

37  
2ej

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

\*\*\*\*\*

\*\*

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS

\*\*

PROFESIONALES "ZARAGOZA"

\*\*

\*\*

ESTUDIO DE CONFIABILIDAD SIMPLIFICADO

\*\*

PARA

\*\*

EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA

\*\*

\*\*

TESIS

\*\*

\*\*

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

\*\*

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

\*\*

PRESENTA:

\*\*

\*\*

RAQUEL RETANA UGALDE

\*\*

\*\*

\*\*

ASESORES

\*\*

Q.F.B. MARTHA A. SANCHEZ RODRIGUEZ

\*\*

DR. VICTOR MANUEL MENDOZA NUREZ

\*\*

\*\*

MEXICO D.F.

TEJIS CON  
FALLA LE ORIGEN

AGOSTO 1991



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

## INDICE

RESUMEN	1
INTRODUCCION	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	6
MARCO TEORICO	9
ANATOMIA Y FISILOGIA	15
FACTORES DE RIESGO	20
SIGNOS Y SINTOMAS	21
AGENTE ETIOLOGICO	21
DIAGNOSTICO	36
TRATAMIENTO	44
PRONOSTICO	45
HIPOTESIS	46
OBJETIVOS	47
MATERIAL Y METODOS	48
TIPO DE ESTUDIO	48
UNIVERSO	48
CRITERIOS DE INCLUSION	48
CRITERIOS DE EXCLUSION	49
RECURSOS	50
TECNICAS	54
DISEÑO ESTADISTICO	59
RESULTADOS	64
ANALISIS Y DISCUSION	72
CONCLUSIONES	89
ANEXO	91
BIBLIOGRAFIA	99

## RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio observacional, prospectivo, transversal y descriptivo con el fin de determinar la confiabilidad diagnóstica de un método simplificado para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Así como conocer la confiabilidad diagnóstica de los criterios de Amsel y del frotis de Gram para células guía propuesto por Spiegel. Para tal efecto se estudiaron 135 muestras vaginales de pacientes en edad reproductiva, del Centro de Salud Portales de la Ciudad de México durante el periodo comprendido de marzo a octubre de 1990, con o sin sintomatología cervicovaginal sin haber ingerido tratamiento antibacteriano local y/o sistémico.

Las muestras fueron sometidas simultáneamente a los dos métodos referidos, encontrando los siguientes resultados:

Positividad al cultivo tradicional para Gardnerella vaginalis en 81 de las 135 muestras estudiadas, lo cual constituyó una población de 81 pacientes positivas a Gardnerella vaginalis y 54 negativas como punto de referencia.

La sensibilidad, especificidad y potencia diagnóstica para el método simplificado en el diagnóstico de vaginosis bacteriana fue del 67%, 100% y 80% respectivamente.

La potencia diagnóstica individual para colporeea, pH, KOH, células guía en fresco y células guía por tinción de Gram fue de 56%, 60%, 68%, 88% y 92% respectivamente.

El valor predictivo positivo para la asociación de dos criterios de Amsel estuvo comprendido entre 88% y 100%.

El valor predictivo positivo para el frotis de Gram propuesto por Spiegel en asociación con los criterios de Amsel estuvo comprendido entre el 95% y 100%.

El estudio realizado nos permitió concluir que el método simplificado para el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana es confiable por lo que se puede sugerir su uso en los consultorios de primer nivel de atención médica y hospitales suburbanos.

## INTRODUCCION

Uno de los enfoques actuales más objetivos y prácticos para el estudio de los padecimientos, es el epidemiológico, en el que se establece que las enfermedades se desencadenan cuando se desequilibra la triada ecológica, agente, medio y huésped.

Bajo este enfoque y siguiendo el esquema de la Historia Natural de la Enfermedad propuesto por Leavell y Clark, es posible interpretar los padecimientos en cualquier punto de su evolución mediante acciones de prevención.<sup>(1,2)</sup>

En la medicina preventiva se incluyen todas las técnicas médicas para prevenir la enfermedad y fomentar la salud aplicadas al individuo como unidad, en este sentido debemos subrayar que prevención significa interrumpir la Historia Natural de la Enfermedad en cualquiera de sus fases; de allí que se puedan establecer conforme al esquema de la Historia Natural de la Enfermedad tres niveles de prevención. De los cuales podemos resaltar como una de las acciones más importantes de la prevención secundaria al

diagnóstico precoz y tratamiento oportuno, lo cual es de particular importancia en los padecimientos infecto-contagiosos. Así mismo, podemos señalar que las enfermedades vulvovaginales son consideradas un problema de salud pública por su magnitud y trascendencia por ello es indispensable que se analicen todos los factores de riesgo para poder formular medidas preventivas específicas.<sup>(15)</sup>

Por tal motivo las bacterias como posibles agentes causales en tales padecimientos merecen una especial atención para conocer a fondo sus peculiaridades físicas como forma, tamaño y movilidad, biológicas como su metabolismo, alimentación y reproducción además de sus características químicas para tratar de combatirlas.<sup>(16)</sup>

Al respecto existen procedimientos para la identificación específica del microorganismo causal de cualquier enfermedad realizado por el laboratorio clínico, sin embargo, los procesos para la identificación son sofisticados y sobre todo costosos; por lo que la adaptación y simplificación de métodos diagnósticos son una

necesidad vigente en nuestro país, considerando que el Sistema Nacional de Salud estableció como prioridad la estrategia de atención primaria en salud, que nos marca brindar una asistencia sanitaria esencial basada en métodos y tecnologías prácticos, científicamente fundados y socialmente aceptados a un costo que la comunidad y el país puedan soportar.<sup>(1)</sup> Así mismo se deben identificar los principales problemas de salud de la comunidad y proponer soluciones a nivel preventivo, diagnóstico y terapéutico.<sup>(2)</sup> En este sentido se seleccionó un padecimiento frecuente en la población femenina en edad reproductiva que representa una de las principales causas de consulta ginecológica en el mundo la "Vaginosis Bacteriana" (VB); de esta patología se sabe que una de cada tres mujeres la padece (33%),<sup>(3)</sup> sin embargo, dicha alteración ha sido motivo de discusiones en cuanto a diagnóstico y tratamiento, y de controversia en lo que respecta al agente etiológico involucrado.<sup>(4)</sup> Por tal motivo, se llevó a cabo la presente investigación con el fin de conocer la prevalencia de dicha patología, en una



población de mujeres en edad reproductiva atendidas en una unidad de primer nivel de atención médica. Por otro lado se evaluó, la confiabilidad diagnóstica de los criterios de Amsel, Spiegel y la identificación de Mobiluncus en el frotis en fresco.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La vaginosis bacteriana, es un padecimiento ginecológico que ha sido ampliamente estudiado por diversos autores debido a su gran magnitud y trascendencia,<sup>(1,2)</sup> por ello, los criterios diagnósticos han evolucionado desde Gardner en 1954<sup>(3)</sup>, quien denominó al agente etiológico Haemophilus vaginalis, hasta Amsel y colaboradores en 1983,<sup>(4,5,6)</sup> quienes establecieron como criterios diagnósticos la presencia de tres de los siguientes cuatro criterios: 1) pH vaginal mayor de 4.5 2) presencia de células guía 3) prueba positiva de KOH 4) secreción homogénea, delgada y grisácea; así mismo Spiegel y colaboradores también en 1983<sup>(7)</sup> hicieron énfasis en el frotis de Gram como prueba para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana. Por otro lado existe controversia en cuanto al papel de los anaerobios en la patogénia de dicho padecimiento. Al respecto, se ha

señalado la importancia de la participación del género Mobiluncus sp.

Aunque se han realizado estudios referentes a la confiabilidad diagnóstica de los criterios de Amsel, a la importancia del frotis de Gram dada por Spiegel, así como la asociación de Mobiluncus con Gardnerella vaginalis\*\*\*, los resultados son inconsistentes en cuanto al valor diagnóstico equitativo de los criterios propuestos por Amsel, así como la importancia de la presencia de Mobiluncus para establecer el diagnóstico de vaginosis bacteriana. De allí la necesidad de llevar a cabo un estudio con el fin de determinar la sensibilidad y especificidad de los criterios de Amsel junto con el frotis teñido por Gram, y establecer el valor predictivo de la presencia de Mobiluncus para la vaginosis bacteriana.

De acuerdo con el esquema de la Historia Natural de la Enfermedad, es un hecho que para la prevención secundaria el éxito del tratamiento de la infección vaginal radica en el diagnóstico certero, para llegar a éste, tradicionalmente se realiza un método de identificación del agente causal que contempla la toma de muestra con tres

hisopos estériles, uno para el análisis en fresco, uno para dos frotis teñidos y el último para la siembra en varios medios enriquecidos para las distintas posibilidades etiológicas, después se observa el crecimiento en los medios de cultivo y conjuntando con las observaciones microscópicas se realiza una identificación presuntiva para confirmar por medio de pruebas bioquímicas, como puede apreciarse todo esto hace al análisis un procedimiento muy complicado, tardado y costoso y de difícil acceso a hospitales de primer nivel de atención médica u hospitales rurales.

Por lo anterior, se puede resaltar la relevancia de conocer la confiabilidad diagnóstica de los criterios de Amsel y el frotis de Gram aunados con la identificación en fresco de Mobiluncus. Es decir, si su sensibilidad, especificidad y valor predictivo son adecuados se podrá recomendar su aplicación en los laboratorios suburbanos y rurales e incluso en los consultorios médicos, con el fin de incrementar la eficiencia y la eficacia del diagnóstico precoz y tratamiento oportuno de este padecimiento.

## MARCO TEORICO

El avance en la tecnología biomédica ha permitido en los últimos decenios ampliar la acción de la medicina y disciplinas afines hacia la prevención de las principales enfermedades. '22'

El hombre como todo ser vivo, es influido fuertemente por el medio ambiente en el que actúa; sin embargo debido a su mayor desarrollo mental, ha podido modificar favorablemente muchos factores del ambiente y a través de su desarrollo cultural, los ha ido controlando progresivamente. En este sentido la existencia del hombre depende de su capacidad para adaptar y adaptarse a un ambiente complejo dentro del cual es necesario un completo estado de bienestar físico, mental y social para considerarse como un individuo sano y no simplemente la ausencia de afecciones o enfermedades. '20.22'

Conforme a lo anterior hay que reconocer que salud y enfermedad no son conceptos bipolares que implican las

manifestaciones de la relación ecológica entre el hombre y su ambiente, si no procesos dinámicos, determinados por la interacción agente-medio-huésped. Para poder entender dicho proceso es fundamental considerar el modelo propuesto por Leavelly Clark en 1969 (12) sobre la "Historia Natural de la Enfermedad" en donde se establece la relación dinámica que mantienen los factores ecológicos, el agente causal o los agentes causales, el huésped o individuo afectado y el ambiente que los contiene a ambos. Habitualmente el hombre (huésped) se desenvuelve en un ambiente en el que existen muy diversos agentes infecciosos; sin embargo, sólo en determinadas condiciones desarrolla alguna enfermedad. (13, 14) Aun cuando generalmente se inculpa a un "agente" como causante de un padecimiento, el análisis detallado de los eventos permite reconocer que en el proceso quedan involucrados diversos mecanismos que mantienen la armonía de esta triada ecológica, si este equilibrio se rompe, la causalidad múltiple determina que el agente penetre al organismo y dé lugar a una enfermedad; a esta etapa se le conoce como periodo de prepatogénesis

en el estudio de la historia natural de la enfermedad''\*)

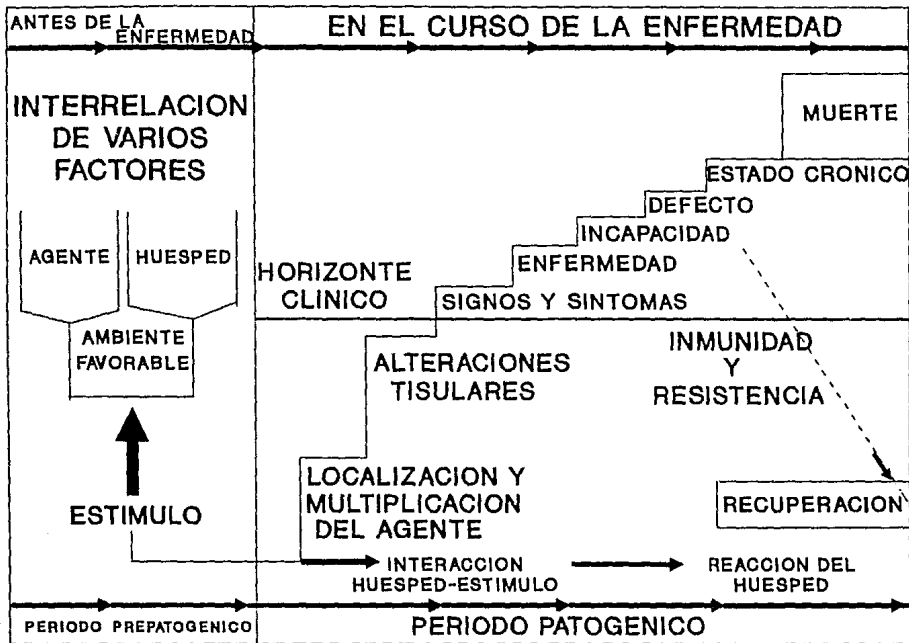
Fig 1

La segunda etapa conocida como periodo de patogénesis se inicia a partir del momento en el que el agente penetra y se establece en el organismo. Si se trata de un agente biológico, como en el caso de las bacterias, los tejidos del huésped responden con diversos cambios tisulares y bioquímicos los que se manifiestan con los signos y síntomas en el proceso de la enfermedad para seguir a la incapacidad anatomo-funcional transitoria o permanente, la recuperación de la salud, o bien la muerte.('\*) Fig 1

En la promoción de la salud, la prevención de las enfermedades y la prolongación de la vida, intervienen factores directamente relacionados tanto con el ambiente físico y biológico como con las creencias y formas de conducta del individuo en la comunidad. Los esfuerzos encaminados al saneamiento del medio, al control de vectores que transmiten enfermedades y al mejoramiento de la habitación a fin de proteger al hombre de las inclemencias ambientales, deben complementarse con el

FIG. 1

# HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD



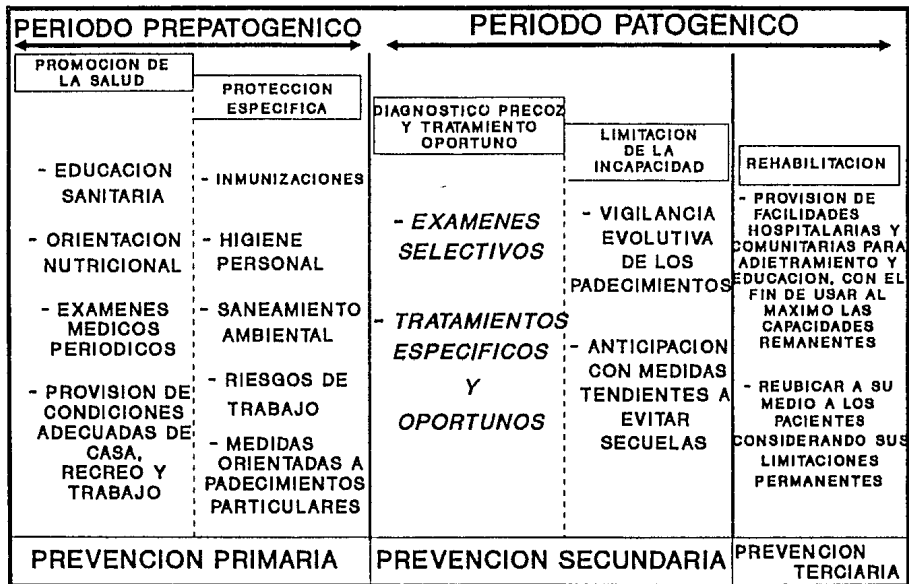


establecimiento de patrones de conducta, actitudes y conocimientos que permitan al individuo mantener su salud, es aquí donde la medicina preventiva puede actuar haciendolo en diferentes niveles: puede hacerlo sobre el ambiente, modificando factores biológicos o adversos sobre el individuo sano o aparentemente sano; sobre el individuo que presenta alteraciones iniciales de su salud con el objeto de hacer un diagnóstico temprano y prevenir sus consecuencias. (10.12)

Al relacionar la medicina preventiva con el esquema de la Historia Natural de la Enfermedad se puede establecer que existen tres niveles de prevención. (Fig 2) Dentro de los cuales cabe resaltar que en el período prepatógeno, se contemplan las acciones de promoción de la salud y protección específica correspondiente a la prevención primaria, y en el período patógeno se llevan a cabo actividades encaminadas al diagnóstico precoz y tratamiento oportuno, así como para la limitación de la incapacidad abarcando lo concerniente a la prevención secundaria, así mismo se contemplan las actividades de rehabilitación

FIG. 2

NIVELES DE APLICACION DE MEDIDAS PREVENTIVAS EN LA HISTORIA NATURAL DE LA ENFERMEDAD.



FUENTE: MODIFICADO DE Vega Franco L. 1977.

referentes a la prevención terciaria.<sup>(12)</sup>

Para poder valorar los factores que intervienen en la interacción del agente, medio y huésped de la vaginosis bacteriana, presentaremos las características generales de estos elementos, resaltando al final los de mayor importancia conforme a la triada ecológica.

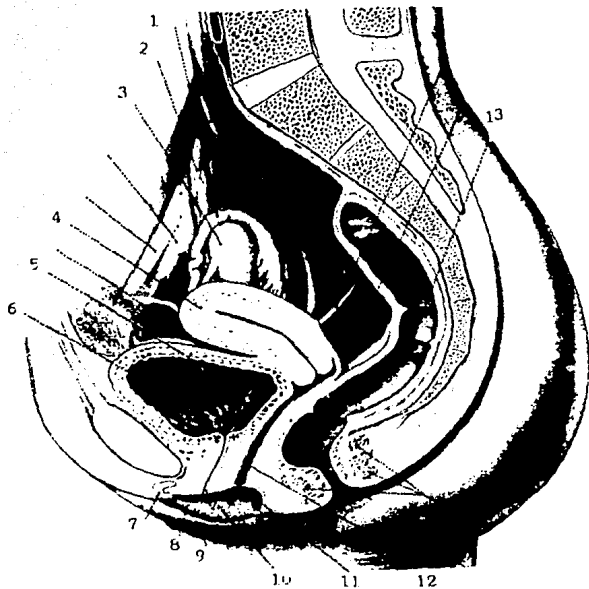
#### ANATOMIA Y FISIOLOGIA

El aparato reproductor femenino, tiene como cualidad principal el mostrar cambios cíclicos regulares que fisiológicamente se pueden considerar como preparación periódica para la fecundación y el embarazo.<sup>(13)</sup>

Los órganos genitales femeninos se componen de ovarios, trompas uterinas, útero, vagina y órganos genitales externos. Los ovarios y las trompas, formaciones pares, y el útero, órgano único, están situados en la cavidad pelviana. La vagina, formación impar también, se halla situada en parte en la cavidad pelviana, y en parte en el perineo. (Fig 3) Los órganos genitales externos quedan

FIGURA 3

CORTE SAGITAL MEDIO DEL APARATO REPRODUCTOR FEMENINO



- |                         |                    |
|-------------------------|--------------------|
| 1.- URETER              | 8.- LABIOS MENORES |
| 2.- TUBO UTERINO        | 9.- LABIOS MAYORES |
| 3.- OVARIO              | 10.- URETRA        |
| 4.- FONDO DEL UTERO     | 11.- HIMEN         |
| 5.- ORIFICIO DEL URETER | 12.- VAGINA        |
| 6.- VEJIGA              | 13.- RECTO         |
| 7.- CLITORIS            |                    |

FUENTE: Hamilton W.J. 1976.

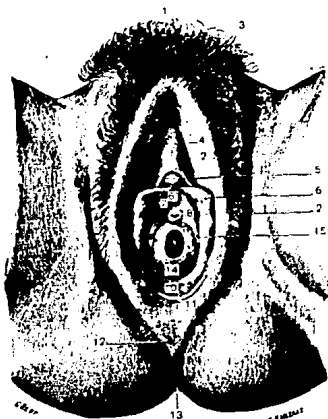
delante y debajo del pubis, comprenden el monte de Venus, labios mayores, los labios menores, el clítoris, el meato urinario, los conductos de Skene, la vagina y las glándulas de Bartholin. ('24.49') (Fig 4)

La vagina es un conducto virtual, cuya mucosa se encuentra constantemente "bañada" por líquido procedente de tres diferentes fuentes: secreción mucosa del epitelio columnar endocervical, líquido de trasudación de las paredes vaginales y secreción producida por las glándulas sebáceas de Bartholin, que se sitúan a ambos lados del introito vaginal. ('33.40')

La vagina, de aproximadamente 10cm de longitud, comunica al útero al exterior teniendo como límite inferior al himen en la mujer virgen. En su extremo superior, la vagina se ensancha a manera de cáliz en donde se inserta el cuello uterino, el cual se ve rodeado por fondos de saco. ('40') La mucosa vaginal es de color rosa oscuro, tapizada por un epitelio estratificado plano, formada por una capa basal, un estrato mucoso de Malpighi y una capa córnea. No contiene glándulas, y debajo de la mucosa se

FIGURA 4

ORGANOS GENITALES EXTERNOS FEMENINOS



- |                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| 1.- PUBIS O MONTE DE VENUS        | 9.- ABERTURA DE LA VAGINA   |
| 2.- LABIOS MAYORES                | 10.- FOSA NAVICULAR   |
| 3.- COMISURA ANTERIOR DE LA VULVA | 11.- HORQUILLA  |
| 4.- CAPUCHON DEL CLITORIS         | 12.- PERINEO  |
| 5.- CLITORIS                      | 13.- ANO  |
| 6.- LABIOS MENORES                | 14.- HIMEN  |
| 7.- VESTIBULO                     | 15.- ORIFICO EXTERIOR DEL CONDUCTO EXCRETORIO DE LAS GLANDULAS DE BARTHOLIN |
| 8.- MEATO URINARIO                |   |

encuentra la capa muscular formada por fibras circulares y longitudinales. (120)

En condiciones normales, la vagina posee un sistema defensivo muy eficaz, consistente en un peculiar medio ácido no apto para la implementación de gérmenes nocivos, que a su vez facilita la supervivencia de ciertos gérmenes considerados saprófitos, no nocivos y de acción defensiva llamados bacilos de Dodërlein y en menor proporción bacilos entericos Gram negativos, Bacteroides sp., enterococos y estafilococos coagulasa negativos. (121) Esta flora convierte el glucógeno de las células vaginales en ácido láctico, que conserva en la vagina un pH que varía de 3.0 a 4.0, disminuyendo a nivel máximo durante la ovulación con alzas antes y después de la menstruación; fomentando así las secreciones normales. (122, 123, 124, 125)

El cervix es la porción más móvil del útero y se halla dividida en dos partes por la pared anterior de la vagina, esta revestido por epitelio cilíndrico que secreta moco el cual presenta un pH alcalino (7.4-8) (126) que no afecta significativamente sobre el pH vaginal. (127, 128)

## FACTORES DE RIESGO

Las infecciones e infestaciones en órganos genitales externos, vagina y cervix representan una de las causas que con mayor frecuencia son atendidas en la consulta ginecológica en todo el mundo.<sup>(1,40)</sup>; la mujer como todo organismo vivo mantiene en acción diversos mecanismos que aseguran un balance positivo entre las fuerzas que generan la enfermedad y las que condicionan el equilibrio de su salud<sup>(42)</sup>; estos mecanismos de defensa pueden alterarse por múltiples causas como: invasión masiva de gérmenes agresivos, antibioterapia prolongada con fármacos de amplio espectro, empleo prolongado de anticonceptivos orales y locales, algunas enfermedades como diabetes o enfermedades hormonales, exceso de higiene por irrigaciones a temperaturas elevadas o por spray vaginal<sup>(44)</sup>, aunque también se ha demostrado que la manipulación de los genitales o del área perineogenital, las relaciones sexuales, las diferentes concentraciones hormonales durante el ciclo menstrual, el embarazo, la masturbación y la edad



influyen de manera significativa en el ambiente cervicovaginal condicionando de este modo a un cambio en la flora bacteriana vaginal, la cual puede manifestarse como infección o cursar asintomática. (40,41) Es decir, desde el punto de vista epidemiológico existe una interacción dinámica de los factores que permiten un equilibrio entre el agente, medio y huésped; que si se ve alterado en alguno de sus elementos puede propiciar la ruptura del horizonte clínico y pasar de una etapa prepatógena a una patógena, manifestandose el proceso infeccioso. (42)

#### SIGNOS Y SINTOMAS

Las infecciones o infestaciones en vulva, vagina y cuello uterino son conocidas en el ambiente médico como vaginitis, vulvovaginitis, cervicovaginitis o cervicitis. El patrón sintomático más común de estos padecimientos es la denominada "leucorrea, colporeea, flujo o descarga transvaginal" cuyas características dependen de la

etiología<sup>133</sup>

Este padecimiento puede ocurrir en cualquier etapa de la vida de la mujer,<sup>134</sup> observándose con mayor frecuencia durante la etapa reproductiva.<sup>135</sup> Respecto a las manifestaciones clínicas más frecuentes se pueden enunciar: el ardor o dolor vulvovaginal, disuria, prurito rectal y vaginal, hiperemia vaginal, sangrado al contacto, dispareunia, polaquiuria y sensación urente vulvovaginal,<sup>137,18</sup> Es decir que cuando haya un desequilibrio en la triada ecológica y se pasa a la etapa patógena el primer escalón esta dado por la aparición de signos y síntomas inespecíficos antes de manifestarse la enfermedad.

#### AGENTE ETIOLOGICO

Los agentes causales de este padecimiento se clasifican en diferentes grupos taxonómicos como protozoarios, hongos, bacterias o virus, sin descartar los factores psicósomáticos, alérgicos e irritativos.<sup>17,19</sup>

De los agentes causales podemos señalar que Trichomonas vaginalis, es considerado como el protozoario más frecuentemente adquirido por vía sexual, su frecuencia reportada varía del 13-23%; para Candida se reporta entre el 25 y 50% de las pacientes; en el resto de microorganismos que producen este padecimiento podemos encontrar: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, Escherichia coli, Pseudomona, Klebsiella, Treponema pallidum y Streptococos beta hemolíticos del grupo B; además de algunos virus tipo 2 y Papilloma virus.<sup>(7,11,34,40,44,47)</sup>

En el caso de la vaginitis inespecífica (VI), mejor conocida como vaginosis bacteriana (VB), el agente causal se aísla entre el 23-96% de las pacientes atendidas; sin embargo este padecimiento ha sido causa de múltiples controversias desde el agente etiológico involucrado, su aislamiento y su posible relación con microorganismos anaerobios.<sup>(30,44)</sup> Por tal motivo, es indispensable conocer los antecedentes evolutivos de esta patología para poder valorar e interpretar su importancia clínica.

En 1953 se consideraba que este padecimiento podría ser causado por enterobacterias o estafilococos.<sup>(1)</sup> Sin embargo esta teoría fue desmentida en 1954-1955 cuando Gardner y Dukes aislaron y describieron a un microorganismo al que postularon como causante de tal entidad, refiriéndose a él como un pequeño bacilo pleomórfico Gram negativo al cual le asignaron el nombre de Haemophilus vaginalis.<sup>(2,3)</sup> Estos científicos también describieron las características de la leucorrea encontrada en pacientes con vaginitis inespecífica como una descarga grisácea homogénea de mal olor y con un pH entre 5 y 5.5, pero sin duda el hallazgo más importante fue al observar las células epiteliales con una apariencia granulosa en el citoplasma a las que llamaron "células guía".<sup>(2)</sup>

En 1961 Lapage sugirió que este microorganismo fuera incluido dentro del género *Corynebacterium* debido a que no eran esenciales los factores V (nicotina - adenina-dinucleotido) y X (hemina) para su crecimiento; sin embargo fue hasta 1963 cuando Zinneman y Turner lo incluyeron dentro de este género con el nombre específico de

Corynebacterium vaginales, ya que bajo condiciones óptimas de crecimiento este microorganismo se tiñe consistentemente de Gram positivo y forma gránulos, bastones y caracteres chinos. Dunkelberg y Mcveigh en 1969 evidencian que el microorganismo no pertenece al género Haemophilus y apoyan el nombre de Corynebacterium vaginales, lo que causa una gran controversia a partir de 1970 en cuanto a su clasificación ya que no se acepta al microorganismo dentro del género por no cumplir las características esenciales del mismo entre ellas cabe mencionar algunas como la composición de la pared celular en donde la arabinosa predomina en el género Corynebacterium no así en Haemophilus vaginalis que esta constituida por 6-dexositalosa, en el género Corynebacterium se han encontrado cantidades significativas de ácidos telcoicos no así en H. vaginalis. Además H. vaginalis tiene la característica de ser pleomórfico y de tener afinidad tintoreal por el colorante de contraste en la tinción de Gram lo que da como resultado un microorganismo gram negativo no como en el género Corynebacterium que es de Gram positivo.<sup>1,2,3,4,5,6,7</sup> Cuadro I.

COMPARACION DE LOS DOS  
 GENEROS BACTERIANOS

*Corynebacterium* *Haemophilus*

TINCION DE GRAM	POSITIVO	NEGATIVO
CATALASA	POSITIVO	NEGATIVO
ARABINOSA EN SU PARED	POSITIVO	NEGATIVO
NECESITA FACTORES X Y V	NEGATIVO	POSITIVO
% MOLES DE GUANINA-CITOSINA	52-68	38-42

FUENTE: Vontver L. Eschenbach D. 1981.

En 1979 Greenwood y Pickett proporcionaron datos alrededor de la taxonomía de este microorganismo y propusieron su transferencia a un nuevo género éponimo Gardnerella en honor al Dr. Herman L. Gardner, quien fué el primero en describir que la vaginitis inespecífica se asocia con este microorganismo y la especie vaginalis por el sitio de aislamiento. (24)

Aunque al cuadro se le siguió llamando "vaginitis inespecífica" ahora se tenía a Gardnerella vaginalis como el causante directo de la misma. Este microorganismo es un cocobacilo pleomórfico Gram negativo o Gram variable, mide aproximadamente 0.5µm de diámetro y de 1.5-2.5µm de longitud, es inmóvil, no encapsulado, anaerobio facultativo y es negativo a la pruebas de catalasa, oxidasa, indol, reducción de nitratos, bencidina y Voges-Proskauer. Hidroliza el hipurato pero no la esculina. (25, 26, 27)

(CUADRO II y CUADRO III)

Crece a una temperatura óptima de 35-37°C, con una atmósfera parcial de CO<sub>2</sub> (3-5%), a un pH 6.0-6.5 por 24-48 hrs., y forma colonias puntiformes, translúcidas lisas, incoloras, con un diámetro aproximado de 0.4-0.5mm

y muestra beta-hemólisis difusa en Agar Sangre Humana, pero no en Agar Sangre de Carnero. (28.41.43) (CUADRO 11)

Fermenta a los carbohidratos y produce ácido pero no gas de: almidón, glucosa, maltosa, excepto rafinosa y manito. (Cuadro 11) El mayor producto de la fermentación es el ácido acético, pero algunas cepas también producen uno o más de los siguientes ácidos orgánicos: ácido láctico, fórmico o succínico. Libera altas concentraciones de aminoácidos y cetoácidos, especialmente pirúvico durante su crecimiento. (28.41.43)

Produce fosfatasa ácida, alfa-glucosidasa, leuciaminopeptidasa y no produce ornitina descarboxilasa ni fenilalanina desaminasa. (27) Cuadro III.

Con todas las características de Gardnerella vaginalis antes mencionadas en 1978 Pfeifer noto que las descargas vaginales desprendían un olor a pescado en cual era más acentuado al adicionar a la descarga vaginal una solución de KOH al 10% este aroma provenía de la desaminación de los aminoácidos probablemente hechas por anaerobios, pero fue en 1979 cuando encontraron que el olor tan distintivo era



**CARACTERISTICAS FISICAS DE**  
*Gardnerella vaginalis*

MORFOLOGIA	COCOBACILO PLEOMORFICO
TINCION DE GRAM	- O +/-
DIAMETRO	0.5 um
LONGITUD	1.5 - 2.5 um
ARABINOSA EN SU PARED	NEGATIVO
NECESITA FACTORES X Y V	NEGATIVO
% MOLES DE GUANINA-CITOSINA	42-44
MOVILIDAD	NEGATIVO
CAPSULA	NEGATIVO
CRECIMIENTO	ANAEROBIO FACULTATIVO ATM. PARCIAL DE CO <sub>2</sub> 3-5%
TEMPERATURA OPTIMA	35-37OC
pH OPTIMO	6.0 - 6.5
TIEMPO DE CRECIMIENTO	24 - 48 hrs
MORFOLOGIA COLONIAL	COLONIAS PUNTIFORMES LISA TRANSLUCIDAS E INCOLORAS 0.4-0.5 DE DIAMETRO
HEMOLISIS ASC 5%	NEGATIVO
HEMOLISIS ASH 5%	POSITIVO BETA HEMOLISIS

FUENTE:MODIFICADO DE Totten P. Amsel R. 1982 Y VONTVER L. Eschenbach D. 1981.

## CARACTERISTICAS QUIMICAS DE Gardnerella vaginalis

CATALASA	NEGATIVO
OXIDASA	NEGATIVO
UREASA	NEGATIVO
HIDROLISIS DEL HIPURATO	POSITIVO
REDUCCION DE NITRATOS	NEGATIVO
HIDROLISIS DE LA ESCULINA	NEGATIVO
FENILALANINA DESAMINASA	NEGATIVO
FOSFATASA ACIDA	POSITIVO
LEUCIAMINO PEPTIDASA	POSITIVO
DESCARBOXILASA	NEGATIVO
BETA GALACTOSIDASA	POSITIVO
BETA GLUCOSIDASA	NEGATIVO
ALFA GLUCOSIDASA	POSITIVO
ACIDO DE:	
RIBOSA	POSITIVO
DEXTROSA	POSITIVO
ALMIDON	POSITIVO
GLUCOSA	POSITIVO
MALTOSA	POSITIVO
RAFINOSA	NEGATIVO
INULINA	NEGATIVO
MANITOL	NEGATIVO
FRUCTUOSA	POSITIVO

FUENTE:MODIFICADO DE Vontver L. Eschenbach D. Y Totten P. Ameal R. 1982.

provocado por la volatilización de las aminas al alcalinizar la descarga vaginal, siete aminas fueron identificadas y cuantificadas por electroforesis de alto voltaje a pH 2.1 y en cromatografía de gas-líquido en capa fina<sup>(3,4)</sup>, denominándose como histamina, isobutilamina, metilamina, fenetilamina, tiramina, y en mayor proporción putrescina y cadaverina, todas estas aminas no son producidas por Gardnerella vaginalis, por lo que probablemente sean producidas por bacterias anaerobias vaginales; similarmente el ácido gama amino butírico (GABA) que solo se encuentra en fluidos con vaginosis es producido por microorganismos anaerobios y no por Gardnerella vaginalis.<sup>(5,6,7)</sup>

En 1983 un grupo de investigadores entre los que destaca Spiegel decide llamar a la "vaginitis no específica" como "vaginosis bacteriana", puesto que en el cuadro participan únicamente bacterias, y no hay respuesta inflamatoria la mayor parte de las veces.<sup>(8)</sup> Sin duda alguna la controversia más interesante alrededor de Gardnerella vaginalis ha sido su asociación con bacterias

anaerobias, al respecto Spiegel y sus colaboradores encontraron en 1984 un microorganismo totalmente diferente de cualquier otro género conocido, describiéndolo como una bacteria curva y móvil y proponen la creación de un nuevo género llamado *Mobiluncus*, del cual, mediante una tinción de Gram modificada por Kopeloff, se distinguen dos tipos morfológicos, un bacilo pequeño de aproximadamente 1.7µm, variable al Gram correspondiendo a *Mobiluncus curtisii*; y de este último existen dos subespecies: *M. curtisii curtisii* denominado así en honor de Curtis A.H. que fue el primero en aislarlo en 1913;<sup>'83'</sup> y *M. curtisii holmesii* en honor de Holmes King; y un bacilo grande de aproximadamente 2.9µm Gram negativo llamado *Mobiluncus mulieris*.<sup>'80'</sup>

Dentro de este género se comparten las siguientes características: son microorganismos anaerobios curvos, catalasa y oxidasa negativos, tienen un tamaño promedio de 1.7-2.9µm de longitud y menos de 0.5µm de ancho, poseen una pared celular del tipo de las Gram positivas en multicapa, son Gram variables o Gram negativos, existen solos o en pares, no producen H<sub>2</sub>S, los productos de

fermentación son ácido succínico, acético y láctico, algunos fermentan la fructuosa óptimamente a 37°C pero no a 42°C, el suero de conejo favorece su crecimiento pero el fumarato-formato lo inhibe, tienen un contenido de guanina-citocina de 49-59% mol, hidrolizan al almidón, reducen los nitratos a nitritos y producen reacción de CAMP, son móviles por la presencia de 2-6 flagelos subpolares que se sitúan lateralmente hacia el lado cóncavo de la bacteria. (22, 23, 24, 25) (Cuadro IV Y V)

Al observar las preparaciones en fresco de estos microorganismos puros, la naturaleza del movimiento es diagnóstica con movimientos rápidos de corta duración en una línea recta o dirección ligeramente arqueada, rara vez se mueven fuera del campo visual, la actividad característica de sacacorcho o en espiral, se observa cuando un extremo de la bacteria parece adherirse a las células epiteliales o al portaobjetos; tienen una apariencia de ave en vuelo y en otros casos se encuentra que forma un patrón característico de S. (22, 23)

Si revisamos las características macroscópicas del

## CARACTERISTICAS FISICAS DIFERENCIALES

CUADRO IV

DE Mobiluncus sp.

CARACTERISTICAS	M. curtisii subespecie curtisii	M. curtisii subespecie holmesii	M. mulleris
MORFOLOGIA CELULAR	M.O. CURVOS	M.O. CURVOS	M.O. CURVOS
LONGITUD	1.7 um	1.7um	2.9 um
TINCION DE GRAM	VARIABLE	VARIABLE	NEGATIVO
MOVILIDAD	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
MIGRACION ATRAVES DEL AGAR SEMISOLIDO	POSITIVO	NEGATIVO	VARIABLE
CRECIMIENTO	ANAEROBIO ESTRICTO	ANAEROBIO ESTRICTO	ANAEROBIO ESTRICTO
TEMPERATURA OPTIMA	35oC	35oC	35oC
TIEMPO DE CRECIMIENTO	3-5 DIAS	3-5 DIAS	3-5 DIAS
MORFOLOGIA COLONIAL	COLONIAS DE 1-3 mm TRANSLUCIDAS Y LISAS	COLONIAS DE 1-3 mm TRANSLUCIDAS Y LISAS	COLONIAS DE 1-3 mm TRANSLUCIDAS Y LISAS

FUENTE:MODIFICADO DE Torree Allpi 1986. Y Holst E. Skarin A. 1983.

CUADRO V CARACTERISTICAS QUIMICAS DIFERENCIALES  
DE Mobiluncus sp.

	M. curtisii subespecie curtisii	M. curtisii subespecie holmesii	M. mulieris
CATALASA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
OXIDASA	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
HIDROLISIS DE HIPURATO	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
REACCION DE CAMP	DEBIL	DEBIL	FUERTE
ESTIMULACION CON ARGININA	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
ARGININA DESCARBOXILASA	POSITIVO	POSITIVO	NEGATIVO
REDUCCION DE NITRATOS	NEGATIVO	POSITIVO	VARIABLE
BETA GALACTOSIDASA	VARIABLE	VARIABLE	NEGATIVO
ACIDO DE: GLUCOGENO	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO
FRUCTUOSA	DEBIL	DEBIL	VARIABLE
GLUCOSA	DEBIL	NEGATIVO	POSITIVO
MALTOSA	DEBIL	DEBIL	POSITIVO
RAFINOSA	DEBIL	NEGATIVO	NEGATIVO
ALMIDON	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO

FUENTE: MODIFICADO DE Holst E. Skarin A. 1983 Y Torres Allpi 1986.

género encontramos que: sobre Agar Sangre Columbia y Agar Chocolate son colonias de 1-3mm de diámetro, lisas, translúcidas, convexas, de bordes enteros que aparecen después de un período de incubación de 3 a 5 días a 35°C. en una atmósfera anaerobia húmeda. (23.40)

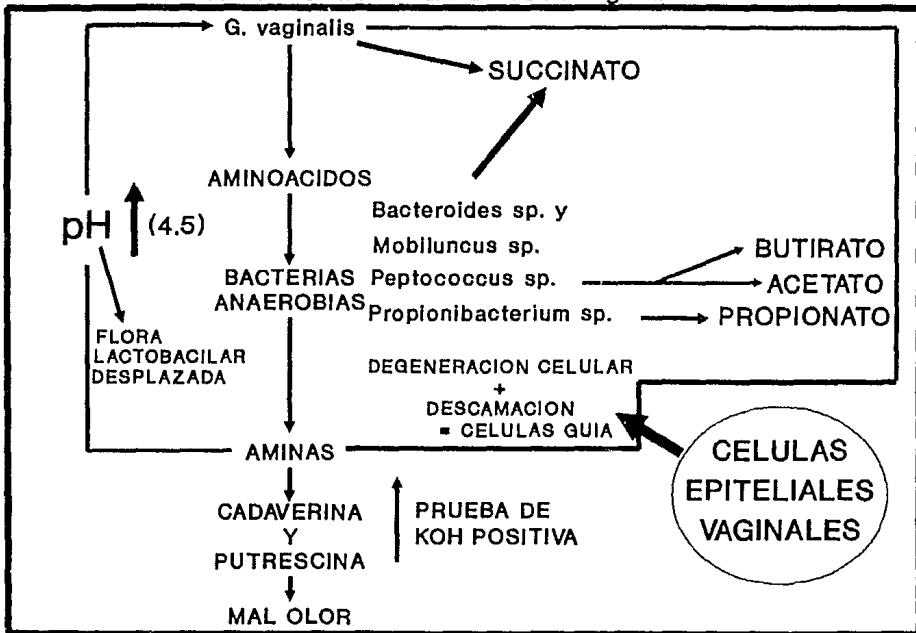
Al igual que otros anaerobios al género Mobiluncus sp. se le relaciona con Gardnerella vaginalis como causante de la vaginosis bacteriana ya que sólo se ha encontrado en pacientes con esta etiología, en más del 69%, además de contribuir a la producción del olor a aminas por ser productor de succinato junto con Bacteroides sp., el cual se encuentra elevado al igual que el acetato, butirato y propionato producidos por Peptococcus sp. y Propionibacterium sp. que son microorganismos anaerobios encontrados en asociación con Gardnerella vaginalis. (27.58.40) Fig 5

#### DIGNOSTICO

Aunque la vaginosis bacteriana es usualmente benigna, su



FIG. 5 POSIBLE RELACION ENTRE BACTERIAS ANAEROBIAS Y *Gardnerella vaginalis*



frecuencia es alta, ya que se reporta que una prevalencia de un 33% a un 64%,<sup>(11,13,29)</sup> dicha alteración representa una molestia continua para las pacientes lo cual repercute en sus esferas física, psicológica y social.<sup>(27,40,37)</sup> Por tal motivo desde el punto de vista práctico, es necesario diferenciar con claridad los cuadros de vaginosis bacteriana como entidad clínica definida, con el fin de realizar un diagnóstico precoz y tratamiento oportuno. Al respecto ha sido valiosa la contribución de Amsel y colaboradores quienes propusieron que deben cumplirse al menos tres de los siguientes criterios:<sup>(9,9,37)</sup> a) pH de la secreción vaginal mayor de 4.5., b) Presencia de células guía., c) Prueba positiva de KOH., d) Secreción homogénea, delgada y grisacéa. CUADRO VI

Sin embargo estas características son signos y no síntomas ya que en la vaginosis bacteriana no hay respuesta inflamatoria importante porque Gardnerella vaginalis es un patógeno superficial que no produce grandes cambios en la membrana mucosa de vagina o de vulva y sólo puede haber enrojecimiento y edema de la vulva, eritema o ptequias en

**CUADRO VI**

**CRITERIOS DE AMSEL**

- pH	MAYOR DE 4.5
- SECRECION	HOMOGENEA DELGADA Y GRISACEA
- PRUEBA DE KOH	POSITIVA
- CELULAS GUIA	PRESENTES

a pared vaginal. Debido a su dudoso valor diagnóstico De la Cruz en 1987 (10) amplió el número de criterios, estableciendo que se deberían cumplir con siete de los diez propuestos. (CUADRO VII)

#### CUADRO VII

##### CRITERIOS PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA PROPUESTOS POR DE LA CRUZ

- 1) Secreción vaginal grisácea, verdosa o amarillenta.
- 2) Sin reacción eritematosa vulval ni reacción inflamatoria vaginal.
- 3) pH mayor a 4.5
- 4) Prueba positiva a KOH
- 5) Ausencia de Candida albicans y Trichomonas vaginalis.
- 6) Morfotipo de Gardnerella vaginalis, > 2+
- 7) Morfotipo de lactobacilos > 2+
- 8) Morfotipo de bacilos curvos, bacilos gram negativo cocos gram positivo > 2+
- 9) Leucocitos polimorfonucleares menos de 5 por campo en 400x.
- 10) Presencia de células guía.

FUENTE: DE LA CRUZ 1987.

En 1983 Spiegel y colaboradores señalaron que el diagnóstico de la vaginosis bacteriana era posible solamente utilizando un frotis de Gram de la secreción vaginal; así mismo se consideraba que la enfermedad estaba presente si el morfotipo de Gardnerella vaginalis superaba en número al morfotipo lactobacilar, así como a cualquier otro morfotipo bacteriano. (27)

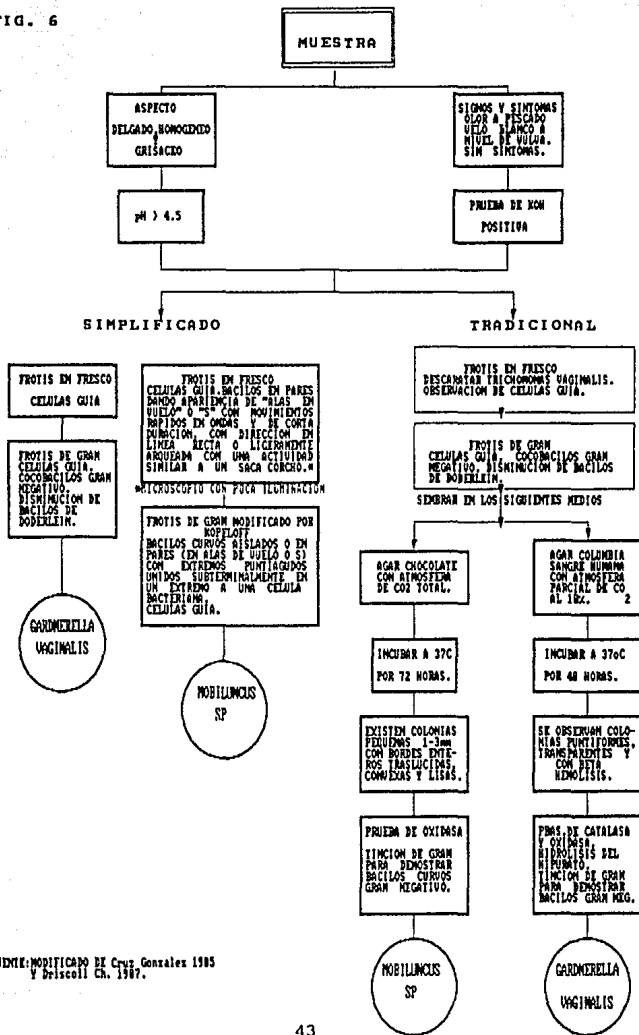
En 1990 Thomason y colaboradores establecieron diferencias significativas al evaluar individualmente y en asociación los criterios de Amsel y el de Spiegel. (28)

Por lo tanto el diagnóstico clínico de la vaginosis bacteriana resulta ser poco específico para el médico y es necesario apoyarse con el laboratorio, de análisis clínicos en donde se realiza la medición del pH vaginal, la prueba de diaminas, un frotis en fresco y otro teñido por Gram; siembra en medios de cultivo selectivos para aislamiento de los agentes etiológicos para ser identificados por pruebas bioquímicas o por métodos sofisticados como cromatografía de gas-líquido, empleando métodos inmunológicos como la identificación con anticuerpos

monoclonales; todo esto hace que el diagnóstico no sea accesible para cualquier laboratorio ya que se requiere material y equipo sofisticado muy costoso.

Considerando el alto costo de los análisis confirmatorios para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana, algunos autores han propuesto alternativas para hacerlo en forma simplificada y accesible para todos los laboratorios, inclusive para que los médicos rurales lo realicen en el consultorio, que además de costo ahorren tiempo para indicación del tratamiento y que sean factibles de realizar con un mínimo de equipo, sin sacrificar la precisión del diagnóstico. Por lo que se propone una ruta crítica basada en el esquema elaborado por Driscoll (11) y De La Cruz (10) para la identificación de los microorganismos productores de vaginosis bacteriana; en el cual se contemplan los criterios de Amsel, Spiegel e identificación de Mobiluncus. (FIG 6) Además cumple el requisito de ser un método diagnóstico sencillo y de bajo costo, sin embargo es indispensable someterlo a estudios clínicos de sensibilidad y especificidad

FIG. 6



FUENTE: MODIFICADO DE Cruz Gonzalez 1985  
Y Driscoll Ch. 1987.

diagnóstica, para poder recomendar su aplicación.

Por otro lado, la experiencia del laboratorio de análisis clínicos de la ENEP Zaragoza, UNAM, nos marca que no es adecuada la aplicación de los criterios de Amsel, ya que con la excepción de las células guía el valor diagnóstico de dichos criterios es muy pobre, sin embargo, esto último no se ha investigado formalmente.

#### TRATAMIENTO

En cuanto a los esquemas terapéuticos para vaginosis bacteriana son discutidos y se han utilizado diversos fármacos, para lo cual se ha tomado en cuenta la sensibilidad de los microorganismos, en este sentido Gardnerella vaginalis es resistente a sulfas, ampicilinas y cefalosporinas pero susceptible al metronidazol; los anaerobios en particular el género Mobiluncus sp. son resistentes a la colistina y ácido nalidixico y susceptibles a la vancomicina, penicilina y al metronidazol. Por lo anterior se recomienda el uso del metronidazol a una dosis



de 500 mg dos veces al día, durante siete días, tomando en cuenta el posible sinergismo entre *Gardnerella vaginalis* y anaerobios. (13, 20, 40)

#### PRONOSTICO

Si la detección de la vaginosis bacteriana se realiza oportunamente y se indica el tratamiento adecuado; este es efectivo por arriba de un 95%. (21) Aunque este padecimiento no es de mucha gravedad, se sabe que *Gardnerella vaginalis* se ha aislado en la septicemia neonatal, endometritis, septicemia postparto, e infecciones de vías urinarias; por lo que su potencial como patógeno oportunista puede ser muy alto, sobre todo considerando su frecuente asociación con los anaerobios. (8, 20, 34)

## HIPOTESIS

- SI EL METODO SIMPLIFICADO PROPUESTO NOS PERMITE DETECTAR POSITIVIDAD DE MICROORGANISMOS CUANDO REALMENTE EXISTE LA INFECCION ASI COMO NEGATIVIDAD CUANDO NO EXISTA PATOLOGIA, EN MAS DEL 90%, ENTONCES TENDREMOS UN METODO DIAGNOSTICO CLINICO PARA VAGINOSIS BACTERIANA DE BAJO COSTO ACCESIBLE PARA EL PRIMER NIVEL DE ATENCION MEDICA, CON UNA CONFIABILIDAD ADECUADA CIENTIFICAMENTE DEMOSTRADA.

- EL VALOR PREDICTIVO PARA CADA CRITERIO PROPUESTO POR AMSEL PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA SERA PROPORCIONALMENTE DIFERENTE, SI SE ANALIZA EN FORMA AISLADA.

- EL VALOR PREDICTIVO PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA SERA PROPORCIONALMENTE SIMILAR, AL ANALIZAR LA ASOCIACION DE LAS CELULAS GUIA CON LOS DEMAS CRITERIOS.

- LA POTENCIA DIAGNOSTICA DE LOS CRITERIOS DE AMSEL PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA ES SUPERIOR AL 95% SIEMPRE Y CUANDO UNO DE ELLOS SEA CELULAS GUIA

- EL VALOR PREDICTIVO PARA EL FROTIS DE GRAM PROPUESTO POR SPIEGEL PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA ES SUPERIOR AL 95%

## OBJETIVOS

DETERMINAR LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE UN METODO SIMPLIFICADO PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA UTILIZANDO COMO REFERENCIA EL METODO DE CULTIVO TRADICIONAL.

ESTABLECER LA CONFIABILIDAD DIAGNOSTICA Y EL VALOR PREDICTIVO DE LOS CRITERIOS DE AMSEL Y DEL FROTIS DE GRAM PROPUESTO POR SPIEGEL PARA EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA

DETERMINAR LA FRECUENCIA DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS EN PACIENTES CON VAGINOSIS BACTERIANA.

DETERMINAR LA RELACION DE MICROORGANISMOS ANAEROBIOS CON Gardnerella vaginalis EN LA ETIOLOGIA DE VAGINOSIS BACTERIANA.

# MATERIAL Y METODOS



## MATERIAL Y METODOS

### TIPO DE ESTUDIO

La investigación se realizó de acuerdo con un diseño observacional, prospectivo, transversal y descriptivo.<sup>(43)</sup>

### POBLACION

Se estudiaron 135 muestras de secreción cervicovaginal, referidas del Centro de Salud "Portales" de la Secretaría de Salud en la Ciudad de México. Se incluyeron pacientes sintomáticas y asintomáticas conforme a los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

### CRITERIOS DE INCLUSION

135 muestras de pacientes en edad reproductiva de 15-45 años de edad con sintomatología cervicovaginal como

leucorrea y/o dos de los siguientes signos y síntomas prurito, disuria, dispareunia, sensación urente vaginal, sangrado al contacto. Sin tratamiento local y/o sistémico para problemas bacterianos en los últimos 15 días antes de la toma de la muestra.

135 muestras de pacientes en edad reproductiva de 15-45 años de edad sin sintomatología cervicovaginal por lo menos en los últimos tres meses antes de la toma de la muestra y sin tratamiento local y/o sistémico para problemas bacterianos en los últimos 15 días antes del examen.

#### CRITERIOS DE EXCLUSION

Pacientes núbiles (himen íntegro), menores de 15 años y mayores de 45 años, embarazadas que cursen el primero y/o tercer trimestre de gestación, personas que hubiesen ingerido tratamiento para problemas bacterianos de cualquier índole en los últimos 15 días antes del examen.

## RECURSOS

NOMBRE	ESPECIFICACIONES
CAJAS DE PETRI	DESECHABLES
TUBOS DE ENSAYE	18x100
PORTAOBJETOS	2 CAJAS
CUBREOBJETOS	2 CAJAS
MATRACES ERLLENMEYER	1000 ml
PIPETAS GRADUADAS	5 ml
PIPETAS PASTEUR	
ESEJOS VAGINALES	DIF. TAMAÑOS
ASAS BACTERIOLOGICAS	
MECHEROS	BUNSEN Y FISHER
GRADILLAS	METALICAS
HISOPDS	ESTERILES
GUANTES	ESTERILES
ALGODON	UN PAQUETE
MASKIN TAPE	UN ROLLO
GASA	UN PAQUETE

NOMBRE	ESPECIFICACIONES
VELAS	
TIJERAS	
MARCADOR NEGRO	
LAPIZ DIAMANTE	
FRASCO GRANDE	DE VIDRIO PARA ANAEROBIOSIS PARCIAL

#### EQUIPO

NOMBRE	ESPECIFICACIONES
AUTOCLAVE	EQUIPAR S.A.
INCUBADORA	ROSSA MODELO EC
BALANZA ANALITICA	METTLER H80
MICROSCOPIO	CARL ZEISS
JARRA DE ANAEROBIOSIS	GAS PACK SYSTEM BBL



**REACTIVO**

<b>NOMBRE</b>	<b>ESPECIFICACIONES</b>
HIDROXIDO DE POTASIO	10%
SOLUCION SALINA	0.85%
PAPEL pH	MEDITEST
CRISTAL VIOLETA	SIGMA S.A.
LUGOL	SIGMA S.A.
ALCOHOL ETILICO	LAB. LAITZ
ACETONA	SIGMA S.A.
SAFRANINA	SIGMA S.A.
FUCSINA BASICA	S.S.A. G.G.B. Y R.
NINIHDRINA	MERCK
PEROXIDO DE HIDROGENO	MERCK
HIPURATO DE SODIO	SIGMA S.A.
PEPTONA	MERCK
BASE AGAR COLUMBIA	MERCK
BASE AGAR SANGRE	MERCK
SANGRE DE CARNERO	DESFIBRINADA Y ESTERIL

NOMBRE	ESPECIFICACIONES
SANGRE HUMANA	TIPO "O" Rh +
SISTEMA GENERADOR DE ANAEROBIOSIS	ANAEROBIC SYSTEM
TWEEN	BBL
ACIDO NALIDIXICO	80
KETOCONAZOL	COMERCIAL
DISCOS DE OXIDASA	COMERCIAL
	BIGAUX

## TECNICAS

Las muestras de los exudados vaginales fueron tomadas directamente en el consultorio médico, posteriormente se aplicaron los métodos siguientes:

A) Método de Referencia: Cultivo de exudado vaginal "tradicional"

B) Método "Simplificado": Exploración física, medición del pH, prueba de KOH, un frotis en fresco y dos teñidos.

### TOMA DE MUESTRA

La paciente se lleva a la mesa de exploración y se coloca en posición ginecológica, se introduce a través del introito vaginal un espejo estéril bi-valvo seco, no lubricado. Se toman con tres hisopos estériles, introduciendolos simultaneamente, muestras del fondo de saco y del orificio externo del canal cervical, mediante movimientos circulares favoreciendo así la salida de secreciones de las glándulas endocervicales.

## METODO A

### Medición del pH

Se mide el pH vaginal mediante una tira para medición de pH, colocando en ella una gota de exudado vaginal.

### Prueba de aminas

Se realiza colocando una gota de secreción vaginal en un portaobjetos, para luego mezclarla con una gota de hidróxido de potasio al 10%, el resultado es positivo cuando aparece un olor característico a pescado.

### Preparación en fresco

Un primer hisopo se sumerge y homogeniza en un tubo con solución salina estéril, se enjuaga contra las paredes, se coloca parte del material así suspendido en un portaobjetos al que se le coloca un cubreobjetos, para observar microscópicamente a 100X, 400X e inmersión.

### Tinción

Con un segundo hisopo se realizan un frotis en un

portaobjetos, presionando suavemente el hisopo sobre la superficie de manera que no se destruyan las células; se fija al calor y se tiñe por el método de Gram.

### Cultivos

Con el tercer hisopo se siembra en los siguientes medios: Agar Columbia Sangre Humana al 5% (HB) y Agar Chocolate (ACh).

La siembra en HB y ACh, se realiza descargando en un solo lado de la caja mediante rotación del hisopo sobre la superficie del medio y después extendiendo el inóculo con una asa en todo el medio.

Las placas de HB se incuban a temperatura de 37°C por 48 horas en una atmósfera de CO<sub>2</sub> al 10% aproximadamente, lográndose colocando las placas en un recipiente que contenga una vela encendida y se encuentre cerrado herméticamente. Si no se observa crecimiento después de ese tiempo, se deja otras 24 horas.

Si al observar el medio de HB mediante una lupa e iluminación oblicua a la superficie del medio se encuentran

colonias diminutas como puntos, incoloras, transparentes y rodeadas de una zona clara de hemólisis, de ellas se realiza un frotis aplicando la tinción de Gram para demostrar la presencia de bacilos gram negativos y en ocasiones gram variables; realizarles las reacciones de catalasa, oxidasa y la prueba de hidrólisis del hipurato, para la identificación de Gardnerella vaginalis.

El medio ACh se incuba durante tres días en atmósfera húmeda de CO<sub>2</sub> total; lograda al colocar en una jarra para anaerobiosis un sistema generador de CO<sub>2</sub>. Si se encuentra crecimiento de colonias pequeñas de 1-3 mm con bordes enteros, translúcidos, convexas y lisas, se les hace la prueba de oxidasa y tinción de Gram para mostrar bacilos curvos gram negativo. Si no hay crecimiento dejar en incubación otras 48 horas.

#### METODO B

1.- Anotación de las características físicas de los genitales externos, epitelio vaginal y de las secreciones.

2.- Medición del pH de la secreción vaginal mediante

tira de pH, igual al método A.

3.- Realizar prueba de Aminas, utilizando KOH al 10%, igual al método A.

4.- Un primer hisopo se homogeniza en solución salina al 0.85%, se enjuaga contra la pared y se coloca una gota del material en un portaobjetos, colocar una lámina cubreobjetos y observar al microscopio a 100X, 400X e inmersión.

5.- Con un segundo hisopo se preparan dos frotis en diferentes portaobjetos, presionando suavemente el hisopo sobre la superficie de manera que no se destruyan las células, se fija al calor y se tiñe uno por la tinción de Gram y otro por el método de Gram modificado de Kopeloff se observa al microscopio a inmersión y se verifica la presencia de diferentes formas microscópicas.

6.- Cuantificar los elementos bacterianos del frotis de secreción teñida por Gram siguiendo el sistema propuesto por Kellogg:

Elementos por campo	Cuantificación
menos de uno	1+
1-5	2+
6-30	3+
más de 30	4+

## DISEÑO ESTADÍSTICO

Las pruebas estadísticas que se presentan a continuación, permiten demostrar la confiabilidad diagnóstica de los datos clínicos y exámenes de laboratorio, con lo cual es posible conocer con exactitud su validez para el diagnóstico clínico y médico.'''

De esta manera, es importante el manejo adecuado del conocimiento teórico para su interpretación correcta. (FIGURAS 7 Y 8).

**SENSIBILIDAD:** Probabilidad de que la prueba resulte positiva cuando el paciente realmente tiene la enfermedad. Se representa como S.

**ESPECIFICIDAD:** Probabilidad de que la prueba sea negativa cuando el paciente realmente no tiene la enfermedad. Se representa como E.

**VALOR PREDICTIVO POSITIVO:** Probabilidad de que el paciente realmente tenga el padecimiento, representado estadísticamente como VPP.

**VALOR PREDICTIVO NEGATIVO:** Probabilidad de que el



el paciente no tenga el padecimiento, representado como VPN.

INDICE DE FALSOS POSITIVOS (IFP): Probabilidad de tener la prueba positiva en ausencia del padecimiento.

INDICE DE FALSOS NEGATIVOS (IFN): Probabilidad de tener la prueba negativa en presencia del padecimiento.

POTENCIA DIAGNOSTICA (PD): Se le conoce como la relación existente entre los pacientes realmente sanos y enfermos respecto a el total de la población en estudio. Es sinónimo de confiabilidad.

El estadigráfo de distribución ji-cuadrada permite conocer si dos criterios de clasificación, cuando son aplicados a las mismas unidades elementales, son independientes o dependientes entre si.

La clasificación en dos criterios de los mismos individuos se hace en la llamadas tablas de contingencia, en la cual "F" filas representan los niveles de un criterio y "C" columnas representan los niveles del otro criterio de clasificación.

El estadigráfo de prueba viene dado por:

$$X^2 = \sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^f \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}} \quad \text{con } (C-1)(F-1)$$

$X^2 = \text{ji-cuadrada.}$

$C = \text{columnas.}$

$O_{ij} = \text{frecuencias observadas.}$

$F = \text{filas.}$

$E_{ij} = \text{frecuencias esperadas.}$

$(C-1)(F-1) = \text{grados de}$

libertad.

Las frecuencias esperadas  $E_{ij}$  se obtienen de la siguiente manera:

$$E_{ij} = \frac{(N_{.j})(N_{i.})}{N}$$

Por lo tanto las hipótesis propuestas son las siguientes:

Hipotesis nula ( $H_0$ ): Los dos criterios de clasificación son independientes.

Hipotesis alterna ( $H_a$ ): Los dos criterios de clasificación son dependientes.

Si  $X^2$  calculada  $< X^2$  tablas se acepta  $H_0$ .

FIGURA 7

TABLA DE CONTINGENCIA ESTADISTICA  
TEOREMA DE BAYES

PRUEBA DE DIAGNOSTICO	PRUEBA DE REFERENCIA		
	ENFERMOS	SANOS	TOTAL
+	A	B	A + B
-	C	D	C + D
TOTAL	A + C	B + D	A + B + C + D

A = NUMERO DE CASOS VERDADEROS POSITIVOS

B = NUMERO DE CASOS FALSOS POSITIVOS

C = NUMERO DE CASOS FALSOS NEGATIVOS

D = NUMERO DE CASOS VERDADEROS NEGATIVOS

FUENTE: MENDEZ, I.R. 1986

FIG. 8

FORMULAS ESTADISTICAS APLICADAS

SENSIBILIDAD Y  
ESPECIFICIDAD



$$S = A/A+C$$

$$E = D/B+D$$

VALOR  
PREDICTIVO



$$VPP = A/A+B$$

$$VPN = D/C+D$$

INDICE DE FALSOS



$$IFP = B/A+B$$

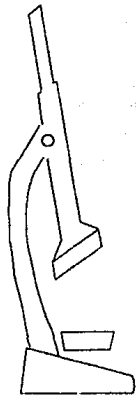
$$IFN = C/C+D$$

CONFIABILIDAD  
DIAGNOSTICA



$$PD = (A+D)/(A+B+C+D)$$

VPP = VALOR PREDICTIVO POSITIVO    VPN = VALOR PREDICTIVO NEGATIVO    IFP = INDICE DE FALSOS POSITIVOS    IFN = INDICE DE FALSOS NEGATIVOS  
A = VERDADEROS POSITIVOS    B = MALOS POSITIVOS    C = MALOS NEGATIVOS    D = VERDADEROS NEGATIVOS    PD = POTENCIA DIAGNOSTICA



# ***RESULTADOS***

TABLA I

**SENSIBILIDAD DIAGNOSTICA DEL METODO SIMPLIFICADO  
PARA Gardnerella vaginalis.**

METODO	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	POTENCIA DIAGNOSTICA
TRADICIONAL*	81 100%	54 100%	80%
SIMPLIFICADO	54 67%	54 100%	

\* SE ASUME UN 100% DE CONFIABILIDAD POR SER EL METODO DE REFERENCIA

TABLA II

CONFIABILIDAD DIAGNOSTICA PARA LOS CRITERIOS DE AMSEL  
Y PARA EL FROTIS DE GRAM PROPUESTO POR SPIEGEL.

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %						
	S	E	Vp +	Vp -	PD	IFN	IFP
COLPORREA	30	94	89	47	56	53	11
pH	99	2	60	50	60	50	40
KOH	49	96	95	56	68	44	5
CELULAS GUIA EN FRESCO	90	85	90	85	88	15	10
CELULAS GUIA TINCION DE GRAM	94	89	93	91	92	9	7

S=SENSIBILIDAD E=ESPECIFICIDAD Vp+VALOR PREDICTIVO POSITIVO Vp-VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD=POTENCIA DIAGNOSTICA IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS

TABLA III

## POTENCIA DIAGNOSTICA DE LA ASOCIACION DE DOS CRITERIOS DE AMSEL.

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp +	Vp -	PD	IFN	IFP	X <sup>2</sup>
CELULAS GUIA COLPORREA	22	98	95	46	53	54	5	P<0.005
CELULAS GUIA pH	89	85	90	84	87	16	10	P<0.005
CELULAS GUIA KOH	46	96	95	54	66	46	5	P<0.005
pH COLPORREA	28	94	88	47	55	53	12	P<0.005
KOH COLPORREA	9	100	100	42	45	58	0	P>0.005
pH KOH	48	96	95	55	67	45	5	P<0.005

S=SENSIBILIDAD E=ESPECIFICIDAD Vp+=VALOR PREDICTIVO POSITIVO Vp-=VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD=POTENCIA DIAGNOSTICA IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS



TABLA IV

POTENCIA DIAGNOSTICA DE LA ASOCIACION  
DE TRES CRITERIOS DE AMSEL

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp+	Vp-	PD	IFN	IFP	$\chi^2$
CELULAS GUIA KOH COLPORREA	9	100	100	42	45	58	0	P>0.005
CELULAS GUIA KOH pH	46	96	95	54	66	46	5	P<0.005
COLPORREA pH KOH	10	100	100	43	46	57	0	P>0.005
COLPORREA pH CELULAS GUIA	22	98	95	46	53	54	5	P<0.005

S\*SENSIBILIDAD    E\*ESPECIFICIDAD    Vp+\*VALOR PREDICTIVO POSITIVO    Vp-\*VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD\*POTENCIA DIAGNOSTICA    IFN\*INDICE DE FALSOS NEGATIVOS    IFP\*INDICE DE FALSOS POSITIVOS

TABLA V

POTENCIA DIAGNOSTICA DE LA ASOCIACION  
DE LOS CUATRO CRITERIOS DE AMSEL

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp+	Vp-	PD	IFN	IFP	$\chi^2$
CELULAS GUIA EN FRESCO								
KOH	9	100	100	42	45	58	0	P>0.005
COLPORREA								
pH								

S=SENSIBILIDAD    E=ESPECIFICIDAD    Vp+=VALOR PREDICTIVO POSITIVO    Vp-=VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD=POTENCIA DIAGNOSTICA    IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS    IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS

TABLA VI

POTENCIA DIAGNOSTICA DEL FROTIS DE GRAM PARA CELULAS GUIA-  
ASOCIADO A LOS DEMAS CRITERIOS DE AMSEL.

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp+	Vp-	PD	IFN	IFP	X <sup>2</sup>
pH	94	89	93	91	92	9	7	P<0.005
KOH	48	96	95	55	67	45	5	P<0.005
COLPORREA	28	100	100	48	57	51	0	P<0.005

• CRITERIO PROPUESTO POR SPIEGEL

S=SENSIBILIDAD    E=ESPECIFICIDAD    Vp+=VALOR PREDICTIVO POSITIVO    Vp-=VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD=POENCIA DIAGNOSTICA    IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS    IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS

**TABLA VII**

**POTENCIA DIAGNOSTICA DEL FROTIS DE GRAM PARA CELULAS GUIA-  
ASOCIADO A DOS CRITERIOS DE AMSEL.**

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp+	Vp-	PD	IFN	IFP	$\chi^2$
pH KOH	49	96	95	56	68	44	5	P<0.005
KOH COLPORREA	10	100	100	43	46	57	0	P>0.005
pH COLPORREA	28	100	100	48	57	52	0	P<0.005

• CRITERIO PROPUESTO POR SPIEGEL

S=SENSIBILIDAD    E=ESPECIFICIDAD    Vp+=VALOR PREDICTIVO POSITIVO    Vp-=VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
 PD=POTENCIA DIAGNOSTICA    IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS    IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS

TABLA VIII

POTENCIA DIAGNOSTICA DE LOS CRITERIOS DE AMSEL  
CON EL FROTIS DE GRAM PARA CELULAS GUIA\*

CRITERIOS	INDICADORES DE CONFIABILIDAD %							
	S	E	Vp+	Vp-	PD	IFN	IFP	$\chi^2$
CRITERIOS DE AMSEL CON EL FROTIS DE GRAM PARA CELULAS GUIA*	9	100	100	42	45	58	0	$P > 0.005$

\* CRITERIO PROPUESTO POR SPIEGEL

S=SENSIBILIDAD    E=ESPECIFICIDAD    Vp+=VALOR PREDICTIVO POSITIVO    Vp-=VALOR PREDICTIVO NEGATIVO  
PD=POTENCIA DIAGNOSTICA    IFN=INDICE DE FALSOS NEGATIVOS    IFP=INDICE DE FALSOS POSITIVOS

## ANALISIS Y DISCUSION DE RESULTADOS

Con el fin de que los resultados obtenidos sean abordados de manera extensa y minuciosa, en el presente trabajo, se llevo a cabo un análisis de cada una de las tablas, intengrando los resultados mas sobresalientes para poder establecer las conclusiones.

### CONFIABILIDAD DIAGNOSTICA

De manera general, el metodo de referencia empleado, reportó 81 muestras positivas de las 135 muestras sometidas a estudio, lo cual constituye 81 pacientes con cultivo positivo a Garnerella vaginalis y 54 sin esta característica.

Estos resultados fueron designados con un 100% de sensibilidad y especificidad en función de que este seria nuestro examen de referencia para someter a prueba el método simplificado propuesto.

Dadas las consideraciones anteriores se detectó para el metodo simplificado una sensibilidad del 67% y una especificidad del 100%, constituyendo una potencia

diagnóstica del 80%, la cual se puede considerar como aceptable, (TABLA I), sin embargo la capacidad que tiene el método de detectar a los enfermos (sensibilidad) es muy baja esto se puede explicar debido a que para diagnosticar vaginosis bacteriana se tomaron como base para el método simplificado los criterios de Amsel, es decir 3 de los 4 criterios propuestos dandoles el mismo valor proporcional, lo cual representó una limitante, considerando que la capacidad diagnóstica individual de dichos criterios es proporcionalmente diferente, de acuerdo a la experiencia acumulada en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la ENEP Zaragoza. Por tal motivo se evaluó la confiabilidad diagnóstica de los criterios de Amsel por separado y del frotis de Gram para las células guía propuesto por Spiegel; (TABLA II) encontrando para la colporeea una sensibilidad del 30% y una especificidad del 94%, es decir que la ausencia de este signo permite aseverar de manera aceptable que los pacientes no tienen dicha enfermedad, sin embargo no es posible detectar a los que sí tienen el padecimiento debido a que la presencia y las características de la

colporrea no se asocian con mucha frecuencia con este padecimiento.

Para el valor de pH que debe ser mayor a 4.5 se encontró que este es totalmente inespecífico (2%); aunque la sensibilidad es alta (99%) este valor resulta engañoso porque de las 135 muestras estudiadas 133 tenían el pH por arriba del 4.5 aunque estas no presentaran ninguna patología cervicovaginal, lo cual concuerda con lo que varios autores comentan<sup>(11)</sup> que la variación del pH puede ser causada por múltiples factores, incluyendo la etapa del ciclo menstrual en que se realizó la toma de la muestra; por lo tanto este criterio no da ninguna orientación hacia el diagnóstico, tal como lo muestra el porcentaje tal alto del índice de falsos negativos.

Para la prueba de KOH se encontró un valor predictivo positivo del 95% así como una especificidad igualmente idónea, pero una sensibilidad solamente del 49% debido a esta característica no se presenta frecuentemente estos datos concuerdan con los obtenidos por Erkkola en 1983<sup>(12)</sup> donde clínicamente es capaz de dar resultados



positivos correctos en un rango del 86% al 98%; sin embargo la sensibilidad de la prueba sólo fue del 66%. Al respecto es importante recordar que el índice de falsos negativos es inversamente proporcional a la sensibilidad. En este sentido, el KOH pudiera ser un signo que permita el escrutinio para la vaginosis bacteriana de los pacientes positivos con Gardnerella vaginalis, es decir, aunque hay autores,<sup>133</sup> que señalan a la presencia de Mobiluncus sp como un dato confiable para el diagnóstico de vaginosis bacteriana; en el presente estudio dicha prueba resultó ser de muy poca utilidad, por tal motivo se podría sugerir que la vaginosis bacteriana es consecuencia de la asociación de Gardnerella vaginalis con las bacterias anaerobias, cuya participación de Mobiluncus sp es mucho menos importante a lo referido por algunos autores<sup>133</sup>, no obstante, es indispensable realizar la investigación correspondiente, para poder aseverar con certeza lo antes señalado.

Por otro lado para la observación de las células guía en fresco se encontró una sensibilidad y especificidad aceptables, de 90% y 85% respectivamente; para la

observacion de las celulas guia por tincion de Gram estos valores se elevaron hasta un 94% de sensibilidad y un 89% de especificidad; siendo ligeramente mas altos a los encontrados en 1989 por Eschenbach (13) donde reporto una sensibilidad de 93% y una especificidad del 85%.

Por lo tanto en orden decreciente, la confiabilidad diagnóstica de los criterios analizados permite catalogar como la prueba individual de mayor valor diagnóstico, células guía teñidas por Gram o bien observadas en fresco, en seguida positividad a KOH y la colporrea descartando el pH ya que su valor diagnostico es dudoso por su baja especificidad y sus indices de falsos positivos y negativos tan altos.

#### CRITERIOS DE AMSEL ASOCIADOS

Se analizó la asociación de los criterios de amsel y de frotis de Gram para celulas guia para conocer la confiabilidad diagnostica de estos, además de determinar si existe o no dependencia estadísticamente significativa entre ellos.

La tabla III muestra el valor predictivo positivo de la asociación de dos criterios de Amsel en donde se obtuvieron para células guía-colporrea un 95%, para células guía-pH un 90%, para células guía-KOH un 95%, para pH-colporrea un 88%, para pH-KOH un 95% y para KOH-colporrea un 100%. Al respecto, es importante señalar que la dependencia de la prueba en relación a la positividad del diagnóstico, resulto ser estadísticamente significativa mediante la aplicación de  $\chi^2$  en todas las asociaciones, excepto para KOH-colporrea. De lo anterior se puede observar que todos los valores predictivos positivos fueron altos, es decir que la probabilidad de que el paciente tenga la enfermedad utilizando dos criterios es muy alta, lo cual resulta de mucha utilidad para el diagnóstico clínico.

Sin embargo la potencia diagnóstica es baja para la mayoría de la asociaciones debido a la baja sensibilidad en todos los casos, a excepción de la asociación de células guía-pH que tiene un valor del 87% lo cual resulta desorientador debido a que los datos de pH en su gran mayoría son positivos, es decir mayores a 4.5, provocando

una sensibilidad alta pero un tanto ficticia.

Al asociar tres de los cuatro criterios de Amsel se obtuvieron datos del valor predictivo positivo que van del 95% al 100% lo que quiere decir que cuando la paciente presenta tres de las cuatro características tiene vaginosis bacteriana, pero encontramos que la sensibilidad es muy baja ya que no es muy frecuente que se asocien los tres criterios por lo tanto la potencia diagnóstica también resulta afectada y por consiguiente existe una baja confiabilidad diagnóstica. (TABLA IV)

El identificar cuatro criterios de Amsel en las pacientes es muy específico (100%) para el padecimiento pero muy poco frecuente de ahí que solamente se encuentre una confiabilidad diagnóstica del 45% además de ser estadísticamente independientes. (TABLA V)

#### FROTIS DE GRAM PARA CELULAS GUIA ASOCIADO A LOS CRITERIOS DE AMSEL

En la tabla II se presentó que el frotis de Gram puede ser un complemento para el diagnóstico de vaginosis bacteriana por lo que asoció con los criterios de Amsel

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

para obtener su confiabilidad diagnóstica.

En la tabla VI se puede observar que volvemos a obtener valores altos en lo que respecta al valor predictivo positivo, pero una potencia diagnóstica baja y el mismo dato desorientador respecto al valor de pH por lo que sería conveniente descartarlo o tomarlo con reserva para establecer un diagnóstico.

Al observar los resultados de las tablas VII y VIII referentes a la asociación de tres y cuatro criterios, se puede comparar con los obtenidos en la IV y V, de lo cual se puede resaltar que los valores en todas las asociaciones son altos para el valor predictivo positivo y una especificidad practicamente del 100% pero poco sensibles por la poca frecuencia en su presentación, y por lo tanto una baja confiabilidad diagnóstica.

#### Mobiluncus sp

Segun datos bibliográficos, en cuanto a la observación de Mobiluncus sp. en una preparacion en fresco, se sabe que es bastante especifica, aproximadamente un 98%<sup>(29)</sup> es decir cuando se detecta a este microorganismo resulta ser

un excelente indicador de vaginosis bacteriana pero es difícil de visualizar en la mayoría de las pacientes por lo que resulta poco sensible.

Por todo lo anterior podemos afirmar que la presencia de células guía en una muestra indica la presencia de Garnerella vaginalis, pero no necesariamente vaginosis bacteriana. Por otro lado, aunque la asociación de dos criterios tiene una potencia diagnóstica baja su valor predictivo y especificidad son adecuados, asimismo, cuando se asocian la presencia de células guía en fresco o por tinción de Gram con la prueba positiva de KOH o con las características de la colporeea, es decir dos de tres criterios siempre y cuando uno de ellos sea la presencia de células guía, se incrementa la sensibilidad del método hasta un 80% y la potencia diagnóstica alcanza un 88% por lo que se obtiene una confiabilidad diagnóstica de mucha mayor aceptación.

En general los resultados del presente estudio, nos permiten reflexionar respecto a la falta de acuerdo en relación los criterios y clasificación diagnóstica de la

"vaginitis inespecifica" o " vaginosis bacteriana", ya que el agente etiológico propuesto inicialmente fué Gardnerella vaginalis, cuya taxonomía fué modificada en tres ocasiones por las características biofísicas identificadas en la bacteria<sup>24, 25</sup>. En este sentido el padecimiento fue denominado originalmente como "vaginitis inespecifica", del cual se propuso su modificación en 1983 por el de "vaginosis bacteriana"<sup>30</sup>, señalando como agente etiológico la asociación de Gardnerella vaginalis con microorganismos anaerobios, resaltando la participación de Mobiluncus sp; en esta patología se refiere que no existe un proceso inflamatorio, ya que la membrana basal del epitelio cervicovaginal no se ve afectado<sup>31</sup>, es decir no existe el proceso fisiopatológico que justifique la denominación de "vaginitis"; por tal motivo se propone que Gardnerella vaginalis se aloja intracelularmente en las células descamadas del epitelio cervicovaginal, lo que permite identificar las denominadas células guía para su diagnóstico, asimismo la presencia de bacterias anaerobias se ve favorecida por la existencia de Gardnerella

vaginalis, propiciando la aparición de colporeea fétida debido a la producción de putrescina y cadaverina por las mismas bacterias anaerobias (9) FIGURA 9.

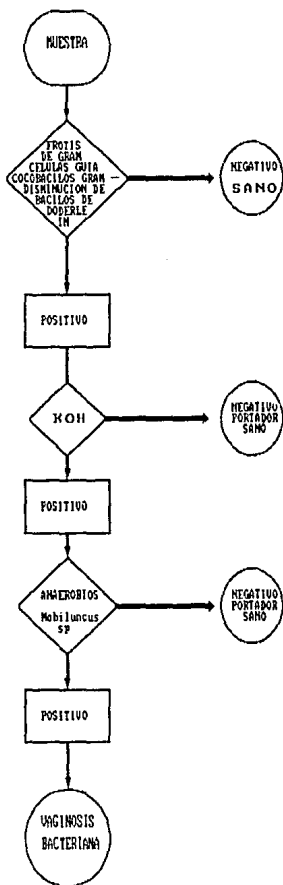
De lo anterior podemos aseverar que el diagnóstico de Gardnerella vaginalis se puede realizar mediante el cultivo cervicovaginal o bien con la opción simplificada de la identificación de células guía en fresco y/o con tinción, es decir, la presencia de este microorganismo en pacientes asintomáticas no es suficiente para catalogarla con el diagnóstico de "vaginosis bacteriana" por ello es conveniente aclarar que no se deben aplicar los criterios de Amsel en estas pacientes, ya que el índice de falsos negativos se incrementara tal como se demuestra en nuestro estudio. Sin embargo, se debe considerar como un factor de riesgo para la "vaginosis bacteriana", con la posibilidad de desencadenar una enfermedad pélvica inflamatoria, de allí que se justifique la indicación terapéutica específica con metronidazol (FIGURA 10).

Por otro lado, en el caso de las pacientes sintomáticas, en las que existe la presencia de Gardnerella



FIG. 10

### CRITERIOS PARA ESTABLECER EL DIAGNOSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA



vaginalis asociada con anaerobios, la utilidad de los criterios de Amsel de acuerdo con lo señalado con Thomason en 1990 es indiscutible, sin embargo la importancia de la identificación de Mobiluncus sp en el frotis en fresco, resulto ser de una confiabilidad diagnóstica muy pobre, por tal motivo, es importante desarrollar una línea de investigación que permita determinar la importancia de los demás microorganismos anaerobios involucrados.

En terminos generales, los resultados obtenidos son de mucha utilidad en relación al valor predictivo positivo y especificidad, no así en lo concerniente a sensibilidad y potencia diagnóstica, ya que se aplicaron los criterios de Amsel a todas las pacientes, aun en aquellas que no tenían "vaginosis bacteriana", debido a que la identificación de Mobiluncus sp no funciono como prueba de escrutinio, además de que es indispensable incluir el cultivo de anaerobios, para que funcione como examen de referencia.

#### TRASCENDENCIA CIENTIFICA

Es fundamental resaltar la importancia del diagnóstico de vaginosis bacteriana ya que es un padecimiento muy común entre la población femenina.

La aceptable confiabilidad diagnóstica encontrada para el método simplificado permite sugerir su aplicación en los laboratorios clínicos de hospitales rurales y suburbanos, e incluso en los consultorios médicos ya que el equipo necesario para llevarlo a cabo es mínimo. Asimismo nos insertamos en la estrategia de Atención Primaria a la Salud que establece la Secretaría de Salud, en relación a la utilización de técnicas de carácter simplificado científicamente fundamentados através de estudio de sensibilidad y especificidad diagnóstica.

#### TRANSCENDENCIA SOCIAL

El procedimiento diagnóstico para la vaginosis bacteriana contempla la elaboración de una historia clínica completa y minuciosa con la cual se busca delimitar un diagnóstico presuntivo, el cual no siempre es posible, debido a que la sintomatología puede ser variada, inespecífica o totalmente asintomática. Por lo que es indispensable la indicación de los exámenes de laboratorio.

En donde en primer lugar se realiza una exploración física que contempla el aspecto de vulva, vagina y cervix

para continuar midiendo el pH y tal vez realizar la prueba de aminas. Finalmente se realiza la siembra de la muestra en diferentes medios de cultivo para tener un diagnóstico en un lapso de 1 a 2 semanas.

Por lo tanto dada la potencia diagnóstica obtenida para el método simplificado, se permite sugerir su posible empleo como auxiliar en el diagnóstico de vaginosis bacteriana para el primer nivel de atención médica así como en hospitales suburbanos. Este estudio debe ser considerado como una contribución en la prevención secundaria para el diagnóstico precoz y tratamiento oportuno de la vaginosis bacteriana, es decir interrumpir la fase patogénica inicial para evitar que la historia natural de la enfermedad, evolucione hasta enfermedad pélvica inflamatoria, con los peligros que implica este padecimiento.

#### TRASCENDENCIA ECONOMICA

La utilización de técnicas accesibles y de bajo costo para el laboratorio de análisis clínicos constituye un factor determinante para lograr la máxima eficiencia y eficacia para el diagnóstico de los problemas de salud que

se atienden en el primer nivel de atención médica.

Por lo anterior, el beneficio económico y práctico que podría brindar el uso extensivo del método simplificado para el diagnóstico de vaginosis bacteriana, puede justificarse por su bajo costo y sencilla aplicación.

***ANEXO***



La identificación de células guía, tiene una confiabilidad diagnóstica adecuada como prueba de escrutinio, para el diagnóstico de vaginosis bacteriana.

Queda comprobado que la confiabilidad diagnóstica para los criterios de Amsel es proporcionalmente diferente, en su análisis individual.

El frotis de Gram para células guía propuesto por Spiegel es un buen complemento para el diagnóstico de vaginosis bacteriana por su alta sensibilidad y especificidad.

Es necesario realizar un estudio que contemple cultivo de microorganismos anaerobios para poder valorar sensibilidad, especificidad y potencia diagnóstica de los criterios de Amsel, para la vaginosis bacteriana.

La mejor alternativa para el diagnóstico de vaginosis bacteriana es encontrar células guía y prueba positiva de KOH.

Sera necesario realizar un estudio que contemple un mayor número de muestras para la búsqueda específica de microorganismos anaerobios en asociación con G.vaginalis.

## ANEXO 1

### MEDIOS DE CULTIVO

#### Agar Columbia Sangre Humana al 5% (HB)

Este medio es en bicapa y se prepara de la siguiente manera: para la primera capa pesar 12.8 g de base Agar Columbia y agregar 300 ml de agua destilada, hervir y esterizar a 1.5 lb/m<sup>2</sup> de presión por 15 min.

Para la segunda capa colocar 25.5 g de base Agar Columbia y 6 g de Peptona, disolver con 600 ml de agua destilada. Hervir y esterilizar bajo las mismas condiciones.

Enfriar el matraz que contiene el medio de la primera capa hasta aproximadamente 45°C vaciar una capa muy delgada en cajas de petri esteriles dejandolas solidificar. El segundo matraz tambien se entra al chorro del agua (45-50°C) y se le agrega con pipetas esteriles, 6 ml de acido nalidixico a una concentracion de 15 mg/ml, 6 ml de ketoconazol a 10 mg/ml, 6 ml de tween 80 al 0.0075% y 30 ml de sangre humana (5%). Se mezclan perfectamente y se vacia



en las mismas cajas de petri encima de la primera capa.

#### Agar Chocolate (ACh)

Pesar 40 g de base Agar Sangre colocarlos en un matr az erlenmeyer y agregar 1000 ml de agua destilada, hervir para disolver la base y esterilizar a 1.5 lb/m<sup>2</sup> de presión por 15 min., se enf a el matr az (45-50°C) y adicionar 50 ml de sangre de carnero (5%), con gentil agitación, posteriormente poner al fuego y agitar constantemente hasta lizar los eritocitos sin que se formen grumos. El medio tomar  una coloración café. Vaciar a cajas de petri estériles.

## ANEXO 2

### REACTIVOS

Hidróxido de Potasio al 10%

Disolver 10 g de hidróxido de potasio en 100 ml de agua destilada.

Solución salina 0.85%

Disolver 0.85 g de cloruro de sodio (RA) en 100 ml de agua destilada.

Solución de Hipurato de Sodio

Preparar 100 ml de una solución de fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) al 0.067M y 100 ml de una solución de fosfato de sodio dibásico ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ) al 0.067M. Colocar 73.2 ml de la solución de fosfato de potasio y 26.8 ml de la solución de fosfato de sodio en un matríz erlenmeyer añadir posteriormente 1 g de hipurato de sodio. Mezclar bien y ajustar el pH a 6.4. Guardar en refrigeración.

### Solución de Ninhidrina

Disolver 3.5 g de ninhidrina en 100 ml de una mezcla de acetona-butanol (1:1). Almacenar en frasco ambar y a temperatura ambiente.

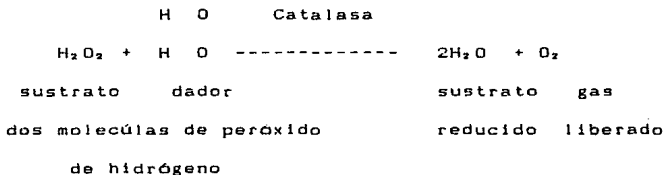
## ANEXO 3

### PRUEBAS ESPECIALES

#### Prueba de Catalasa

La descomposición del peróxido de hidrógeno se produce a través de la acción de la enzima catalasa (oxidoreductasa del peróxido de hidrógeno).

En la descomposición de  $H_2O_2$ , una molécula actúa como el sustrato y otra como un dador, da como resultado un sustrato reducido y un dador oxidado.



Se coloca una colonia en un portaobjetos limpio y se agrega una gota de peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) al 30%. Si se observa la inmediata formación de burbujas la prueba es positiva.

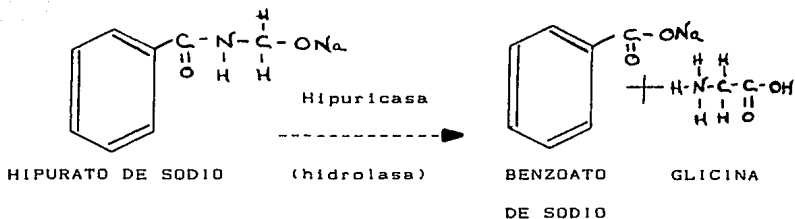
### Prueba de Oxidasa

El diclorhidrato de p-fenilendiamina es un colorante que actua como aceptor artificial de electrones, sustituyendo al oxigeno. Este colorante es incoloro es estado reducido, pero en presencia de la enzima citocromo oxidasa y oxigeno atmosférico se oxida formando azul de indofenol.

Existen comercialmente discos impregnados con diclorhidrato de N-N'-N''-N'''-tetrametil para fenilendiamina; las colonias se colocan sobre la superficie del disco, la prueba es positiva si el disco toma una coloración de violeta a negro.

### Prueba de Hidrólisis del Hipurato.

La ninhidrina es un oxidante fuerte que desamina el grupo alfa amino de la glicina liberando  $\text{NH}_3$  y  $\text{CO}_2$ . El amoniaco liberado reacciona con la ninhidrina residual dando un color púrpura.



Colocar 0.5 ml de la solución de hipurato de sodio en un tubo de ensaye, inocular con una asada de la cepa a probar. Dejar en anaerobiosis total 24 horas. Posteriormente se revela la prueba adicionando 0.2 ml de la solución de ninhidrina, al cabo de 5 min. exactamente, si la solución toma un color violeta intenso se considera como positiva; la prueba es negativa cuando esta solución queda incolora al termino de los 5 min.

## ANEXO 4

### TINCIONES

#### Tinción de Gram

a) Cubrir la preparación con cristal violeta durante 30 seg.

b) Lavar con agua

Aplicar la solución de lugol por 30 seg.

Lavar con agua

Decolorar por 30 seg. con alcohol etílico-acetona

Lavar con agua

Contrastar con safranina por 10 seg.

Lavar con agua y secar al aire.

#### Tinción de Gram Modificada por Kopeloff

Seguir la técnica de la tinción de Gram hasta el inciso e. En esta tinción el colorante de contraste es fucsina básica que se coloca por 10 seg. Lavar con agua y dejar secar al aire.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Blackwell L., Fox R., Phillips I., Barlow D. Anaerobic Vaginosis (non - specific vaginitis): clinical, microbiological, and therapeutic findings. The Lancet 1983; 17: 1379-1382.
- 2.- Bonilla F. El Cuello Uterino y sus Enfermedades. Barcelona España: JIMS, 1978.
- 3.- Charles D. Glover D. Vaginopatías Infecciosas. Mundo Médico 1986; 13: 85-92.
- 4.- Casimiro M. Terrés S. Aplicación del Valor Predictivo Positivo Total (VPPT) en la Predicción de la Infección de Vías Urinarias (IVU). Rev. Méx. Patol. Clín. 1987; 34: 203-207.
- 5.- Chen K., Amsel R., Eschenbach D., Holmes K. Biochemical Diagnosis of Vaginitis: Determination of Diamines in Vaginal Fluid. J. Infec. Dis. 1982; 145:337-345
- 6.- Chen K., Forsyth P., Buchanan T., Holmes K. Amine Content of Vaginal Fluid from Untreated and Treated Patients with Nonspecific Vaginitis. J. Clin. Invest. 1979; 63: 828-835
- 7.- Conde González C. Cervicovaginitis: una visión panorámica. Infectología 1985; 5(2): 30-31
- 8.- De la Cruz González R. Vaginitis Inespecifica y Gardnerella vaginalis. Infectología 1985; 5(1): 2
- 9.- De la Cruz González R., Calderón Jaimes E. Diagnóstico Rápido de Infecciones Cervicovaginales Infectología. 1985; 5: 115-121
- 10.- De la Cruz González R., Conde González C., Calderón Jaimes E. y Cols. Características Microbiológicas de la Vaginosis Bacteriana. Ginecología y Obstetricia de México. 1987; 55: 74-79
- 11.- Driscoll Ch. Enfermedades Transmitidas por Contacto Sexual Infectología. 1987; 8: 389-392
- 12.- Embree J., Caliando J. McCormack M. Nonspecific Vaginitis Among Women Attending A Sexually Transmitted Diseases. Clinic. Sex. Transm. Dis. 1984; 11: 81-84.



- 13.- Erkkola R., Jarvinen H., Terho P., Meurman O.  
Microbial Flora in Women Showing Symptoms of  
Nonspecific Vaginosis: Applicability of KOH Test  
for Diagnosis. Scand. J. Infect. Dis. [Suppl]  
1983; 40: 59-63
- 14.- Escapini J. Guzmán C. Detección de Bacilos Gram  
Negativos Curvos Anaerobios en Pacientes con  
Vaginosis. Obstetricia y Ginecología  
Latino-Americanas 1986; sep-oct: 320-385
- 15.- Eschenbach D. Vaginal Infection. Clinic. Obstet  
Ginecol. 1983; 26: 186-202
- 16.- Eschenbach D. Hillier S. Advances in Diagnostic  
Testing for Vaginitis and Cervicitis. J. Reprod.  
Med. [Suppl] 1989; 34: 555-564
- 17.- Fernández C., Tommasi E., Andreoli C., Cois  
Actualización Diagnóstica y Terapéutica de la  
Vaginitis. Mesa Redonda. Atención Médica. 1976;  
6(4): 10-31
- 18.- Fernández Hernández A. Frecuencia de Tricomoni-  
as y su Relación con la Vaginosis Bacteriana  
en una Población Aparentemente Sana. Tesis de  
Licenciatura. ENEP Zaragoza UNAM. México D.F. 1988.
- 19.- Fernández P., Samano A., Escamilla A., Cois. Infección  
Genital por Chlamydia trachomatis en Niñas y  
Adolescentes. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 1986;  
43(10): 595-597
- 20.- Fleury F. Adult Vaginitis. Clin. Obstet. Gynecol.  
1981; 24: 407-428
- 21.- Fleury F. The Clinical Signs and Symptoms of  
Gardnerella-associated Vaginosis. Scand J. Infect.  
Dis. [Suppl] 1983; 40: 71-72 21.
- 22.- Flores Sombrerero I. Estudio del Género Mobiluncus  
como Probable Pátogeno en la Vaginosis. Tesis de  
Licenciatura. Universidad Autónoma de Puebla.  
Puebla, Mexico 1989.

- 23.- Ganong W. Manual de Fisiología Médica. Sexta Edición. México: Editorial El Manual Moderno, 1978.
- 24.- Gardner E., Gray D. Anatomía. Segunda Edición México: Editorial Salvat, 1978.
- 25.- Gardner H. Dukes Ch. Haemophilus vaginalis Vaginitis. A Newly Defined Specific Infection Previously Classified "Nonspecific" Vaginitis. Am. J. Obst. Gynecol. 1955; 69: 962-976.
- 26.- Gardner H. "Non-Specific" Vaginitis: A Non- Entity. Scand. J. Infect. Dis. [Suppl] 1983; 40: 7-10
- 27.- Gardner H. Pathogenicity of Gardnerella vaginalis (Haemophilus vaginalis). Scand. J. Infect. Dis. [Suppl] 1983; 40: 37-40
- 28.- Gutierrez Mendoza P. Frecuencia de Aislamiento de Gardnerella vaginalis en Prostitutas y su Capacidad Adherente e Invasiva. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. 1988.
- 29.- Hamilton W. Textbook of Human Anatomy. Second Edition. The C.V. Mosby Company. Saint Louis Missouri USA. 1976.
- 30.- Hill I., Embil J. Vaginitis: Current Microbiologic and Clinical Concepts. Can. Med. Assoc. J. 1983; 134: 321-329
- 31.- Holmes K., Spiegel C., Ansel R., Eschenbach D., Chen K. Totten P. Nonspecific Vaginosis. Scand. J. Infect. Dis [Suppl] 1981; 26: 110-114
- 32.- Holst E., Skarin A., Mardh P. Anaerobic Comma-Shaped Bacteria Recovered from Human Genital Tract. A Review. Scand. J. Infect. Dis. [Suppl] 1983; 40: 23-30
- 33.- Huggins G., Preti G. Vaginal Odors and Secretions. Clin. Obstet. Ginecol. 1981; 24: 355-363.
- 34.- ISSSTE. Procedimientos de Laboratorio Clínico Tomo I. México 1981.

35. - Kaufman R. The Origin and Diagnosis of "Nonspecific" Vaginitis. N. Engl. J. Med. 1980; 303: 637- 638
36. - Kinghorn G., Jones B., Chowdhury F., Geary I. Balanoposthitis Associated with Gardnerella vaginalis Infection in Men. Br. J. Vener. Dis. 1982; 58: 127-129.
37. - Koneman E. W. Diagnóstico Microbiológico. México: Editorial Médica Panamericana, 1984.
38. - León E. Reyes de Santiago J. Características Microbiológicas de la Vaginosis Bacteriana. Ginec. Obst. Mex. 1987; 55: 74-79.
39. - López R. Ruiz D., Cols. Significación de Patogénica de Candida en Pacientes con Vaginosis . Ginec. Obst. Mex. 1982; 50 (302): 145-148.
40. - Luna M. Sanchez R. Calderon E. Infecciones Cervicovaginales. Infectologia 1982; 5: 331-334
41. - Lynch M., Raphael S., Mellor L., Spare P., Inwood M. Métodos de Laboratorio. Segunda edición. Mexico: Editorial Interamericana, 1984.
42. - Mac Saggi Jean F. Pruebas Bioquímicas. Segunda. Edición. Londres:Editorial Williams and Wilkins 1980.
43. - Méndez I., Cols. Sensibilidad, Especificidad y Valor Predictivo de Predicción. En: El Protocolo de Investigación. México: Editorial Trillas, 1984.
44. - OMS. Atención Primaria de la Salud. Informe de la Conferencia Internacional sobre Atención Primaria de la Salud. Alma-ata, URSS. Ginebra: OMS, 1978.
45. - OPS/OMS. Salud para Todos en el Año 2000 Estrategias. Documento Oficial. No. 173. Ginebra: OMS, 1980.
46. - Rock B., Naghashfer Z., Barnett N., Borscema J., Wooddruff F., Shah K. Genital Tract Papillomavirus Infection in Children. Arch. Dermatol. 1986; 122: 1129-1132

- 47.- Rodríguez Villa. Trichomoniasis. Bioquímica 1986; 8(43): 18-43
- 48.- Rogers R. Flujo Vaginal. Diagnóstico y Tratamiento. Tribuna Médica. 1980; 38(9): 15-20
- 49.- Sabiston D. Tratado de Patología Quirúrgica. Décimo tercera Edición. Volumen II. México: Editorial Interamericana, 1986.
- 50.- San Martín H. Salud y Enfermedad. Ecología Humana. Medicina Preventiva y Social. Cuarta Edición. México: Editorial La Prensa Médica Mexicana, 1983.
- 51.- Schnadig V., Divie K., Shafer S., Yandel R., Islam M., Hannigan E. The Cytologist and Bacterioses of the Vaginal-Ectocervical Area. Acta Cytologica. J. Clin. Cytology and Cytopathology; 1988: 287-297.
- 52.- Skarin A. Comma-Shaped Bacteria Associated with Vaginitis. The Lancet 1982; 6: 342-343
- 53.- Smith H., Moore H. Isolation of Mobiluncus Species from Clinical Specimens by Using Cold Enrichment and Selective Media. J. Clin. Microbiol. 1988; 26: 1134-1137.
- 54.- Sobel J. Candidiasis Vulvovaginal. Mundo Médico. 1985: 12(136): 79-81.
- 55.- Spiegel C. Nonspecific Vaginitis. Scand. J. Infect. Dis [Suppl] 1981; 26: 110-114.
- 56.- Spiegel C., Davick P., Totten P., Chen K., Eschenbach D., Amsel R., Homes K. Gardnerella vaginalis and Anaerobic Bacteria in the Etiology of Bacterial (Nonspecific) Vaginitis. Scand. J. Infect. Dis. [Suppl] 1983; 40: 41-46.

- 57.- Testud L. Latarjet A. Tratado de Anatomía Humana. Novena Edición. Tomo IV. Barcelona España: Editorial Salvat, 1986.
- 58.- Thomason J., Schreckenberger P., Spellacy W., Riff L., LeBeau L. Clinical and Microbiological Characterization of Patients with Nonspecific Vaginitis Associated with Motile, Curved Anaerobic Rods. J. Infect Dis 1984; 149: 801-809.
- 59.- Thomason J., Gelbart S., Anderson R., Walt A., Cols. Statistical Evaluation of Diagnostic Criteria for Bacterial Vaginosis. Am. J. Obstet. Gynecol. 1990; 162: 155-160.
- 60.- Torres I., Conde C. Mobiluncus, ¿ Nuevo Patógeno Microbiano ? Infectología 1986; 2: 44-49.
- 61.- Totten P., Amsel R., Hale J., Piot P., Holmes K., Selective Differential Human Blood Bilayer Media for Isolation of Gardnerella (Haemophilus) vaginalis. J. Clin. Microbiol. 1982; 15: 141-147.
- 62.- Vega Franco L. García Manzanedo H. Bases Esenciales de la Salud Pública. México: Editorial La Prensa Médica Mexicana, 1977.
- 63.- Vontver L., Eschenbach D. The Role of Gardnerella vaginalis in Nonspecific Vaginitis. Clin. Obst. Gynecol. 1981; 24: 439-448.
- 64.- Walss R., Melendez H., Tellez I. Flora Bacteriana Cervico-vaginal en Mujeres Sanas. Estudio Cualitativo en Mujeres No Grávidas, Grávidas y Puérperas. Ginec. Obst. Mex. 1988; 56: 57-60.