, sin embargo se comprobó que muchas cepas de *G. vaginalis* son resistentes al antibiótico.

En otra investigación realizada por Mc Carthy y col., 1979 (20) se encontró que todas sus muestras eran susceptibles a la ampicilina, carbenicilina, oxacilina, penicilina y vancomicina, y todas eran uniformemente resistentes al ácido nalidixico, neomicina, colistina y sulfadiazina a niveles terapéuticos usuales. Las muestras diferían en susceptibilidad hacia la kanamicina, tetraciclina, gentamicina y tobramicina.

En un análisis ulterior y con conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad en donde no solamente esta implicada *G. vaginalis*, sino además otros gérmenes como los anaerobios, (49). Spiegel y cols.(47), encontraron que los tratamientos antes referidos eran incompletos y que además había recidivancia constante del cuadro clínico a pesar del tratamiento otorgado. Mucho de esta falla se debía a la resistencia de *G. vaginalis* a algunos antibióticos, pero en gran parte a la producción de β -lactamasas por parte de los anaerobios, entonces se penso en la posibilidad de incidir sobre este tipo de bacterias con un medicamento de más amplio espectro como el metronidazol, este es altamente efectivo contra anaerobios y moderadamente activo contra *G. vaginalis*.

IX.

TABLA 11. Régimen de tratamientos para *G. vaginalis* asociada con vaginosis bacteriana. (1955 - 1982)

| Año/No. pacientes | Medio de cultivo | Tratamiento | No. curados/tratados % | |
|---------------------------------------|-------------------------------|--|------------------------|----------------|
| | | | clínica | bacteriológico |
| 1955 / 27 13 6 6 | Agar sangre de carnero | supositorio de tetraciclina, X 10 días | 27/27 (100) | 27/27 (100) |
| | Agar sangre | Crema triple sulfá 2 veces al día X 10 días | 10/13 (77) | 10/13 (77) |
| | Agar sangre | Terramicina, 250 mg. cada 8 hrs. X 5 días | 6/6 (100) | 6/6 (100) |
| | Agar sangre | Acromicina 250 mg. cada 6 hrs. X 5 días | 3/6 (50) | 3/6 (50) |
| 1973 / 21 | Agar peptona-dextrosa-almidón | Ampicilina, 500 mg. 4 veces al día X 5 días | 21/21 (100) | 21/21 (100) |
| 1978 / 15 27 81 | Agar peptona-dextrosa-almidón | Ampicilina, 500 mg. 4 veces al día X 7 días | 14/15 (93) | |
| | Agar chocolate | Metronidazol, 2g. dosis única | 1/9 (11) | 1/9 (11) |
| | Agar chocolate | Ampicilina, 500 mg. 4 veces al día X 7 días | 8/27 (30) | 9/27 (33) |
| 1979 / 13 | Agar chocolate | METRONIDAZOL, 500 mg. 2 veces al día X 7 días | 81/81 (100) | 80/81 (99) |
| | Agar chocolate | Eritromicina, 500 mg. 4 veces al día X 7 días | 3/13 (23) | 2/13 (15) |
| 1980 / 10 10 247 | Agar columbia | METRONIDAZOL, 400 mg. 4 veces al día X 7 días | 10/10 (100) | 8/10 (80) |
| | Agar columbia | Oxitetraciclina, 500 mg. dos veces al día X 7 días | 6/10 (60) | 5/10 (50) |
| | Agar peptona-dextrosa-almidón | Sultrin (vagina), 2 veces al día X 14 días | 220/247 (89) | 220/247 (89) |
| 1981 / 18 23 22 | Agar chocolate | crema vaginal triple sulfá 2 veces al día X 10 días * | | 10/18 (56) |
| | Agar chocolate | Ampicilina, 500 mg 4 veces al día X 7 días * | | 11/23 (48) |
| | Agar chocolate | Metronidazol, 500 mg 2 veces al día X 7 días * | | 20/22 (91) |
| 1982 / 46 38 | Agar sangre de caballo | supositorios de yodo povidine 2 veces al día X 14 días | 35/46 (76) | 16/21 (76) |
| | Agar sangre de caballo | Placebo | 22/38 (58) | 10/16 (63) |

* seis parejas recibieron el mismo tratamiento.

(1)

IX.

El metronidazol en el interior de las bacterias susceptibles se reduce a un radical libre, inestable, tóxico, que destruye a las bacterias al inhibir su síntesis de DNA, también tiene la ventaja de suprimir bacterias aerobias y anaerobias. (38)

Este medicamento pasa por un metabolismo oxidativo originando la formación de dos metabolitos principales: 1-(2-hidroxietil)-2-hidroximetil-5-nitromidazol "**metabolito hidroxil**" y 1-ácido acético-2-metil-5-nitromidazol "**metabolito ácido**."

Ralph y Amatnick (49), demostraron que el metabolito hidróxido del metronidazol es significativamente más activo para *G. vaginalis* que la base de la droga que es usualmente usada en las pruebas de susceptibilidad.

El metabolito "hidroxil" es el más importante con respecto al efecto antimicrobial contra anaerobios y su concentración en suero, orina y secreciones vaginales. (50) (109)

Las dosis del metronidazol varían de 800 a 1200 mg. al día.

Durante el primer congreso mundial de enfermedades de transmisión sexual (San Juan 1981) Balsdon evocó el uso de una dosis única de 2g. de metronidazol. Según los resultados de Willen I. Vander Meijden (56), no se esperaría de ninguna manera elevar la cura con el uso del metronidazol que con el tinidazol, el único camino es realizar estudios al azar.

La dosis inicial escogida fue de 0.5g. dos veces al día por 7 días y la eficacia clínica de esta dosis fue atribuida para la erradicación de *G. vaginalis*, pero el régimen de 7g. por 7 días de metronidazol fue escogido arbitrariamente en estos estudios iniciales (47), otro esquema que se experimentó fue el de 0.5g. - 0.7g. de metronidazol en forma aleatorio.

La terapia de 0.5g. de metronidazol es efectiva para la mayoría de los pacientes con vaginosis bacteriana, el de 3g / 3 días y 5g / 5 días es menos efectivo.

Se enfrentó el tratamiento de 2g. como dosis única contra 7g. / 7 días, los resultados mostraron que éste último fue significativamente más efectivo en la eliminación de síntomas, células clave, ácidos orgánicos anormales y *G. vaginalis*, 29 días después de la terapia. (41) (47)

Existen otros esquemas como: 400 mg. cada 12 horas por 5 días (48) (98) (100), y otros menos efectivos: 3 g. / 3 días y 5 g. / 5 días (47)

La concentración mínima inhibitoria (MIC) de metronidazol para *G. vaginalis* oscila entre 2 - 20 µg. / ml.

En la tabla 12 se muestra un estudio elaborado por Edward D. Ralph, en la cual el metabolito "hidroxil" del metronidazol fue el componente consistentemente más activo, con una media en la concentración mínima inhibitoria (MIC) de únicamente 1µg/ml (rango 0.5-2.0 µg/ml). El metronidazol fue menos activo con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 4 µg/ml (rango 4-8 µg/ml).

Las concentraciones mínimas bactericidas (MBCs) del metabolito hidroxil y del metronidazol son generalmente de 2 a 4 veces mayores que las mínimas inhibitorias.

IX.

TABLA 12. Concentración mínima inhibitoria (MIC) y mínima bactericida (MBC) del metronidazol y el metabolito "hidroxi" en 8 muestras de *G. vaginalis* (inoculo de 10^6 ufc/ml.) después de 48 horas de incubación anaeróbica.

| MUESTRA | METRONIDAZOL | | METABOLITO HIDROXI | |
|---------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MBC ($\mu\text{g/ml}$) | MIC ($\mu\text{g/ml}$) | MBC ($\mu\text{g/ml}$) |
| 1 | 8 | 32 | 2 | 2 |
| 2 | 4 | 16 | 1 | 2 |
| 3 | 8 | 16 | 1 | 2 |
| 4 | 4 | 16 | 1 | 4 |
| 5 | 4 | 16 | 0.5 | 2 |
| 6 | 8 | 32 | 1 | 2 |
| 7 | 8 | 32 | 1 | 2 |
| 8 | 4 | 16 | 1 | 4 |
| media | 4 | 16 | 1 | 2 |

(50)

Bardi y col. reportaron un tratamiento efectivo para la infección por *G. vaginalis* con 2 g. de tinidazol en dosis oral única. S. Shanker y R. Munro (26) probaron 10 aislamientos clínicos para comparar la actividad *in vitro* del metronidazol, tinidazol y sus respectivos metabolitos. Ellos confirmaron un incremento en la actividad del metabolito hidroxi del metronidazol sobre los componentes principales. También encontraron que el metabolito hidroxi del tinidazol fue significativamente más activo contra *G. vaginalis* que el metabolito hidroxi del metronidazol.

IX.

TABLA 13. Concentración mínima inhibitoria MIC (mg/l) de Metronidazol (M), Tinidazol (T) y Metabolitos de 10 muestras de *G. vaginalis*

| MUESTRAS | M | T | METAB. (ácido) | METAB. M (hidroxi) | METAB. T (hidroxi) |
|-----------|----|----|-------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1 | 16 | 16 | 512 | 2 | 1 |
| 2 | 4 | 4 | 128 | 1 | 0.5 |
| 3 | 16 | 16 | 256 | 2 | 0.5 |
| 4 | 8 | 4 | 128 | 1 | 0.5 |
| 5 | 4 | 2 | 128 | 0.5 | 0.25 |
| 6 | 4 | 8 | 256 | 1 | 0.5 |
| 7 | 8 | 8 | 256 | 2 | 1 |
| 8 | 16 | 4 | 256 | 2 | 0.5 |
| 9 | 4 | 8 | 256 | 1 | 0.5 |
| 10 | 4 | 4 | 256 | 2 | 0.5 |
| ATCC14018 | 4 | 2 | 256 | 2 | 0.5 |

(26)

Willwm I. Van Der Meijden trabajo con un grupo de mujeres (y sus parejas) las cuales presentaron vaginosis bacteriana, a éstas las trato con diferentes esquemas de tratamiento y los efectos secundarios que encontró se registran en la tabla 14.

TABLA 14. Efectos secundarios a los diferentes tratamientos (primera prescripción)

| | PACIENTE | | CÓNYUGE | |
|-----------------------|----------------------|--------|-----------------|----|
| Placebo (n = 13) | No presentaron | 13 | No presentaron | 13 |
| Tinidazol (n = 25) | No presentaron | 21 | No presentaron | 25 |
| | Nausea | 2 | | |
| | Sabor metálico | 1 | | |
| | Prurito generalizado | 1 | | |
| Metronidazol (n = 11) | No presentaron | 7 | No presentaron | 8 |
| | Nausea | 2 (1)* | Nausea | 2 |
| | Dolor de cabeza | 2 | Dolor de cabeza | 1 |
| | | | | |

(56)

* Este paciente tuvo prurito generalizado después de tomar tinidazol.
n = no. de muestras

La terapia con crema vaginal de sulfá triple (Sultria) por 10 días a dos semanas es usualmente satisfactoria. Cada aplicación es precedida por una ducha medicada. No obstante los mecanismos resistentes especialmente en presencia de infección concomitante requieren de una terapia adicional como metronidazol, si la infección viene acompañada de *Trichomonas* se utilizan antibióticos como la cefradina (Anspor, Velosef) ampicilina o tetraciclina. (62)

El tratamiento de 2g. de metronidazol en dosis oral durante una semana dio resultados excelentes en varones infectados por *G. vaginalis* en uretra. (30)

El metronidazol, administrado por vía oral a dosis de 500 mg. dos veces al día durante 7 días, ha mostrado una tasa de curación aproximadamente del 90 % o mayor y, por lo tanto en la actualidad se le considera como el tratamiento de elección. Sin embargo, presenta un grado potencial de toxicidad y ya que existen datos de teratogenia, no se recomienda su utilización en mujeres embarazadas.

Con el uso de ampicilina por vía oral dosis de 500 mg. cuatro veces al día durante 7 días, se ha informado una tasa de curación de alrededor de 50 % y se recomienda como una alternativa al metronidazol para mujeres en quienes este medicamento está contraindicado y para aquellas mujeres que están embarazadas.

Una crema triple de sulfonamida está aprobada; sin embargo, se ha informado que la eficacia de este producto, no es satisfactoria. Tampoco existen datos confiables que apoyen el uso de otros tratamientos; como las duchas acidificantes, o la repoblación de la flora vaginal con lactobacilos exógenos. Por tales razones, existe la necesidad de desarrollar un tratamiento más efectivo y seguro que pueda ser utilizado en mujeres, estén o no embarazadas. Además, debido al creciente interés en el papel que juega el *Mobiluncus sp.* en la etiología de la vaginosis bacteriana y, ya que se ha demostrado que muchas cepas de *Mobiluncus* son resistentes al metronidazol, es muy probable que la presencia de estas bacterias resistentes, jueguen un papel importante en las recurrencias de vaginosis bacteriana que se observa hasta en 14 % de los casos. (80) (87)

Todos los microorganismos que están asociados con la vaginosis bacteriana, son sensibles a la clindamicina; por tal motivo el Dr. José Luis Arredondo y col. (80) por un lado y Fritz Fischbach y col (79) por el otro elaboraron un estudio clínico piloto utilizando fosfato de clindamicina al 0.1, 1.0 y 2.0 % en crema vaginal contra metronidazol. En sus resultados encontraron que la tasa de recaídas fue de 7 % en el grupo metronidazol y no se presentaron recaídas en el grupo de clindamicina. además la concentración ideal de clindamicina fue del 2 % usada una vez al día por 7 días por consiguiente, este es el tratamiento de elección para las mujeres embarazadas durante el primer trimestre, (87)

Sharon L. Hillier y col. (86) implementaron un tratamiento que consta de gel de metronidazol al 0.75 % "MetroGel - Vaginal, para evitar los efectos secundarios ya conocidos, este presenta una baja absorción sistémica, con niveles en suero de 150 - 375 ng/ml, comparada con 10000 - 17000 ng/ml que presenta después de administrar dosis de 500 mg. de metronidazol por vía oral.

IX.

La vulvovaginitis es una secuela común después de un tratamiento para vaginosis bacteriana. Se ha reportado un 8 - 22 % en mujeres usando metronidazol oral; 0 - 24 % en mujeres usando clindamicina intravaginal; y únicamente 4 % en mujeres tratadas con metronidazol en gel. (86)

William R Bowie y col. (34) probaron dos quinolonas nuevas: hidroclorehidrato de difloxacin (A-56619) y A-56620 para probar la actividad "in vitro" contra patógenos genitales entre ellos *G. vaginalis*, los resultados se muestran en la siguiente tabla.

TABLA 15. Actividad in vitro contra *G. vaginalis* incubada aerobicamente.

| AGENTE ANTIMICROBIANO | NO. AISLAMIENTOS | ACTIVIDAD (µg/ml) | | |
|--------------------------|---------------------|-------------------|-------------------|--------------|
| | | MIC ₅₀ | MIC ₉₀ | MIC (rango) |
| Ampicilina | 206 | 0.085 | 0.363 | 0.016 - >4.0 |
| Difloxacina | 211 | 1.433 | 1.945 | 0.025 - 16 |
| A - 56620 | 214 | 1.394 | 1.946 | 0.025 - 16 |
| Metronidazol | 205 | 38.86 | 188.8 | 1.0 - >256 |

(34)

En 1993 el Dr. William R. Bowie y col. (132) convocaron a una reunión de expertos con el fin de actualizar las recomendaciones dictadas en 1989 para tratar las enfermedades de transmisión sexual:

VAGINOSIS BACTERIANA.

Régimen. Metronidazol, 500 mg. vía oral dos veces al día por 7 días

Alternativas. Metronidazol, 2 g. vía oral dosis única o

Fosfato de clindamicina, crema al 2 %, 5 g. por vía vaginal al acostarse, durante 7 días o

Metronidazol, gel al 0.75 %, 5 g. por vía vaginal dos veces al día por 5 días o

Clindamicina, 300 mg. vía oral dos veces al día por 7 días.

Es preciso advertirles a las pacientes que no ingieran bebidas alcohólicas durante el tratamiento con el metronidazol por vía oral o tópica ni en las siguientes 24 horas después de terminar el régimen. (132)

Actualmente se están estudiando tratamientos para la vaginosis bacteriana recurrente que consisten en administrar clindamicina o metronidazol por vía intravaginal de manera profiláctica. (130)

EPIDEMIOLOGIA.

Es indudable que una de las causas más frecuentes de consulta al ginecólogo es la presencia de leucorrea o secreción vaginal. Aunque el problema puede aparecer en diferentes edades desde la prepuber hasta la postmenopáusica, siendo más común en la edad reproductiva.

Tradicionalmente se había considerado que las causas más frecuentes de leucorrea eran la trichomoniasis y la candidiasis. Debido a la frecuente presencia de *G. vaginalis* se acepta que este germen es el agente etiológico de la "vaginosis inespecífica" padecimiento cuya frecuencia parece sobrepasar a las vaginitis producidas por *Trichomonas*, *N. gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*. (75)

La vaginosis bacteriana, tipo más frecuente, conlleva varias consecuencias serias, como cervicitis, infección intraamniótica, enfermedad pélvica inflamatoria, endometritis postparto, celulitis del muñón después de la histerectomía vaginal, parto prematuro e infecciones recurrentes de las vías urinarias. Esta afección ocurre cuando *G. vaginalis*, especies de *Mobiluncus*, *Mycoplasma hominis* y bacterias anaerobias como las especies de *Bacteroides* no *fragilis* (todos ellos componentes normales de la flora vaginal) sobrepasan en número a las especies de *Lactobacillus*, que suelen predominar. (75)

Para conocer la frecuencia y el tipo de microorganismos involucrados en la infección cervicovaginal en el Instituto Nacional de Perinatología (INPer), se realizó un estudio prospectivo por el Dr. Jorge M. Ruiz Calderan y el Dr. Jesús Pérez Segura, en pacientes embarazadas y no embarazadas que se derivaron a la consulta externa de la Clínica de Enfermedades Infecciosas. Se investigó la presencia de siete microorganismos específicos: *Candida sp*, *Gardnerella vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus hemolítico gpo.B*, *Ureaplasma urealyticum*, *Trichomonas vaginalis* y *Chlamydia trachomatis*. Se estudiaron 254 pacientes con vida sexual activa, 105 embarazadas (44.9 %) y 129 no embarazadas (55.1 %) con una edad promedio de 26.5 años (14 - 44 años) el 77.5 % refirieron tener una sola pareja sexual. Los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron *Candida sp*. (31.6 %), *Gardnerella vaginalis* (27.7 %) y *Ureaplasma urealyticum* (15.8 %). (82)

Considerando que *G. vaginalis* es un microorganismo que puede transmitirse sexualmente, nuevamente en el INPer, el Dr. José Luis Arredondo G. y col. llevaron a cabo un estudio que arrojó los siguientes resultados:

Se incluyeron un total de 1360 pacientes, de los cuales 116 tenían menos de 20 años de edad (8.5 %). La distribución por edades se muestra en la tabla 17 y va de 13 a 19 años con una moda entre los 18 y los 19 años de edad. El 82 % refirió una sola pareja sexual y el 18 % dos o más. El 18.9 % (22/116) tenían antecedentes previos de ETS predominando cervicovaginitis (15 casos) y condilomatosis genital (4 casos) (tabla 18). (81)

X.

TABLA 16. Enfermedades transmitidas sexualmente en adolescentes. Distribución por edades (13 a < 20 años)

| EDAD | NO. DE PACIENTES |
|---------|------------------|
| 19 AÑOS | 25 |
| 18 AÑOS | 31 |
| 17 AÑOS | 21 |
| 16 AÑOS | 13 |
| 15 AÑOS | 10 |
| 14 AÑOS | 6 |
| 13 AÑOS | 10 |
| TOTAL | 116 |

TABLA 17. Enfermedades transmitidas sexualmente en adolescentes con antecedentes previos de ETS (Enfermedades Transmitidas Sexualmente). 22 pacientes (18.96 %).

| | |
|---------------------|---|
| 15 CERVICOVAGINITIS | - <i>Candida albicans</i> - <i>G. vaginalis</i> - <i>U. urealyticum</i> |
| 4 CONDILOMA | |
| 1 HERPES GENITAL | |
| 1 <i>Chlamydia</i> | |
| 1 SÍFILIS | |

(81)

X.

En otro estudio realizado en el INPer por el Dr. Ricardo Figueroa Damían y col. (78), de un total de 840 pacientes estudiadas, el 75 % (343) presentó una infección transmitida sexualmente por un sólo tipo de microorganismo, el 18.4 % diagnosticaron dos tipos de microorganismos en la infección y el 3.6 % presentaron tres tipos de microorganismos en la infección. (78)

TABLA 18. Diagnósticos de infección con un sólo microorganismo.

| TIPO DE INFECCIÓN | No. |
|---------------------------------|------------|
| Candidiasis vaginal | 107 |
| Cervicovaginitis etiol.? | 69 |
| Vaginosis bacteriana | 53 |
| Infección <i>U. urealyticum</i> | 40 |
| Condilomatosis | 32 |
| Infección <i>C. trachomatis</i> | 18 |
| Tricomoniasis | 9 |
| Infección SGB* | 5 |
| Sífilis | 3 |
| Herpes genital | 3 |
| Infección VIH** | 2 |
| Molusco contagioso | 2 |
| TOTAL | 343 (75 %) |

* Streptococcus Gpo. B

** Virus Inmunodeficiencia Humana

X.

TABLA 19. Diagnóstico de dos tipos de microorganismos en la infección.

| TIPO DE INFECCION | No. |
|---|-----|
| Candidiasis / Vaginosis Bacteriana | 30 |
| Candidiasis / <i>U. urealyticum</i> | 9 |
| Candidiasis / Condilomatosis | 9 |
| Vaginosis Bacteriana/ Condilomatosis | 7 |
| Vaginosis Bacteriana / <i>U. urealyticum</i> | 6 |
| Vaginosis Bacteriana / <i>C. trachomatis</i> | 4 |
| Candidiasis / <i>C. trachomatis</i> | 2 |
| Candidiasis / Tricomoniiasis | 2 |
| Condilomatosis / <i>U. urealyticum</i> | 2 |
| <i>U. urealyticum</i> / <i>C. trachomatis</i> | 2 |
| Candidiasis / Streptococo Gpo. B | 1 |
| Candidiasis / Herpes genital | 1 |
| Vaginosis bacteriana / Herpes genital | 1 |
| Condilomatosis / VIH (+) | 1 |
| Condilomatosis / <i>C. trachomatis</i> | 1 |
| Condilomatosis / Streptococo Gpo. B | 1 |
| <i>U. urealyticum</i> / Streptococo Gpo. B | 1 |
| <i>U. urealyticum</i> / Molusco | 1 |

TABLA 20. Diagnóstico de tres tipos de microorganismos en una infección.

| TIPO DE INFECCION | No. |
|---|-----|
| Candidiasis / Vaginosis Bacteriana / Condilomatosis | 5 |
| Candidiasis / Vaginosis Bacteriana / Tricomoniiasis | 2 |
| Candidiasis / Vaginosis Bacteriana / <i>Streptococo</i> Gpo. B | 2 |
| Candidiasis / Condilomatosis / <i>U. urealyticum</i> | 2 |
| Candidiasis / Tricomoniiasis / <i>U. urealyticum</i> | 1 |
| Candidiasis / Tricomoniiasis / <i>C. trachomatis</i> | 1 |
| Candidiasis / Tricomoniiasis / Condilomatosis | 1 |
| Candidiasis / Vaginosis Bacteriana / <i>C. trachomatis</i> | 1 |
| Candidiasis Bact. / <i>U. urealyticum</i> / <i>C. trachomatis</i> | 1 |

(78)

X.

Dada la escasa información en nuestro medio acerca de los patógenos que causan la vaginosis y a la aparición de nuevos patógenos causales de esta enfermedad, el Dr. José A. Sereno Colo y col.(75) decidieron llevar a cabo un estudio prospectivo para conocer la frecuencia relativa de dichos patógenos. Se incluyeron 318 mujeres que asistían a las consultas de ginecología o control de la natalidad en cuatro centros del país, Hospital General de Occidente / Guadalajara, Hospital Miguel Silva / Morelia, Hospital Gen González / México, D.F., y Hospital Regional Huejotzingo.

La frecuencia relativa de los diferentes patógenos encontrada en dicho estudio, difiere de la creencia habitual que la tricomoniasis y la candidiasis son las entidades que con mayor frecuencia causan vaginosis en nuestro medio. Aunque estas enfermedades eran lo más prevalente hace años no sólo en México sino en todo el mundo, el patrón ha cambiado a través de los años.

Entre estos nuevos patógenos, se encuentran *Gardnerella vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum* y *Chlamydia trachomatis*.

TABLA 21. Frecuencia Relativa de un estudio realizado a 318 pacientes que asistían a diferentes centros hospitalarios.

| PATOGENO | CENTRO Y NUMERO DE CASOS | | | | Total 60 |
|--|--------------------------|-------------------|---------|-------------------|-------------|
| | México 100 318 | Guadalajara 76 | Morelia | Huejotzingo 82 | |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 13 (13) (24.8) | 24 (31) | 29 (35) | 13 (22) | 79 |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 18 (18) (23.5) | 32 (44) | 15 (18) | 10 (17) | 75 |
| <i>Candida albicans</i> | 15 (15) (19.1) | 20 (26) | 19 (21) | 7 (11) | 61 |
| <i>Trichomonas vaginalis</i> | 4 (4) (6.9) | 9 (11) | 2 (2) | 7 (11) | 22 |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| <i>Ureaplasma urealyticum</i> * | 37 (37) | | | | |
| No se encontro ningún patógeno | 20 (20) (20.4) | 14 (18) | 13 (16) | 18 (30) | 65 |
| Bacterias G(+) y G(-) (<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>S. aureus</i> , <i>S. albus</i>) | 24 (24) (18.2) | | 17 (20) | 17 (28) | 58 |

* Investigado sólo en la Ciudad de México.

() : %

Nota: Es mayor de 100 % debido a la asociación de más de un patógeno en una misma paciente.

(75)

X.

Anteriormente ya se había mencionado que *G. vaginalis* aparece con mayor frecuencia en mujeres en edad reproductiva, el estudio hecho por R. R. West y col. (103), presenta resultados que demuestran esta relación :

De las 182 mujeres a las cuales se les tomo el frotis, 60 (33 %) fueron positivas para *G. vaginalis*. Casi la mitad de las pacientes positivas para *Gardnerella vaginalis* (26/60), 43 % ó (26/192) 14 %, de todas las pacientes examinadas, reportaron al menos 2 síntomas de vaginosis: incremento en el flujo y un olor fuerte como de "queso" e incomodidad. Fueron cultivados anaerobios con *G. vaginalis* en tantas pacientes , como sin anaerobios; y en 11/26 mujeres con síntomas y 9/34 sin síntomas. (103)

TABLA 22. Prevalencia de *G. vaginalis* de acuerdo a la edad.

| EDAD (años) | ≥ 16-19 (n = 9) | 20-29 (n = 65) | 30-39 (n = 93) | 40-49 (n = 57) | 50-59 (n = 58) | TOTAL (n = 282) |
|-----------------------------|--------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| Pacientes atendidos | 8 (89) | 42 (65) | 71 (76) | 44 (77) | 27 (47) | 192 (68) |
| Frotis tomados | 7 (78) | 40 (62) | 69 (74) | 41 (72) | 25 (43) | 182 (65) |
| <i>Gardnerella</i> presente | 4 (57) | 11 (28) | 25 (36) | 13(32) | 7(28) | 60 (33) |
| -con anaerobios | 1 | 1 | 9 | 6 | 3 | 20 |
| -sin anaerobios | 3 | 10 | 16 | 7 | 4 | 40 |
| -con síntomas | 3 | 5 | 11 | 4 | 3 | 26 |
| -sin síntomas | 1 | 6 | 14 | 9 | 4 | 34 |

n = No. de mujeres examinadas

(103)

X.

N O'FARREL y col. (117) identificaron a una serie de patógenos en mujeres embarazadas en una comunidad rural de Sud Africa, Kwa-Zulu entre los cuales aparecía *G. vaginalis* en asociación con otros anaerobios.

TABLA 23. Microorganismos identificados en muestras genitales de 193 mujeres embarazadas.

| MICROORGANISMOS | NUMERO | % POSITIVO |
|---------------------------------|--------|------------|
| <i>Trichomona vaginalis</i> | 95 | (49.2) |
| <i>Candida spp:</i> | 74 | (38.3) |
| <i>C. albicans</i> | 52 | (26.9) |
| <i>C. glabrata</i> | 14 | (7.3) |
| Otras <i>Candida spp</i> | 8 | (4.2) |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | 11 | (5.7) |
| <i>Gardnerella vaginalis</i> | 12 | (6.2) |
| <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | 11 | (5.7) |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | 22 | (11.4) |

(117)

L. Cristiano, y col. (116) reportaron en un estudio realizado a 793 mujeres con edades entre los 16 y los 78 años que, en total la prevalencia de la vaginosis bacteriana fue de un 20.5 % (163); porcentajes similares fueron encontrados tanto en mujeres fértiles como en embarazadas, no obstante el porcentaje fue bajo (12.7 %9 para mujeres en etapa menopausica. Así mismo *G. vaginalis* estuvo presente en 235 (29.6 %) muestras de 793 en total, en 144 (88.3 %) de las 163 con vaginosis bacteriana y en 91 (14.4 %) de las 630 sin vaginosis bacteriana.

ETIOLOGIA DE LA VAGINOSIS BACTERIANA.

El espectro microbioal de la flora vaginal en mujeres con vaginosis bacteriana ha sido estudiada a detalle en los últimos años, particularmente sobre *G. vaginalis* y más recientemente sobre otros anaerobios como *Mobililincus mulieris*, *Mobililincus curtisii* y *Mycoplasma hominis*. No obstante, la etiología exacta de la vaginosis bacteriana se desconoce, *G. vaginalis* y *M. hominis* pueden ocurrir como organismos endógenos en la flora vaginal en un número elevado, pero éstos se incrementan en mujeres con vaginosis bacteriana. *G. vaginalis*, *M. hominis* y *Mobililincus spp.* pueden ocasionalmente ascender al tracto genital superior.

Esta bien documentado por Elisabet Host (6) que algunas otras especies asociadas con la vaginosis bacteriana, como ciertos *Bacteroides spp* y *Peptostreptococcus spp*, son parte de la flora normal intestinal, resultados de este estudio soportan la hipótesis de que el reservorio de *Mobililincus spp*, *G. vaginalis* y *M. hominis* es también el tracto intestinal, ya que estos organismos pudieron aislarse del recto de mujeres, hombres y niños.

G. vaginalis estuvo asociada con infecciones en el tracto urinario en hombres y mujeres. Este microorganismo fue aislado más frecuentemente del tracto genital de mujeres sanas que de hombres sanos (13) y este hallazgo concuerda con el de Leighton y Totten y col., que demostraron que *G. vaginalis* fue recuperado del fluido vaginal en un 68 % de mujeres asintomáticas y Kinghorn y col. reportaron una prevalecencia de 11.4 % en fluido seminal de hombres sanos. Este descubrimiento sugiere, que la vagina puede proveer condiciones más favorables para el crecimiento de *G. vaginalis*, que la prostata. El fluido prostático de hombres no infectados contiene altas concentraciones de sales de zinc antibacterianas.

La colonización por *G. vaginalis* guarda relación con el consumo de anticonceptivos, con la vida sexual activa y antecedentes de embarazo; pero no con la edad, el periodo menstrual o las prácticas sexuales. En el estudio realizado por la Dra. Yolanda Pavon y col.(3) (63) se observo mayor frecuencia de aislamiento de *G. vaginalis*, en mujeres que tienen implantado el DIU (Dispositivo Intra Uterino), por esta razón se considera que el DIU juega un papel importante como factor predisponente entre la población que padece "vaginosis", y una explicación puede ser una mala localización de éste, lo que causa daño en el epitelio de la vagina y útero, dando una predisposición evidente a favor de microorganismos anaerobios. El DIU causa una irritación local mecánica, incrementando el número de leucocitos y la secreción mucosa y por lo tanto bajando el pH vaginal.

XI.

A menudo la causa etiológica de la vulvovaginitis es una enfermedad de transmisión sexual. S. Abdemader (30) sugiere también que *G. vaginalis* es transmitida sexualmente. Así pues se debe obtener una minuciosa historia clínica desde el punto de vista sexual

Diagnóstico y agentes etiológicos involucrados se muestran en la tabla 16; como se puede observar algunas pacientes presentaron más de un microorganismo de ahí un mayor número de infecciones que de pacientes. *Candida sp*, *G. vaginalis* causante de vaginosis bacteriana así como el virus del Papiloma Humano y *Ureaplasma urealyticum* fueron los microorganismos que con mayor frecuencia se identificaron. En cinco casos únicamente se identificó *C. trachomatis*, tricomoniasis en tres pacientes, sífilis tres casos e infección por VIH tres pacientes. Los menos frecuentes fueron *Streptococcus* del grupo B dos casos, herpes genital un paciente y ningún aislamiento de *N. gonorrhoeae*. (81)

TABLA 24. Enfermedades transmitidas sexualmente en el adolescente.

| ETIOLOGIA | NUMERO |
|-----------------------------|--------|
| Total de infecciones | 121 |
| Total de pacientes | 116 |
| CANDIDIASIS VAGINAL | 37 |
| VAGINOSIS BACTERIANA | 26 |
| CONDILOMATOSIS | 26 |
| <i>U. urealyticum</i> | 15 |
| <i>C. trachomatis</i> | 5 |
| TRICOMONIASIS | 3 |
| SIFILIS | 3 |
| SIDA | 3 |
| SGB | 2 |
| HERPES GENITAL | 1 |
| <i>N. gonorrhoeae</i> | 0 |

(81)

En estudios realizados por Muram y Buxton (29) se relaciono que *G. vaginalis* es transmitido por contacto sexual, dado que aislaron a este microorganismo de secreciones vaginales de 8 niños los cuales fueron diagnosticados como víctimas por abuso sexual.

También se ha encontrado relación en jovencitas vírgenes, que a pesar de un tratamiento meses después reincide la infección; entonces *G. vaginalis* esta involucrada tanto en mujeres con vida sexual activa como en mujeres vírgenes.

Ciertos organismos no deseables como *U. urealyticum* y *G. vaginalis* pueden aislarse de una vejiga aspirada de mujeres embarazadas más frecuentemente que patógenos urinarios convencionales como *E. coli*, además éstos se aíslan todavía más de pacientes con enfermedad renal que de hombres sanos o mujeres no embarazadas. (18)

La etiología de la vaginosis bacteriana sigue siendo incierta. Con esta revisión bibliográfica se constata que existe la hipótesis de que en ella participan en conjunto una serie de microorganismos de los cuales el que predomina es *Gardurella vaginalis*.

Se conoce que el aislamiento de la bacteria no es fácil, y si costoso, pero el enfocar esfuerzos para éste podría dar a conocer su importancia dentro de la vaginosis bacteriana.

BIBLIOGRAFIA

001. Joseph G. Lossick. 1982. *Gardnerella vaginalis*- Associated Leukorrhea: The Disease and Its Treatment. Reviews of Infectious Diseases. Supplement. 4: 793-800.
002. S. J. Klebanoff, S. L. Hillier, D. A. Eschenbach, and A. M. Waltersdorff. 1991. Control of the Microbial Flora of the Vagina by H₂O₂-Generating Lactobacilli. J. Infect. Dis. 164: 94-100
003. Yolanda Pavon S., Silvia Bonilla A., y Sveshtarova P. 1988. Incidencia de *Gardnerella vaginalis* en pacientes con Vaginitis inespecífica. Bioquímica 13: 19-22.
004. Oscar Moran, Olga Zegarra-Moran, Caterina Virginio, and Giandomenico Rottini. 1991 Voltage-dependent cationic channels formed by a cytolytic toxin produced by *Gardnerella vaginalis*. Elsevier Science Publishers B.V. 238: 317-320.
005. Y. L. Boustouller, A. P. Johnson, and D. Taylor-Robinson. 1986. Detection of a Species-specific Antigen of *Gardnerella vaginalis* by Western Blot Analysis. J. Gen. Microbiol. 132: 1969-1973.
006. Elisabet Holst. 1990. Reservoir of Four Organism Associated with Bacterial Vaginosis Suggests Lack of Sexual Transmission. J. Clin. Microbiol. 28: 2035-2039.
007. Robert P. Nugent, Marijane A. Krohn, and Sharon L. Hillier. 1991. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. J. Clin. Microbiol. 29: 297-301.
008. G.R. Kinghorn, B. M. Jones, † F. H. Chowdhury, and I. Geary †. 1982. Balanoposthitis associated with *Gardnerella vaginalis* infection in men. Br. J. Vener. Dis. 58: 127-129.
009. Ellie J. C. Goldstein, † Y. Y. Kwok, and Vera L. Sutter. 1983. Susceptibility of *Gardnerella vaginalis* to Cephradine. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 24: 418-419
010. Luke M. Nightingale, MD; Charles B. Eaton, MD; Alice E. Fruehan, MD; John B. Waldman, MD; W. Bruce Clark, MD; Martha L. Lepow, MD. 1986. Cephalhematoma Complicated by Osteomyelitis Presumed due to *Gardnerella vaginalis*. JAMA 256: 1936-1937.

Bibliografía

011. Karen Rosene, David A. Eschenbach, L. S. Tompkins,† George E. Kenny, and Hernien Watkins. 1986. Polymicrobial Early Postpartum Endometritis with Facultative and Anaerobic Bacteria, Genital Mycoplasmas, and *Chlamydia trachomatis* Treatment with Piperacillin or Cefoxitin. *J. Infect. Dis.* 153: 1028-1037.
012. D. Regina M. McDowall, John D. Buchanan, Kenneth F. Fairley, and Gwendolyn L. Gilbert. 1981. Anaerobic and Other Fastidious Microorganism in Asymptomatic Bacteriuria in Pregnant Women. *J. Infect. Dis.* 144: 114-122.
013. Moy Heang Lam, Douglas F. Birch, and Kenneth F. Fairley. 1988. Prevalence of *Gardnerella vaginalis* in the Urinary Tract. *J. Clin. Microbiol.* 26: 1130-1133.
014. Sheena Reilly and R. P. Human. 1983. *Gardnerella vaginalis*: Pathogen or commensal?. *Lancet*. 9: 111.
015. C. S. F. Easmon and C. A. Ison. 1983. *Gardnerella vaginalis*. *Lancet*. 6: 343-344.
016. M. D. Talbot. 1982. Aetiology and management of non-specific vaginitis. *Br. J. Vener. Dis.* 58: 275-276.
017. R. P. Human and G. S. Tillotson. 1985. Identification of *Gardnerella vaginalis* with the API 20 Strep System. *J. Clin. Microbiol.* 21: 985-986.
018. Judith A. Savige, Gwendolyn L. Gilbert, Kenneth F. Fairley, D. Regina McDowall. 1983. Bacteriuria Due to *Ureaplasma urealyticum* and *Gardnerella vaginalis* in Women with Preeclampsia. *J. Infect. Dis.* 148: 605.
019. Edwin H. Lennette. *Manual de Microbiología Clínica*. Ed. Panamericana. 4ª edición. Buenos Aires. 1991: 49-63 1086-1088.
020. Peter H. A. Sneath. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol 2. Ed. Williams & Wilkins. Baltimore EUA. 1993: 1261-1286.
021. Edmundo R. Novak. *Tratado de Ginecología*. Ed. Interamericana. 9ª edición. México D. F. 1977: 1-15.
023. Wolfgang K. Joklik. *Zinsze Microbiología*. Ed. Médica Panamericana. 18ª edición. Buenos Aires. 1993: 510-518.
024. Bailey Scott. *Diagnóstico Microbiológico*. Ed. Médica Panamericana. 7ª edición. Buenos Aires. 1989: 282-294.

Bibliografía

025. Bailey Scott. Diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana. 7ª edición. Buenos Aires, 1989: 522- 525.
026. S. Shanker, R. Munro. 1982. Sensitivity of *Gardnerella vaginalis* to metabolites of the metronidazole and tinidazole. Lancet. 16: 167
027. I. Phillips, E. Taylor. 1982. Anaerobic curved rods in vaginitis. Lancet. 23: 221.
028. Elisabet Holst, Anette Rosset Goffeng, and Björn Andersch. 1994. Bacterial Vaginosis and Vaginal Microorganisms in Idiopathic Premature Labor and Association with Pregnancy Outcome. J. Clin. Microbiol. 22: 176-186.
029. Richard C. Bump, MD, and William J. Buesching III, PhD. 1988. Bacterial vaginosis in virginal and sexually active adolescent females: Evidence against exclusive sexual transmission. Am. J. Obstet. Gynecol. 158: 935-939.
030. S. Abidennader, I. Casin, N. Brunat, Y. Perol and P. Morel. Bacterial vaginosis: a double-blind randomized trial of the effect of treatment of the sexual partner. Br. J. Obst Gynecol. 1988; 95: 920-6.
031. R. Benito, J. A. Vazquez, S. Berron, A. Fenoll and J. A. Saez-Nieto. 1986. A modified scheme for biotyping *Gardnerella vaginalis*. J. Med. Microbiol. 21: 357-359.
032. I. M. Dattani, A. Gerken, and B. A. Evms. 1982. Aetiology and management of non-specific vaginitis. Br. J. Vener. Dis. 58: 32-35.
033. Marijane A. Krohn, Sharon L. Hillier, Molly L. Lee, Lorna K. Rabe, and David A. Eschenbach. 1991. Vaginal *Bacteroides* Species Are Associated with an Increased Rate of Preterm Delivery among Women in Preterm Labor. J. Infect. Dis. 164: 88-93.
034. William R. Bowie, Carol E. Shaw, David G. W. Chan, Janet Boyd, and William A. Black. 1986. In Vitro Activity of Difloxacin Hydrochloride (A-5661), A-56620, and Cefixime (CL 284,635; FK 027) against Selected Genital Pathogens. Antimicrobial agents and Chemotherapy. 30: 590-593.
035. Thomas G. Scott and Cyril J. Smyth. 1987. Haemagglutination and Tissue Culture Adhesion of *Gardnerella vaginalis*. J. Gen. Microbiol. 133: 1999-2005.
036. K. Sadhu, P. A. G. Domingue, A. W. Chow †, J. Nelligan, N. Cheng † and J. W. Costerton 1989. *Gardnerella vaginalis* has a gram-positive cell-wall ultrastructure and lacks classical cell-wall lipopolysaccharide. J. Med. Microbiol. 29: 229-235.

Bibliografía

037. James Y. Lin, Kirk C. S. Chen, Judith Hale, Patricia A. Totten, and King K. Holmes. 1986. Two-Dimensional Thin-Layer Chromatography for the Specific Detection of Hippurate Hydrolysis by Microorganisms. *J. Clin. Microbiol.* 23: 118-123.
038. Robert Shesser. 1993. Diagnóstico de infecciones vaginales comunes. *Infectología* 13: 49-55.
039. P. R. Mason, L. Gwanzura, A. S. Latif, E. Marowa. 1990. Genital infections in women attending a genito-urinary clinic in Harare, Zimbabwe. *Genitourin. Med.* 66: 178-181.
040. Gilles R. G. Monif, M.D. y col.. 1984. *Gardnerella vaginalis*. Infecciones en Ginecología y Obstetricia. *Comunicaciones Médicas*.3: 1-6
041. Gilles R. G. Monif, M. D. y col. 1984. Evaluación y manejo de las pacientes con vulvo-vaginitis de etiología infecciosa. Infecciones en Ginecología y Obstetricia. *Comunicaciones Médicas*. 4: 1-6
042. Carol A. Spiegel †, Richard Amsel, and King K. Holmes. 1983. Diagnosis of Bacterial Vaginosis by Direct Gram Stain of Vaginal Fluid. *J. Clin. Microbiol.* 18: 170-177.
043. A. Blackwell and D. Barlow. 1982. Clinic diagnosis of anaerobic vaginosis (non-specific vaginitis). *Br. J. Vener. Dis.* 58: 387-393.
044. Larry G. Reimer † and L. Barth Reller. 1985. Use of a Sodium Polyanetholesulfonate Disk for the Identification of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 21: 146-149.
045. Dr. José Luis Arredondo Gareña y col. 1994. Vaginosis Bacteriana. Instituto Nacional de Perinatología, S.S.A. 1-31
046. Fridtjof Jerve, Erik Qvigstad and Jean Eng. 1983. Treatment of Non-specific Vaginitis with Metronidazole. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 111-113.
047. David A. Eschenbach, Cathy W. Critchlow, Hermien Watkins, Karen Smith, Carol A. Spiegel, Kirk C. S. Chen, and King K. Holmes. 1983. A Dose-duration study of Metronidazole for the Treatment of Nonspecific Vaginosis. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 73-80.
048. Michael J. Baldson. 1983. Treatment of the *Gardnerella vaginalis* Syndrome with a Single 2 Gram Oral Dosage of Metronidazole. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 101-102

Bibliografía

037. James Y. Lin, Kirk C. S. Chen, Judith Hale, Patricia A. Totten, and King K. Holmes. 1986. Two-Dimensional Thin-Layer Chromatography for the Specific Detection of Hippurate Hydrolysis by Microorganisms. *J. Clin. Microbiol.* 23: 118-123.
038. Robert Shesser. 1993. Diagnóstico de infecciones vaginales comunes. *Infectología* 13: 49-55.
039. P. R. Mason, L. Gwanzura, A. S. Latif, E. Marowa. 1990. Genital infections in women attending a genito-urinary clinic in Harare, Zimbabwe. *Genitourin. Med.* 66: 178-181.
040. Gilles R. G. Monif, M.D. y col. 1984. *Gardnerella vaginalis*. Infecciones en Ginecología y Obstetricia. *Comunicaciones Médicas*.3: 1-6
041. Gilles R. G. Monif, M. D. y col. 1984. Evaluación y manejo de las pacientes con vulvo-vaginitis de etiología infecciosa. Infecciones en Ginecología y Obstetricia. *Comunicaciones Médicas*. 4: 1-6
042. Carol A. Spiegel †, Richard Ansel, and King K. Holmes. 1983. Diagnosis of Bacterial Vaginosis by Direct Gram Stain of Vaginal Fluid. *J. Clin. Microbiol.* 18: 170-177.
043. A. Blackwell and D. Barlow. 1982. Clinic diagnosis of anaerobic vaginosis (non-specific vaginitis). *Br. J. Vener. Dis.* 58: 387-393.
044. Larry G. Reimer † and L. Barth Reller. 1985. Use of a Sodium Polyanetholesulfonate Disk for the Identification of *Gardnerella vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 21: 146-149.
045. Dr. José Luis Arredondo García y col. 1994. Vaginosis Bacteriana. Instituto Nacional de Perinatología, S.S.A. 1-31
046. Fridtjof Jerve, Erik Qvigstad and Jean Eng. 1983. Treatment of Non-specific Vaginitis with Metronidazole. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 111-113.
047. David A. Eschenbach, Cathy W. Critchlow, Hermien Watkins, Karen Smith, Carol A. Spiegel, Kirk C. S. Chen, and King K. Holmes. 1983. A Dose-duration study of Metronidazole for the Treatment of Nonspecific Vaginosis. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 73-80.
048. Michael J. Baldson. 1983. Treatment of the *Gardnerella vaginalis* Syndrome with a Single 2 Gram Oral Dosage of Metronidazole. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.* 40: 101-102

Bibliografia

049. Anona Blackwell, Allan Fox, Ian Phillips and David Barlow. 1983. Metronidazole in Treatment of Non-specific Vaginitis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 103-106.
050. Edward D. Ralph. 1983. Comparative Antimicrobial Activity of Metronidazole and the Hidroxy Metabolite against *Gardnerella vaginalis*. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 115-120.
051. Peer HÖvik. 1983. Nonspecific Vaginitis in an Outpatient Clinic. (Comparison of Three Dosage Regimens of Metronidazole). Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 107-110.
052. Csángó, Gardner, Mirdh, Holmes, Fleury, Pelz. 1983. Panel Discussion. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 121-126.
053. Lars Weström and Per-Anders Mirdh. 1983. Definitions of Infectius and Infectius-like Conditions in the Lower Genital Tract of the Female. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 65-70.
054. Peter Piot and Eddy Van Dyck. 1983. Isolation and Identification of *Gardnerella vaginalis*. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 15-18.
055. Peter A. Csángó, Norman Hagen and Garletta Jagars. 1983. Characterization of *Gardnerella vaginalis* by gas chromatography. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 19-22.
056. Willem J. Van Der Meijden. 1983. Treatment of Non-specific Vaginitis with a Single Dose of Tinidazole. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 85-89.
057. James R. Greenwood. 1983. Current Taxonomic Status of *Gardnerella vaginalis*. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 11-14.
058. Herman L. Gardner †. 1983. Pathogenicity of *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*). Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 37-40.
059. F.J. Fleury. 1983. The Clinical Signs and Symptoms of Gardnerella-associated Vaginosis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 71-72.
060. Herman L. Gardner †. 1983. " non-specific " Vaginitis: A Non-entity. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 7-10.
061. David C. T. Yong and J. Stephen Thompson. 1982. Rapid Microbiochemical Method for Identification of *Gardnerella* (*Haemophilus*) *vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 16: 30-33.
062. George T. Schneider, MD. 1983. Vaginal Infections. How to identify und treat them. Postgraduate Medicine. 73: 255-263.

Bibliografía

063. Jorma Paavonen. 1983. Physiology and Ecology of the Vagina. Scand J. Infect. Dis. Suppl. 40: 31-35.
064. Dr. Carlos Conde González, Dr. Ernesto Calderon Jaimes, Dra. Ma. Eugenia Leon, Dr. José Jesús Reyes de Sniatiago. 1987. Características microbiológicas de la vaginosis bacteriana. Ginecología y Obstetricia de México. 55: 74-79.
065. Carol A. Spiegel, Pamela Davick, Patricia A. Totten, Kirk C. S. Chen, David A. Eschenbach, Richard Amsel and King K. Holmes. 1983. *Gardnerella vaginalis* and Anaerobic Bacteria in the Etiology of Bacterial (Nonspecific) Vaginosis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 41-46.
066. J. R. Greenwood and M. J. Pickett. 1980. Transfer of *Haemophilus vaginalis* Gardner and Dukes to a new Genus, *Gardnerella: G. vaginalis* (Gardner and Dukes). International J. Systematic Bacteriol. 176-178.
067. Albert Balows, William J. Hausler, Jr. Manual of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, fifth edition. Washington D.C. 1970-1991. 483-484.
068. Frode Staerfeldt, Thor J. Gundersen, Arne Martin Halsos, Christa Barlinn, Arne Gudmund Johansen, Kirsten M. Norregaard and Jan Eng. 1983. A survey of Genital Infections in Patients Attending a Clinic for Sexually Transmitted Diseases. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 53-57.
069. Thomas G. Scott, Cyril J. Smyth † and Conor T Keane †. 1987. In vitro adhesiveness and biotype of *Gardnerella vaginalis* strains in relation to the occurrence of clue cells in vaginal discharges. Genitourin. Med. 63: 47-53.
070. D. F. Birch, A. J. F. D'Apice, and K. F. Fairley. 1981. *Ureaplasma urelyticum* in the Upper Urinary Tracts of Renal Allograft Recipients. J. Infect. Dis. 144: 123-127.
071. Sharon M. Smith, Tajuddin Ogbara, and Robert H. K. Eng. 1992. Involvement of *Gardnerella vaginalis* in Urinary Tract Infections in Men. J. Clin. Microbiol. 30: 1575-1577.
072. Robert S. Finkelhor, MD, Emanuel Wolinsky, MD, Chang H. Kim, BS, Patrick Tehou, MD, J. Dermot Frengley. 1981. *Gardnerella vaginalis* Perinephric abscess in a transplanted kidney. The New England J. Med. 2: 846.
073. Helayne M. Silver, MD, Rhoda S. Sperling, MD, Patricia J. St. Clair, BA, and Ronald S. Gibbs, MD. 1989. Evidence relating bacterial vaginosis to intraamniotic infection. Am. J. Obstet. Gynecol. 161: 808-812.

Bibliografía

074. Thomas M. Hooton, Cynthia L. Fennell, Agnes M. Clark, and Walter E. Stamm. 1991. Nonoxynol-9: Differential Antibacterial Activity and Enhancement of Bacterial Adherence to Vaginal Epithelial Cells. *J. Infect. Dis.* 164: 1216-9.
075. Dr. José A. Sereno Colo, Dr. Carlos Ricalde Bas, Dr. Javier de la Cabada, Dr. Alberto Vásquez. 1990. Frecuencia de diferentes patógenos como causa de vaginitis en México. Estudio multicéntrico. *Ginecología y Obstetricia de México*.58: 128-132.
076. Dra. Ma. Lourdes E. Narcio Reyes, Dr. Fortino Solorzano Santos, Dr. José Luis Arredondo García. 1991. A los Editores. *Ginecología y Obstetricia de México*. 59: 39-40.
077. D. Heather Watts, MD, Marijane A. Krohn, PhD, Sharon L. Hillier, PhD, and David A. Eschenbach, MD. 1990. Bacterial Vaginosis as Risk Factor for Post-Cesarean Endometritis. *Obstet. and Gynecol.* 75: 52-58.
078. Dr. Ricardo Figueroa Damian, Dra. Lourdes Narcio Reyes, Dr. Gerardo Casanova Roman. 1994. Frecuencia de enfermedades transmitidas sexualmente en pacientes en control prenatal. *Ginecología y Obstetricia* 62: 93-97.
079. Fritz Fischbach, MD, Eiko E. Pettersen, MD, Ernest R. Weissenbacher, MD, Joaquín, Martius, MD, and Ho Mayer, MD. *Obst. & Gynecol.* 82: 405-410.
080. Dr. José Luis Arredondo, Dr. Francisco Higuera, Dra. Ma. Lourdes Narcio, Dr. Gerardo Casanova, Lab. Magdalena Beltran. *Ginecología y Obstetricia de México*. 62: 226-234
081. Dr. José Luis Arredondo García, Dra. Ma. Lourdes E. Narcio Reyes, Dr. Gerardo Casanova Roman, Dr. Ricardo Figueroa Damian. 1992. Enfermedades transmitidas sexualmente y sida: un problema de actualidad. *InPer.* 6: 17-21.
082. Dr. Jorge M. Ruiz Calderon, Dr. Perez Segura. 1992. Infecciones e Infestaciones del Tracto Genital. *InPer.* 6: 12-15.
083. Per-Göran Larsson, MD, Jens-Jørgen Platz-Christensen, MD, Urban Forsum, MD, PhD and Carl Pihlson, PhD. 1991. *Obstetrics & Gynecology*. 77: 450-452.
084. Per-Göran Larsson, MD, Jens Jørgen Platz-Christensen, MD. 1990. Enumeration of Clue Cells in Rehydrated Air-Dried Vaginal Wet Smears for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *Obstetrics & Gynecology*. 76: 727-730.

085. Helen M. McDonald, Fasm, John A. O'Loughlin, Fracog, Rasiah Vigneswaran, Fracp, Patricia T. Jolley, BPharm. and Peter J. McDonald, Fracp. 1994. Bacterial Vaginosis in Pregnancy and Efficacy of Short-Course Oral Metronidazole Treatment: A Randomized Controlled Trial. *Obstetrics & Gynecology*. 84: 343-348.
086. Sharon L. Hillier, PhD, Carolyn Lipinski, PA, Ann Marie Briselden, BS, and David A. Eschenbach, MD. 1993. Efficacy of Intravaginal 0.75 % Metronidazole Gel the Treatment of Bacterial Vaginosis. *Obstetrics & Gynecology*. 81: 963-967.
087. James A. McGregor, MDCM, David Lawellin, PhD, Amalia Franco-Buff, MA, and James K. Todd, MD. 1991. Phospholipase C activity in microorganisms associated with reproductive tract infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 164: 682-686.
088. L. Boustouller, A. P. Johnson and D. Taylor-Robinson. 1986. Detection of a Species-specific Antigen of *Gardnerella vaginalis* by Western Blot Analysis. *J. Gen. Microbiol.* 132: 1969-1973.
089. Sharon Hillier, PhD, Marijane A. Krohn, PhD, D. Heather Watts, MD, Pal Wolner-Hanssen, MD, and David Eschenbach, MD. 1990. Microbiology Efficacy of Intra-vaginal Clindamycin Cream for the Treatment of Bacterial Vaginosis. *Obstetrics & Gynecology*. 76: 407-413.
090. Jeesica L. Thomason, MD, Sheldon M. Gelbart, PhD, Robert J. Anderson, PhD, Ann K. Walt, RNC, OGNP, Peter J. Osypowski, MLT (ASCP), and Fredrik F. Broekhuizen, MD. 1990. Statistical evaluation of diagnostic criteria for bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162: 155-160.
091. Dra. Ma. de Lourdes E. Narcio R., Dr. Gerardo Casanova Roman, Dr. Jorge Galindo Saenz, Dr. Ernesto Castelazo Morales, Quim. Magdalena Beltran Zuñiga. 1994. Utilidad del frotis de Papanicolaou en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Ginecología y Obstetricia de México*. 62: 52-56.
092. David A. Eschenbach, Karen Rosene, L. S. Tompkins,† Hermien Watkins, and Michael G. Gravett. 1986. Endometrial Cultures Obtained by a Triple-Lumen Method from Afebrile and Febrile Postpartum Women. *J. Infect. Dis.* 153: 1038-1045.
093. Sarah A. Salmon, Robert D. Walker, Carla L. Carleton, Sandip Shah, and Barbara E. Robinson. 1991. Characterization of *Gardnerella vaginalis* and *G. vaginalis*-Like Organisms from the Reproductive Tract of the Mare. *J. Clin. Microbiol.* 29: 1157-1161.
094. Roger L. Cook, Gregor Reid, Donald G. Pond, Cheryl A. Schmitt, and Jack D. Sobel. 1989. Clue Cells in Bacterial Vaginosis: Immunofluorescent Identification of the Adherent Gram-Negative Bacteria as *Gardnerella vaginalis*. *J. Infect. Dis.* 160: 490-496.

Bibliografía

095. Peter Piot, Eddy Van Dyck, Martine Peeters, Judith Hale, Patricia A. Totten, and King. 1984. Biotypes of *ardnerella vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 20: 677-679.
096. Fernando B. Guijon, MD, Maria Paraskevas, MD, and Robert Brunham, MD. 1985. The association of sexually transmitted diseases with cervical intraepithelial neoplasia: A case-control study. Am. J. Obstet. Gynecol. 151: 185-190.
097. Richard L. Sweet, MD. 1985. Importance of differential diagnosis in acute vaginitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 152: 921-923.
098. Eiko E. Petersen and Klaus Pelz. 1983. Diagnosis and Therapy of Nonspecific Vaginitis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 97-99.
099. Risto Erkkola, Helinä Järvinen, Pertti Terho and Olli Meurman. 1983. Microbial Flora in Women Showing Symptoms of Nonspecific Vaginosis: Applicability of KOH Test for Diagnosis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 59-63.
100. B. Hagström and J. Lindstedt. 1983. Comparison of Two Different Regimens of Metronidazole in the Treatment of Non-specific Vaginitis. Scand. J. Infect. Dis. Suppl. 40: 95-96.
101. M. A. Bratos Pérez, J. M. Medina Díez, A. Orduño Domingo, R. Ortiz de Lejarazu y A. Rodríguez Torres. 1986. Consideraciones sobre el aislamiento e identificación de *Gardnerella vaginalis*. Enf. Infect. y Microbiol. Clin. 4: 40-44.
102. R. Benito, J. A. Vazquez, S. Berron, A. Fenoll and J. A. Saez-Nieto. 1986. A modified scheme for biotyping *Gardnerella vaginalis*. J. Med. Microbiol. 21: 357-359.
103. R. R. West, T. C. O'Dowd, J. E. Smail. 1988. Prevalence of *Gardnerella vaginalis*: an estimate. Br. Med. J. 296: 1163-1164.
104. Leiv Svarva and Johan A. Maeland. 1982. Identification of *Gardnerella vaginalis* by a fluorescent antibody test. Acta path. microbiol. immunol. scand. Sect. B. 90: 453-455.
105. Riut J. Cano, Melinda A. Beck, and David V. Grady. 1982. Detection of *Gardnerella vaginalis* on vaginal smears by immunofluorescence. Can. J. Microbiol. 29: 27-32.
106. Carol E. Shaw, Michele E. Forsyth, William R. Bowie, and William A. Black. 1981. Rapid Presumptive Identification of *Gardnerella vaginalis* (*Haemophilus vaginalis*) from Human Blood Agar Media. J. Clin. Microbiol. 14: 108-110.

Bibliografía

107. Samuel Ratnam and Barbara L. Fitzgerald. 1983. Semiquantitative Culture of *Gardnerella vaginalis* in Laboratory Determination of Nonspecific Vaginitis. *J. Clin. Microbiol.* 18: 344-347.
108. Morag I. Brown. 1984. Anaerobic Vaginosis. *The Lancet.* 11: 337
109. C. S. F. Easmond, C. A. Ison, C. M. Kaye, R. M. Timewell, and S. G. Dawson. 1982. Pharmacokinetics of metronidazole and its principal metabolites and their activity against *Gardnerella vaginalis*. *Br. J. Vener. Dis.* 58: 246-249.
110. Ma. Catalina Ortiz Zaragoza; Alberto González Pedraza; Ma. del Rosario Morales Espinoza; Margarita Camorlinga Ponce & Silvia Giono Cerezo. 1990. Frecuencia de Aislamiento de *Gardnerella vaginalis* y se relación con probables factores de riesgo en vaginosis bacteriana. *Rev. Lat. amer. Microbiol.* 32: 1-5.
112. David C. T. Yong and Stephen Thompson. 1982. Rapid Microbiochemical Method for Identification of *Gardnerella (Haemophilus) vaginalis*. *J. Clin. Microbiol.* 16: 30-33.
113. David E. Soper, MD, Richard C. Brump, MD, and W. Glenn Hurt, MD. 1990. Bacteria vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 163: 1016-1023.
114. C. A. Ison, R. F. H. Taylor, Clink, P. Buckett, J. R. W. Harris, C. S. F. Easmon. 1987. Local treatment for bacterial vaginosis. *Br. Med. J.* 295: 886.
115. Melvin P. Weinstein, L. Barth Reller, Stanley Mirrett, Larry G. Reimer, Wen-Lan L. Wang, and Charles W. Stratton. 1987. Controlled Evaluation of Modified Radiometric Blood Culture Medium Supplemented with Gelatin for Detection of Bacteremia and Fungemia. *J. Clin. Microbiol.* 25: 1373-1375.
116. L. Cristiano, N. Coffetti, G. Davai, L. Lorusso, M. Lorenzi. 1989. Bacterial vaginosis: prevalence in outpatients, association with some micro-organism and laboratory indices. *Genitourin Med.* 65: 382-387.
117. N. O'Farrell, A. A. Hoosen, A. B. M. Kharsany, J. Van Den Ende. 1989. Sexually transmitted pathogens in pregnant women in a rural South African community. *Genitourin. Med.* 65: 276-280.
118. C. A. Ison, D. G. Harvey, A. Tanna, and C. S. F. Easmon. 1987. Development and evaluation of scheme for serotyping *Gardnerella vaginalis*. *Genitourin Med.* 63: 196-201.

Bibliografía

119. William L. Minkowski, M.D., M.P.H., Charles J. Baker, M.D., Dolores Alleyne, M.D., Mohammad Baghai, M.D., Louis Friedlander, M.D., and Biruta Schultz, B.S. 1983. Single Oral Dose Metronidazole Therapy for *Gardnerella vaginalis* Vaginitis in Adolescent Females. *J. Adolescent Health Care*. 4: 113-116.
120. A. W. Sturm. 1989. Chemotaxis inhibition by *Gardnerella vaginalis* and succinate producing vaginal anaerobes: composition of vaginal discharge associated with *G.vaginalis*. *Genitourin Med.* 65: 109-112.
121. Angelika Skarin, Elisabet Holst and Per-Anders Mardh. 1983. Antimicrobial Susceptibility of Comma-shaped Bacteria Isolated from the Vagina. *Scand. J. Infect Dis Suppl.* 40: 81-84.
122. H. Smith. 1984. The biochemical challenge of microbial pathogenicity. *J. Applied Bacteriology*. 47: 395-404.
123. QFB Irma Torres Alipi, QBP, M en C Carlos J. Conde G. 1986. *Mobiluncus*; nuevo patógeno microbiano?. *Infectología* 2: 44-48.
124. Thomas G. Scott, Bernadette Curran, and Cyril J. Smyth. 1989. Electron Microscopy of Adhesive Interactions between *Gardnerella vaginalis* and Vaginal Epithelial Cells, McCoy Cells and Human Red Blood Cells. *J. Gen. Microbiol.* 135: 475-480.
125. Roger L. Cook, Gregor Reid, Donald G. Pond, Cheryl A. Schmitt, and Jack D. Sobel. 1989. Clue Cells in Bacterial Vaginosis: Immunofluorescent Identification of the Adherent Gram-Negative Bacteria as *Gardnerella vaginalis*. *J. Infect. Dis.* 160: 490-496.
126. QBP. Rubén de la Cruz González, DR. Ernesto Calderón J. 1986. Diagnóstico rápido de infecciones cervicovaginales. *Infectología* 5: 115-120.
127. Gerard-Antoine Denoyel, Emmanuel B. Drouet, Henri P. De Montelos, Andre Schanen, and Suzanne Michel. 1990. *Gardnerella vaginalis* Bacteremia in a Man with Prostatic Adenoma. *J. Infect. Dis.* 161: 367-368.
128. Ann Sheppard, Catherine Cammarata, and David H. Martin. 1990. Comparison of Different Medium Bases for the Semiquantitative Isolation of Anaerobes from Vaginal Secretions. *J. Clin. Microbiol.* 28: 455-457.
129. Giandomenico Rottini, Aldo Dobrina, Ornella Forgiarini, Ermanno Nardon, Gianni A. Amirante, and Pierluigi Patriarca. 1990. Identification and Partial Characterization of a Cytolytic Toxin Produced by *Gardnerella vaginalis*. *Infection and Immunity*. 58: 3751-3758.

Bibliografía

130. Dr. Mark E. Deutchman, Enf. Deborah J. Leaman, Dra. Jessica L. Thomason. 1995. Vaginitis: El diagnóstico es la clave. Atención Médica. Febrero :15-29.

131. Ann Marie Briselden and Sharon L. Hillier. 1994. Evaluation of Affirm VP Microbial Identification Test for *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis*. J. Clin. Microbiol. 32: 148-152.

132. Dr. William R. Bowie, Dra. Margaret R. Hammschlag, Dr. David H. Martin. 1994. Enfermedades de transmisión sexual: Actualización. Atención Médica. Julio: 56-68.

133. Marijane A. Krohn, Sharon L. Hillier, Robert P. Nugent, Mary Frances Cotch J. Christopher Carey, Ronald S. Gibbs, and David A. Eschenbach. 1995. The Genital Flora of Women with Intraamniotic Infection. J. Infect. Dis. 171: 1475-1480.