



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO

28

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES - ZARAGOZA

*AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE MOBILUNCUS spp
EN MUESTRAS CERVICOVAGINALES DE PACIENTES QUE CURSAN
CON VAGINOSIS BACTERIANA*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGICO

P R E S E N T A :

MARIA GUADALUPE HERNANDEZ GODINEZ

Director. Q. B. P. EUSEBIO PALMA DEL ANGEL

Asesor. Q. F. B. YOLANDA FLORES CABRERA

ABRIL 2002.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

JURADO

PRESIDENTE	Q.F.B. PARICIA VIDAL MILLAN
VOCAL	Q.F.B. FRANCISCO JAVIER PARADA GARCIA
SECRETARIO	Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA
SUPLENTE	Q.B.P.. EUSEBIO PALMA DEL ANGEL
SUPLENTE	Q.F.B. ANGEL GARCIA SANCHEZ

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DEDICADA A :

***MIS PADRES: CONCEPCION GODINEZ NAVARRO
LADISLAO HERNANDEZ GARCIA***

Por que solo la superación de mis
Ideales, me han permitido comprender
cada día más la difícil posición de
ser padres, mis conceptos, mis
valores morales y mi superación
se las debo a ustedes; esto será
la mejor de las herencias, lo
reconozco y lo agradeceré eternamente.
En adelante pondré en práctica mis
conocimientos y el lugar que en mí
mente ocuparon los libros, ahora será
de ustedes, esto, por todo el tiempo
que les robé pensando en mí GRACIAS.

MIS HERMANOS : Luis, Jorge, Juana, Eva, Lety y Jaime.
Por ser parte de mí vida y estar conmigo en todo momento.
LOS QUIERO MUCHO.

MI ESPOSO : Rogelio Hernández Ramírez
Por estar a mí lado, por confiar en mí y apoyarme en cada momento de mi vida
TE AMO

A mi bebé fruto de mi amor y parte importante de mí vida
Que en algunos meses nacerá el cual me da fuerza
Para continuar.

A mis abuelitos, tías, cuñadas, suegros y sobrinos
Que le han dado diferentes matices a mí vida

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

Q.B.P. EUSEBIO PALMA DEL ANGEL

Por la otorgación del tema
Por su amistad y consejos.

Q.F.B. YOLANDA FLORES CABRERA

Cuya ayuda y conocimientos fueron primordiales para
la realización de esta tesis sin los cuales hubiera sido
más difícil la terminación.

Q.B.P. MONICA TOBIAS GARCIA

Por su disponibilidad, apoyo incondicional
Por sus consejos y amistad.

Q. PATRICIA SOSA

Por su aportación incondicional de los
Medios de cultivos.

**GRACIAS A DIOS POR PERMITIRME REALIZAR MI VIDA.
GRACIAS.**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
1.0 MARCO TEÓRICO	3
1.1 Anatomía del tracto genital femenino	3
1.2 Ecosistema microbiano vaginal	10
1.3 Fisiopatología	13
1.4 Consideraciones epidemiológicas	15
1.5 Diagnóstico de laboratorio	17
1.6 Identificación microbiológica.....	18
1.7 Características taxonómicas	18
1.8 Agente etiológico	24
1.9 Manifestaciones clínicas	24
2.0 Planteamiento del problema	25
3.0 Objetivos	25
4.0 Hipótesis	25
5.0 Diseño experimental	26
5.1 Población de estudio	26
5.2 Criterios de inclusión y exclusión	26
5.3 Diseño estadístico	26
5.4 Métodos	27
5.5 Material	28
5.6 Diagrama flujo	30
6.0 Resultados	31
I. Gráficos de frecuencia	
II. Aislamiento y caracterización	
III. Fotografías	
7.0 Discusión	44
8.0 Conclusiones	47
9.0 Apéndice.....	51
I. Anexo I	
II. Anexo II	
10.0 Referencias	52

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

RESUMEN

El presente trabajo se realizó en mujeres en edad fértil y que acudieron al Laboratorio central del Hospital Dr. Gonzalo Castañeda I.S.S.S.T.E. previa evaluación del ginecólogo; y tuvo como propósito establecer que especies de *Mobiluncus* son más frecuentes en la población en estudio, determinando además la sintomatología característica que presentan las pacientes.

En México no existen estudios del género *Mobiluncus* aun cuando en el laboratorio clínico se ha reportado, por lo que se desconoce su frecuencia en esta población y si existen diferencias sintomatológicas en pacientes con vaginosis bacteriana cuando *Mobiluncus* está presente.

La búsqueda de *Mobiluncus* se basó en el diagnóstico de vaginosis bacteriana y la tinción de Gram encontrándose en 35 muestras (5.95%) de las 588. Aislándolo solo en 11 muestras (1.87%) de las 588.

El presente estudio pretende la búsqueda de *Mobiluncus* con base en el diagnóstico de vaginosis bacteriana, considerando el cultivo cervico vaginal, el cual incluye examen en fresco (pH, prueba de aminas, búsqueda de células clave y actividad de sacacorcho que presenta *Mobiluncus*); frote directo (Tinción de Gram), el cual es un método de identificación sencillo, barato y lleva un tiempo menor que aquel hecho por: cultivo microbiológico, siendo una alternativa de identificación de *Mobiluncus* en un laboratorio clínico de tercer nivel; y cultivo microbiológico el cual se realizo un sembrando en agar *Mobiluncus* y agar base de sangre (C.D.C.). Realizando además las pruebas bioquímicas como la catalasa, oxidasa, ureasa, hidrólisis de hipurato, reducción de nitratos.

Así en base al diagnóstico de vaginosis bacteriana encontramos a *Mobiluncus* en 35 muestras (5.95%) de las 588 muestras por tinción de Gram y se pudo aislar solo a 11 muestras (1.87%) de las 588.

Al observar los frotos teñidos por Gram se encontró que *Mobiluncus* está acompañado siempre de *Gardnerella vaginalis*, lo que nos indica que *Mobiluncus* único microorganismo causante de vaginosis bacteriana.

INTRODUCCIÓN

Los bacilos curvos fueron observados por primera vez por Kroning (1895), en muestras de pacientes con problemas ginecológicos los cuales, no correspondían a la flora habitual de la vaginosis. Después de su descubrimiento estos bacilos curvos fueron objeto de diferentes investigaciones morfológicas, bioquímicas y genéticas. Como las investigaciones realizadas por More en 1954 quien descubre las características de estos bacilos tanto en preparaciones en fresco como en cultivos. No fue sino hasta 1984 que Spiegel con base en pruebas bioquímicas comprueba que se trata de un género diferente al que llamo *Mobiluncus* el cual era aislado de pacientes que presentaban vaginosis bacteriana ya que esta es una infección cervico vaginal muy común dentro de la consulta ginecológica. Puede estar presente sin evidencia de algún dato clínico o cursar con algún dato clínico. A pesar de esto el papel de *Mobiluncus* en la etiología de la vaginosis bacteriana se desconoce, sin embargo se ha encontrado en frotis teñidos con Gram lo cual ha determinado su relación con esta infección, caracterizándose por la presencia de leucorrea, con olor a aminas, pH 5.5, células clave y actividad de sacacorcho. Este microorganismo es muy estricto, aislándose en medios de enriquecimiento como agar Mobiluncus, agar base de sangre (C.D.C.) ó caldos de peptona con levadura suplementada con glucógeno y suero de conejo, en incubación parcial de CO₂ favoreciendo su crecimiento a 37 °C, desarrollando colonias pequeñas, translúcidas, incoloras y convexas, se distinguen dos tipos de *Mobiluncus*: *Mobiluncus curtisii* es pequeño (por lo común de 1.5 – 1.7 µm de longitud), Gram variable. *Mobiluncus mulieris* es más grande (2.9 – 3.0 µm de longitud) Gram negativa y con aspecto de semiluna. En México no existen estudios del género *Mobiluncus* aun cuando en el laboratorio clínico se ha reportado. Por lo que se desconoce su frecuencia en esta población y si existen diferencias sintomatológicas en pacientes con vaginosis bacteriana cuando *Mobiluncus* está presente. De acuerdo a esto el presente estudio pretende la búsqueda de *Mobiluncus* con base en el diagnóstico de vaginosis bacteriana, considerando el cultivo cervico vaginal, el cual incluye examen en fresco (pH, prueba de aminas, búsqueda de células clave, actividad de sacacorcho que presenta *Mobiluncus*); frote directo (tinción de Gram); cultivo microbiológico sembrando en agar Mobiluncus y agar C.D.C. Realizando además las pruebas bioquímicas como la catalasa, oxidasa, ureasa, hidrólisis de hipurato, reducción de nitratos.

1.0 MARCO TEÓRICO

1.1 ANATOMÍA DEL TRACTO GENITAL FEMENINO

GENITALES EXTERNOS

Los genitales externos femeninos están constituidos por los labios mayores, los labios menores, clítoris, el vestíbulo, monte de Venus, la fosita navicular, las formaciones eréctiles y las formaciones glandulares.

LABIOS MENORES

Constituyen dos pliegues cutáneos que se encuentran por dentro de los labios mayores, están formados por folículos sebáceos y algunas glándulas sudoríparas; son sensibles y están provistas de diversas clases de terminaciones nerviosas, distinguiéndose además una cara interna, mucosa, que determina el vestíbulo y el introito vaginal; el color y la distensión varían, dependiendo del nivel de excitación sexual y de la pigmentación de la mujer.

LABIOS MAYORES

Son dos pliegues de tejido adiposo recubierto por la piel que se extiende desde el monte de Venus hacia atrás y abajo hasta el perineo. El *periné* es la zona comprendida entre la horquilla vulvar y la región anal.

MONTE DE VENUS

Recibe este nombre la almohadilla adiposa que está situada sobre la cara anterior de la sínfisis púbica en la que se encuentran vasos sanguíneos y linfáticos.

VESTÍBULO

Se define como el espacio triangular delimitado lateralmente por los labios menores, abajo por la inserción anterior del himen y arriba por el frenillo del clítoris. Se encuentra perforado por cuatro orificios: la *vagina*, la *uretra* y los *conductos de las glándulas de Bartholino*.

GLANDULAS VESTIBULARES MAYORES

Las *glándulas vestibulares mayores* o *glándulas de Bartholino*, son dos glándulas de alrededor de 1 cm de diámetro situadas a ambos lados del orificio vaginal por debajo del músculo bulbo cavernoso.

GLANDULAS VESTIBULARES MENORES

Las *glándulas vestibulares menores*. Son pequeñas glándulas mucosas que desembocan en la porción superior del vestíbulo.

ORIFICIO VAGINAL

Orificio vaginal. Es el punto de paso entre la vulva y la vagina, posterior al vestíbulo y contorneado lateralmente por los labios menores.

CLÍTORIS

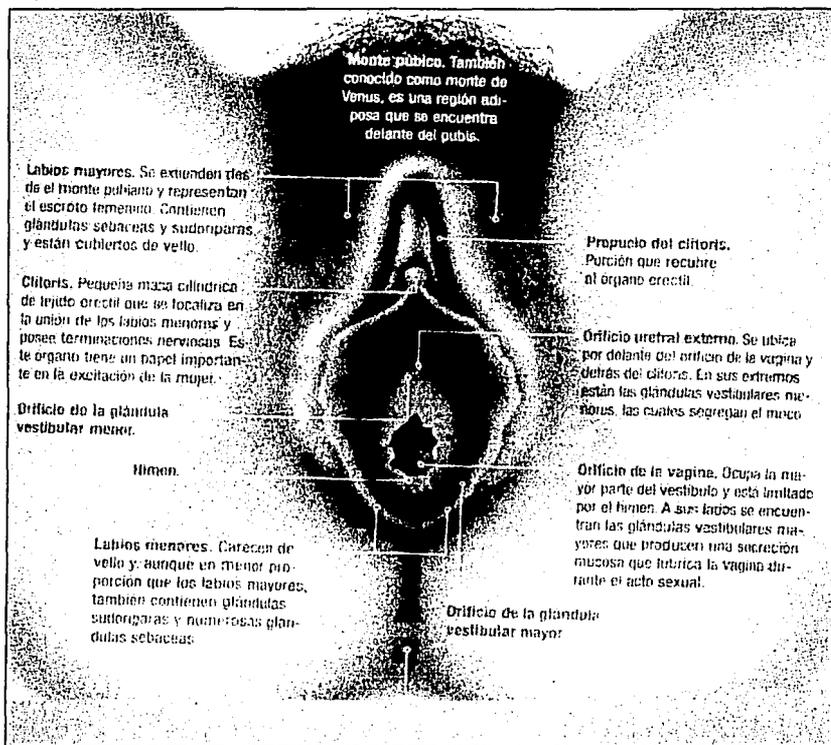
Es una estructura cilíndrica y eréctil situada en el extremo anterior de la vulva. Es el homólogo del pené masculino y está constituido por el glande, el cuerpo y dos pilares. Posee abundantes terminaciones nerviosas y es extraordinariamente sensible.

Actualmente se ha encontrado que el clítoris es un órgano desconocido a tal grado que los primeros libros de anatomía están equivocados. En estudios realizados por Helen O Connel

describe detalladamente los nervios dorsales (mucho más importantes que en los manuales de anatomía), los cuales se piensa que transportan las informaciones sensoriales hacia el cerebro, los nervios cavernosos que controlan probablemente los músculos lisos; así como el tamaño de los vasos sanguíneos, que les permiten dilatarse cuando hay una relación sexual. Se puede concluir que el clítoris, tal como está presentado en la mayoría de las obras, es nada más la sombra de sí mismo.

Además el clítoris está atado, en el interior de la pelvis, a una masa piramidal de tejidos eréctiles casi del mismo grosor que la primera articulación del pulgar, y claramente más extendida de lo que se ha enseñado hasta ahora^(5,7,32,54). (Fig. 1).

Fig. 1 Genitales externos⁶⁵



TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

EL ÚTERO

Es el órgano hueco, único y muscular. Se encuentra situado en la cavidad pélvica entre la vejiga y el recto y su extremidad inferior hace profusión en la vagina (*portio vaginalis*). Tiene forma periforme aplanada y consta de dos porciones: una superior, el *cuerpo* y otra inferior fusiforme el *cuello*.

El útero está constituido en su mayor parte por tejido muscular, sus caras anterior y posterior están prácticamente en contacto, por lo que la cavidad uterina es prácticamente una hendidura.

Cuello uterino

El cuello uterino o cérvix tiene forma cilíndrica, constituye la parte más distal del útero, dividida del cuerpo uterino por la unión fibromuscular o istmo que corresponde al *orificio cervical interior* (OCI). Este delimita así la conjunción del tejido muscular del cuerpo del útero, el miometrio, con el predominantemente fibroso conectivo del cérvix.

El orificio cervical externo (OCE) identificado microscópicamente como la parte terminal del canal cervical, es puntiforme y redondeado en la nulipara.

El cuello uterino está compuesto de tejido conjuntivo, con algunas fibras musculares lisas, vasos y tejido elástico: esta zona del cuello uterino es denominado ectocérvix o portio en donde se distingue un labio superior o anterior y otro posterior o inferior. El canal cervical comunica la cavidad uterina con la cavidad vaginal constituyendo la verdadera puerta del útero. El portio está compuesto por un epitelio escamoso estratificado no queratinizante el cual tiene citológicamente 5 capas.

- a) Estrato más profundo es el estrato basal o germinativo que corresponde a las células internas, está formado por una hilera de células cúbicas dispuestas en sentido perpendicular. Estas células son pequeñas con núcleo grande hiperromático, redondo u ovalado.
- b) Estrato profundo o parabasal está formado por hileras de células redondas o ligeramente poliédricas, con núcleos redondos u ovalados voluminosos.
- c) Estrato intermedio o espinoso está formado por una hilera de células fusiformes con núcleos pequeños, claro, vesicular y citoplasma claro.
- d) Estrato granular las células están unidas entre sí por puentes intercelulares.
- e) Estrato superficial está formado por grandes células planas con núcleo picnótico. El citoplasma de estas células contienen una cantidad variable de queratina responsable de su acidofilia^(7,20,32). (Fig. 2).

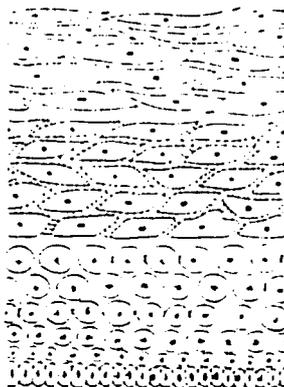
Fig. 2 Representación esquemática del epitelio cervicovaginal en la mujer en edad fértil⁷.

Superficial

Epinoso
Superficial

Epinoso
Profundo

Basal



Cuerpo uterino

El útero consta de tres capas: serosa, muscular y mucosa. La capa serosa o externa está formada por el peritoneo, que lo recubre excepto por encima de la vejiga y en los bordes, es delgada y está adherida con firmeza al fondo y a la mayor parte del cuerpo; la capa muscular (miometrio) es bastante gruesa y se continúa con las trompas y la vagina, también se extiende hasta el interior de los ligamentos ováricos y redondos, en el interior de los ligamentos cardinales en el cérvix y en forma mínima en el interior de los ligamentos uterosacros; pueden distinguirse dos capas principales de la cubierta muscular: a) La capa externa, que es más débil y está compuesta de fibras longitudinales; y b) Una capa interior más fuerte, cuyas fibras están entrelazadas y corren en diversas direcciones, habiéndose entremezclados dentro de ellas grandes plexos venosos; la capa mucosa (endometrio) es suave y esponjosa, compuesta de tejido que se parece al tejido conjuntivo embrionario, la superficie consiste de una sola capa de epitelio columnar ciliado, el tejido contiene muchas glándulas tubulares que se abren en el interior de la cavidad uterina; la capa interna o *endometrio* es una mucosa delgada de color rosado en la que se observan los orificios de múltiples glándulas. Fisiológicamente puede tener un espesor entre 0.5 y 5 mm y está constituido por un epitelio superficial, glándulas y un estroma rico en vasos sanguíneos. (1-4,7,32,54)

VAGINA

Es un producto músculo membranoso que se extiende desde la vulva hasta el útero, encontrándose entre la vejiga urinaria y el recto, tiene una longitud de alrededor de 12 cm y se dirige de arriba abajo y de atrás a delante formando un ángulo de 70° con la horizontal, distinguiéndose dos caras, anterior y superior y dos bordes laterales. Normalmente las paredes vaginales anterior y posterior están en contacto y solo queda un pequeño espacio entre sus bordes laterales, además constituye el conducto excretor del útero, por el cual sale la secreción y la menstruación; es el órgano femenino del coito y forma parte del canal del parto.

Por delante queda separada de la vejiga y uretra por el tabique vesicovaginal. en la parte superior hay un tejido similar que constituye el tabique recto vagina: la dirección oblicua de la vagina condiciona que la cara posterior tenga una longitud superior a la anterior y por alrededor una cuarta parte de esta y la parte más superior. se encuentra separada del intestino terminal tan solo por un fondo de saco peritoneal conocido con el nombre de fondo de saco de Douglas. La extremidad superior tiene forma de bóveda. en la que hace prominencia la porción vaginal del útero. esta bóveda esta subdividida por la presencia del cuello uterino en cuatro fondos de saco de dimensiones diferentes que tiene gran interés clínico. diagnóstico y terapéutico. Estos fondos de saco son: uno posterior y dos laterales: en la línea media de las paredes anterior y posterior hay elevaciones longitudinales que se proyectan hacia la luz vaginal y que reciben el nombre de *columnas de la vagina*.

La mucosa vaginal esta formada por epitelio escamoso estratificado. por debajo del epitelio hay una delgada capa de tejido conectivo. rico en vasos sanguíneos y algunos nódulos linfoides. la pared de la vagina están compuesta de una túnica conectiva y una túnica mucosa. la túnica conectiva está dividida en una túnica externa e intermedia. la *túnica externa* está formada por tejido conectivo que se continúa con el paracolpio: la pared anterior. del sector de la vagina se halla en relación con la uretra. este tejido conectivo es fibroso mientras que el segmento superior esta en conexión con la vejiga el cual es laxo: la *túnica intermedia* está constituida por fibras elásticas y fibras musculares lisas. estas últimas se hallan dispuestas en el lado externo en sentido circular. La capa mucosa muestra muchas arrugas transversales y oblicuas. sobre las paredes anterior y posterior estas arrugas son más prominentes y la uretra invagina a la pared anterior de la vagina.

Dado que el epitelio vaginal está desprovisto de glándulas. la secreción vaginal se produce mediante trasudación. El pH fisiológico vaginal varía en relación con la edad: es ácido (pH 4.5) en recién nacida y en la edad fértil, alcalino (pH > 7) en la infancia y en la mujer posmenopáusicas: el pH varía también en el curso del ciclo menstrual alcanzando los valores más bajos de acidez en el período ovulatorio. la reacción fuertemente ácida se ha atribuido al ácido láctico. que resulta de la glucogenólisis de la mucosa por los *bacilos de Doderlain*. La vagina se mantiene húmeda gracias a la secreción uterina y está provista de una abundante irrigación recibiendo de las ramas cervicovaginales (ramas de la uterina). de las vaginales (ramas de la iliaca interna). de las vesicovaginales (ramas de las uterinas). de la vesical inferior y de la hemorroidal media. ^(1-4,7,11,14,32,54)

1.2 ECOSISTEMA MICROBIANO VAGINAL

La ecología del cuerpo humano comprende diversos nichos, y la vagina es uno de ellos. Está constituida por trasudados (agua, sales, proteínas, urea y ácidos grasos), secreciones que fluyen del canal cervical y de las glándulas de Bartholin y de Skene, células provenientes de la sangre y de los tejidos profundos (granulocitos y linfocitos) y células de descamación del epitelio, en el cual conviven muchas especies de microorganismos interactuando entre si y con el huésped representando el pábulo de la población microbiana allí alojada. Así la descarga vaginal presenta una mezcla de componentes, principalmente secreciones de las glándulas de Bartholin, trasudaciones a través de la pared vaginal, células epiteliales vaginales de descamación, moco cervical, fluido endometrial y leucocitos.

El moco cervical es un componente importante de la secreción vaginal, especialmente por su elevado contenido de glucoproteínas (mucina). Otras porciones proteicas son las Inmunoglobulinas (IgA e IgE), albúminas y ácidos grasos provenientes de la secreción cervical. La mezcla de los ácidos orgánicos de bajo peso molecular proporcionan un olor a la vagina dependiente del vapor por la temperatura corporal y del pH vaginal, estos ácidos son normalmente constituyentes de los fluidos vaginales y su presencia proveniente de los productos metabólicos de la flora bacteriana (cuadro 1).

La singular arquitectura del epitelio vaginal y la estrecha dependencia de las características citológicas del equilibrio hormonal hacen que las características fisicoquímicas del contenido vaginal, y en consecuencia del ecosistema estén destinadas a cambiar con las variaciones de la edad de la mujer.

En el momento del nacimiento, y durante un período ulterior de casi dos semanas, el organismo se halla bajo la influencia de las hormonas estrogénicas maternas. El epitelio de la vagina es rico en glucógeno y la población bacteriana está constituida por lactobacilos los cuales utilizan el glucógeno o productos de su hidrólisis; por lo tanto el pH vaginal es de 4.5. Cuando los lactobacilos disminuyen predominan en el ecosistema vaginal otras especies microbianas: predominando los *Bacteroides fragilis*, enterobacterias (*E. coli*, *Proteus*), difteroides y Gram positivos; la comparación del ecosistema puede ser muy variable de un caso a otro y en el tiempo, por que la vagina es un ecosistema en esta edad, la flora bacteriana proviene sobre todo de la región anal y perianal siendo de origen fecal y con menor frecuencia urinario. (1-6,33,42,56-60).

CUADRO I Flora normal bacteriana de la vagina¹

Microorganismos facultativos
<i>Staphylococcus epidermidis</i> Especies de Lactobacilos Streptococcus no hemolíticos Bacillus sp. Bacilos entéricos Gram negativos Staphylococcus coagulasa negativa
Microorganismos anaerobios
Especies de Bacteroides sp. Peptoestreptococcus sp. Peptococos

Linde C A. Ginecología quirúrgica.

Así la flora bacteriana residente de la vagina sana es compleja, consta de abundantes bacterias aerobias y anaerobias; dividiéndose en microorganismos comensales y potencialmente patógenos, desarrollándose en un ambiente común y, por ende, algunas pueden tener un efecto antagonista sobre las otras; otro factor importante que influye sobre el crecimiento de microorganismos es la concentración de ion hidrógeno. Un pH de 3.8 a 4.2 favorece el crecimiento de las bacterias comensales, en especial *Lactobacillus acidophilus* dominante en la vagina sana.

Las características de la secreción vaginal normal son:

- Cantidad mínima o variable
- Color blanco mucoide
- Consistencia flocular
- Bacilos Gram positivos
- Leucocitos escasos
- pH mayor a 4.5
- Células epiteliales de descamación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cuando la microflora endógena, que comprende bacterias comensales y patógenas muestra antagonismo entre sus miembros, se origina supresión de las bacterias, así cuando se altera el equilibrio del ambiente cesa el antagonismo, disminuye la concentración de ion hidrógeno y los Lactobacilos pierden su dominio; con esto, aumenta el número de microorganismo patógenos convirtiéndose estos en la flora prevalente. ^(1,2,3,7,12,13)

VAGINOSIS BACTERIANA

La vaginitis es quizá, la infección más frecuente tratada por el ginecoobstetra. La vaginitis puede dividirse en cuatro grupos etiológicos principales: bacterias, hongos (por levaduras), por protozoarios y viral.

La vaginosis bacteriana es una infección cervicovaginal muy común dentro de la consulta ginecológica y puede estar presente sin evidencia de algún dato clínico, o cursar con incremento del fluido vaginal, lo cual origina malestar en las pacientes; si no se administra tratamiento, el padecimiento puede tener repercusiones ginecológicas y perinatales. ^(7,12,26,51,56-60)

ETIOLOGÍA

Se conoce también con el nombre de vaginitis no específica (vaginitis inespecífica), nombrada así por los médicos que al no encontrar ni tricomonas, ni levaduras, desconocían la etiología de la infección cervicovaginal en las pacientes. Otro sinónimo son vaginitis por *Haemophilus*, *Cornebacterium*, o *Gardnerella*, vaginitis anaeróbica o vaginosis anaeróbica, conocida en la actualidad como **vaginosis bacteriana**. En esta patología se ha observado un aumento importante en la concentración de microorganismos, sustancialmente de *Gardnerella vaginalis* y los anaerobios presentes en la vagina, entre ellos ***Mobiluncus sp***; esto ocasiona un desbalance en la microflora vaginal normal, con la consecuente desaparición de la flora lactobacilar ^(1,22,35,42).

1.3 FISIOPATOLOGÍA

La flora bacteriana de la vagina está conformada predominantemente por Lactobacilos productores de peróxido de hidrógeno, los cuales generan grandes cantidades de "ácido láctico", por consiguiente el pH normal de la vagina se encuentra entre 3.5 – 4.5, excepto en el periodo menstrual. Esto permite que haya un balance adecuado de la flora existente, pues inhibe el desarrollo de las bacterias catalasa negativas *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* y otros anaerobios como *Bacteroides*.

Cuando se altera la etiología de este microambiente, a través de la disminución o desaparición de la flora lactobacilar se facilita el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias.

Los Lactobacilos son los protectores en el microambiente vaginal, además son productores de peróxido de hidrógeno, el cual actúa como mecanismo inhibitorio del crecimiento de los gérmenes implicados en la vaginosis bacteriana mediante dos procedimientos: uno directo por la toxicidad del ion, o debido a la producción de un complejo de peróxido de hidrógeno, en presencia de una enzima peroxidasa presente en el medio vaginal.

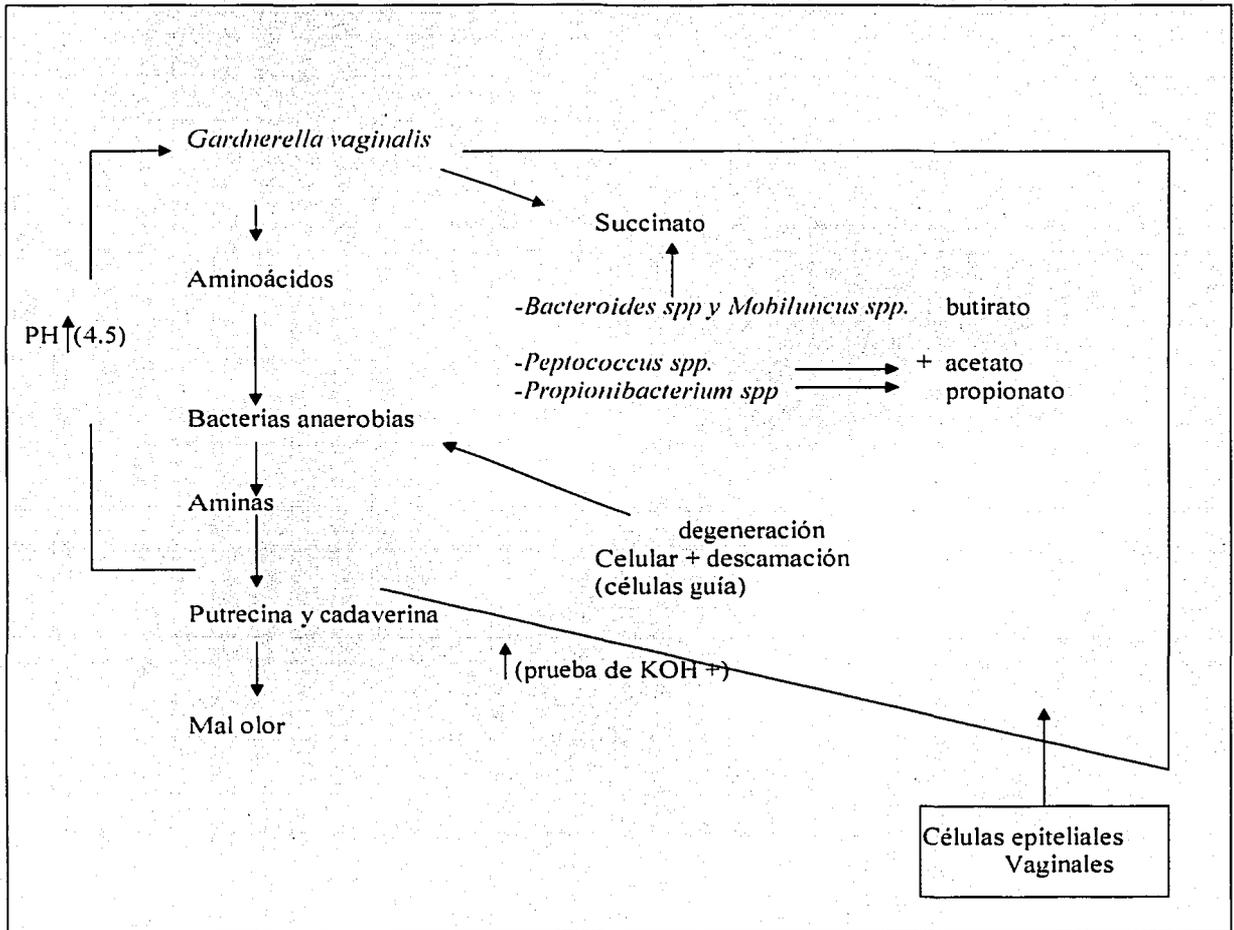
En la vaginosis bacteriana hay liberación de aminas debido a la descarboxilación de los aminoácidos presentes en el medio, lo cual le confiere al fluido vaginal un "olor a pescado". Estas aminas aromáticas son trimetilamina, histamina, putrecina, cadaverina.

Aunque no se conoce su papel con exactitud, se cree que influyen importantemente en el cuadro clínico, ya que la cadaverina, la fenerilamina y la metilamina pueden irritar la piel.

La histamina tiene diversas acciones como dilatación e incremento de la permeabilidad de la microcirculación y la trimetilamina es responsable en gran parte del "olor a pescado"^(6,10,23,58). (Fig. 3).

Fig. 3

Posible relación entre *Gardnerella vaginalis* y las bacterias anaerobias en la patogénesis de la vaginosis bacteriana³



1.4 CONSIDERACIONES EPIDEMIOLÓGICAS

De acuerdo a los estudios hechos por algunos investigadores en México, la vaginosis bacteriana junto con la candidiasis genital son las causas más comunes de infección cervicovaginal, independientemente de los hábitos y costumbres sexuales de las pacientes, de tal forma que se encuentra entre un 17 a 30 %.^(3,11)

Hillier, Holmes y Sobel, encuentran que la frecuencia de esta patología varía según el motivo por el cual la paciente acude a la consulta. De tal manera que en pacientes que acuden a clínicas de atención ginecológica, sólo para revisión anual, se encuentra ésta en un 5 %, de 24 a 37 % en las clínicas de Enfermedades de Transmisión Sexual, y un 16 % en los pacientes de la consulta privada.^(3,11,12)

En el Instituto Nacional de Perinatología es la segunda causa de consulta por infección cervicovaginal. En un estudio prospectivo realizado en este Instituto en 234 pacientes embarazadas y no embarazadas se encontró vaginosis bacteriana en 27.7 % de los casos, no existiendo diferencia estadísticamente significativa entre los dos grupos.^{56,60}

La vaginosis bacteriana a pesar de ser un padecimiento infeccioso, transmisible sexualmente no está dentro de las enfermedades que se reportan a la Dirección General de Epidemiología por lo que la frecuencia real del padecimiento en la República Mexicana se desconoce con exactitud.

FACTORES QUE PREDISPONEN LA INFECCIÓN

- Inadecuados hábitos higiénicos
- Uso de anticonceptivos varios
- Uso de dispositivo intrauterino
- Alteraciones de niveles hormonales
- Número de parejas sexuales
- Vida sexualmente activa
- Parejas de pacientes sin tratar (portador)
- Lesiones y alteraciones en la estructura del aparato genital
- Cambios metabólicos
- Raza
- Edad

Aparentemente el uso de dispositivos intrauterino es un factor inexplicable del incremento de la vaginosis bacteriana, así como el uso de antibióticos que inciden sobre la flora lactobacilar normal productora de peróxido de hidrógeno.⁶⁰

Actualmente se ha publicado que el uso de anticonceptivos locales como el nonoxinol-9 puede proteger contra la tricomoniasis y la vaginosis bacteriana, en este último caso los hormonales orales no ejercen ninguna influencia. Otro factor que propicia la enfermedad son las múltiples parejas sexuales, así como la frecuencia del coito. ^(1-4,7,13,17,56-60)

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La infección cervicovaginal, los agentes involucrados en ellas, los datos clínicos y el diagnóstico diferencial han sido motivo de estudio por un sinnúmero de investigadores. Las primeras experiencias se basan en las observaciones de los microorganismos involucrados en las secreción normal en donde la participación de Doderlein es fundamental: posteriormente Curtís, quien se avocó a investigar sobre la etiología y bacteriología de la leucorrea, no sólo mencionando a los Lactobacilos, sino a otros morfotipos bacterianos encontrados en el tracto inferior, dejando camino abierto para la investigación. Cruickshank en 1934, descubrió algunos de los hallazgos en la vaginitis de adolescentes y en la leucorrea no infectiva de la paciente gestante.

La vaginosis bacteriana se reconoció como una entidad nosológica a partir de 1955 en donde Herman L. Gardner y Charles D. Dukes la definieron no sin dejar de reconocer los esfuerzos de otros profesionistas, quienes al no encontrar ni cándida ni tricomonas en el fluido vaginal, se interesaron en buscar la etiología del problema infeccioso de sus pacientes de tal forma que esta patología se denominó mucho tiempo "vaginitis no específica".

Gardner y Dukes, en su estudio original reportan que las pacientes refieren al interrogatorio algunos síntomas como prurito vulvar, y en la exploración física se encuentra ligero eritema y /o edema vulvar y rara vez vaginal, estos hallazgos también se han encontrado en algunas de las pacientes con vaginosis bacteriana que acuden a la Clínica de Enfermedades de Transmisión Sexual.

El dato principal que la paciente refiere, es la presencia de leucorrea fétida, en muchas ocasiones de larga evolución, esto se confirma mediante un estudio llevado a cabo por Hillier y Holmes en 661 mujeres, 311 de ellas con vaginosis bacteriana y 350 sin vaginosis bacteriana, encontrando en estos dos grupos la presencia de mal olor, prurito, prueba de liberación de aminas positiva y célula guía en el examen en fresco.

El cuadro clínico característico se manifiesta por la presencia de fluido transvaginal fétido abundante, homogéneo, grisáceo, y por lo general sin inflamación.

El diagnóstico de la vaginosis bacteriana se realiza por datos clínicos que estableció Amsel y cols. con base en las manifestaciones que las pacientes presentan:

1. Presencia de fluido transvaginal, homogéneo, grisáceo.
2. Prueba de liberación de aminas positivas. Esta se lleva a cabo al mezclar la secreción con algunas gotas de hidróxido de potasio al 10 %: al alcanzar el medio se liberan aminas y ácidos, lo cual le da un olor típico a "pescado".
3. Presencia de células guía en el examen en fresco. Esto se detecta diluyendo la secreción en 1 mL de solución salina y se observa al microscopio a 40x.
4. El pH vaginal igual o superior a 4.5.

Con la presencia de tres de estos cuatro criterios, se puede establecer el diagnóstico clínico de vaginosis bacteriana. (4-7,10,11,14,17,56-60)

1.5 DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Para la toma de muestra cervicovaginales, debe colocarse a la paciente en posición ginecológica y a través de un espejo vaginal sin lubricante, se toman muestras de paredes vaginales; se hace un examen en fresco en donde se observan las células guía, también conocidas como células clave, estas se caracterizan por ser células epiteliales en cuya superficie tienen adheridas gran cantidad de bacterias; en este caso se trata de *Gardnerella vaginalis*, que al observarse al microscopio a 40x se aprecia la pérdida del borde celular; este hallazgo por sí solo no es una prueba diagnóstica ya que puede haber "células guías falsas positivas" que corresponden a la adhesión de otros gérmenes de la flora vaginal.

El examen en fresco también nos permite observar bacilos curvos móviles: estos morfotipos representarían a los *Mobiluncus sp.*, este germen es fácil de identificar por sus movimientos rápidos y característicos en el examen en fresco; su hallazgo virtualmente diagnóstica la vaginosis bacteriana y el valor predictivo positivo es de 98.6%; sin embargo, estos bacilos móviles curvos no están presentes en todas las pacientes que tienen vaginosis bacteriana.

TÉCNICAS DE COLORACIÓN DIRECTA EN EL DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA

Esta se lleva a cabo mediante la elaboración de un frote obtenido del raspado de paredes vaginales y el material se coloca en un portaobjeto, posteriormente se fija con el calor y se tiñe. Una de las técnicas más adecuadas es la tinción de Gram, mediante las cuales se pueden apreciar fácilmente los morfotipos característicos presentes en la vaginosis bacteriana.

Este estudio posee una sensibilidad de 93 % y una especificidad de 70 %: cuando existe vaginosis bacteriana.

TÉCNICAS INMUNOLÓGICAS

ANTICUERPOS FLUORESCENTES

Los primeros en utilizar esta técnica fueron Redmond y Kotcher, inmunizando conejos con *Gardnerella vaginalis* y obteniendo anticuerpos específicos, los cuales marcaron con fluoresceína y para establecer el diagnóstico los mezclaban con el cultivo o con muestras directas obtenidas de los pacientes.

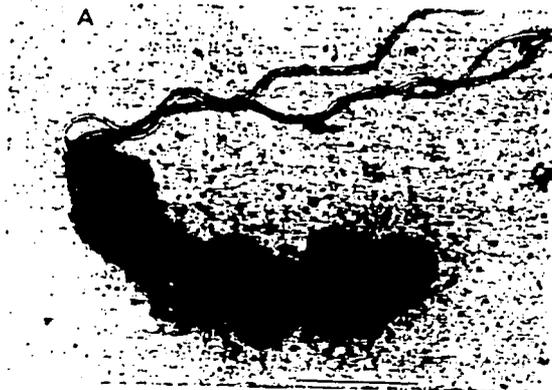
1.6 IDENTIFICACIÓN MICROBIOLÓGICA POR CULTIVO

A través del tiempo se han utilizado gran diversidad de medios como el agar chocolate, agar de peptona y almidón (PSD), agar Columbia, medio de Casman. Estos medios no son selectivos, ni diferenciales y en ocasiones requieren del uso del estereoscopio que se utiliza para examinar el agar PSD. ^(2,3,7,9,10)

1.7 CARACTERÍSTICAS TAXONOMICAS

La bacteria curva anaerobia llamada *Mobiluncus* ha recibido gran atención ya que se ha encontrado con gran frecuencia en exudados vaginales aunque la posición taxonómica de los miembros de este género es incierta. Sin embargo el género *Mobiluncus* es tentativamente asignado en la familia *Bacteroidaceae* que incluye anaerobios obligados, curvos Gram negativos y Gram positivos, bacilos curvos y helicoidales, que poseen flagelos polares y producen ácido succínico. Además las especies de *Mobiluncus* son bacterias anaerobias, móviles no esporuladas, curvas y de crecimiento lento, con tinción variable a la técnica de Gram, carecen de actividad de lipopolisacáridos y lípido A, son indol, oxidasa, H₂S, gelatina, ureasa y catalasa negativas, siendo su motilidad serpenteante característica aparentemente debida a la presencia de múltiples flagelos que tienen un sitio de fijación subpolar. (Fig. 4)

Fig. 4 MICROGRAFIA ELECTRÓNICA DE *Mobiluncus* sp.⁹



Con la tinción de Gram, modificada por Kopeloff pueden distinguirse dos tipos morfológicos: *Mobiluncus curtisii* denominado así en honor a Curtis que fue el primero en aislarlo siendo células anaerobias, de 2-3 μm de diámetro, no esporuladas (1.5-1.7 μm de longitud), Gram variable y ligeramente curvo. Las colonias son incoloras, translúcidas, lisas, convexas y enteras después de una incubación por cinco días a 37 °C, el contenido de G + C de DNA es de 51 a 52 mol %.

Mobiluncus curtisii subespecie *holmesii* tiene características similares a *Mobiluncus curtisii* subespecie *curtisii* excepto en que son sacarolíticas (pH 5.5 - 6.5), los bacilos grandes corresponden a *Mobiluncus mulieris* de mulieris que significa mujer, es Gram negativo de 2.9 - 3.0 μm , aspecto de semiluna, anaerobias, no esporuladas y móviles con múltiples flagelos subterminales. Las colonias son incoloras, translúcidas, convexas y enteras con un diámetro de 2 - 3 mm; después de una incubación de cinco días a 37 °C. Su crecimiento no es estimulado por arginina y el hipurato no es hidrolizado, el contenido de G + C es de 49 - 50 mol %^(8,12,22,44,47,64).

Las cepas de *Mobiluncus curtisii* pueden diferenciarse de *Mobiluncus mulieris* de acuerdo a los criterios mostrados en el cuadro 2.

TESIS CON
RALLA DE ORIGEN

CUADRO 2

CRITERIOS DIFERENCIALES DE *Mobiluncus sp.*³

	<i>M. curtisii subespecie curtisii</i>	<i>M. curtisii subespecie holmesii</i>	<i>M. mulieris</i>
Tamaño de las células	1.7 μ	1.7 μ	2.9 μ
Tinción de Gram	Variable	Variable	Negativo
Estimulación de arginina	+	+	-
Hidrólisis de hipurato	+	+	-
Reacción de CAMP	Débil	Débil	Fuerte
Reducción de nitratos	-	+	-(+)

-(+): generalmente negativo. V: Variable

En esta patología se ha observado un aumento importante en la concentración de microorganismos, sustancialmente de *Gardnerella vaginalis* y los anaerobios presentes en la vagina. entre ellos *Mobiluncus sp.*; esto ocasiona un desbalance en la microflora vaginal normal, con la consecuente desaparición de la flora lactobacilar. Cuando se altera la ecología de este microambiente, a través de la disminución o desaparición de la flora lactobacilar se facilita el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias, especialmente estas últimas.

En esta patología se ha observado un aumento importante en la concentración de microorganismos, sustancialmente de *Gardnerella vaginalis* y los anaerobios presentes en la vagina, entre ellos *Mobiluncus sp.*; esto ocasiona un desbalance en la microflora vaginal normal, con la consecuente desaparición de la flora lactobacilar. Cuando se altera la ecología de este microambiente, a través de la disminución o desaparición de la flora lactobacilar se facilita el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias, especialmente estas últimas.

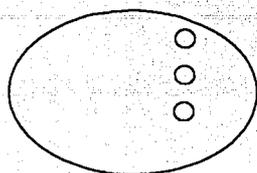
A partir de 1980, fue posible el aislamiento de otros microorganismos anaerobios como son los bacilos curvos, aunque éstos ya habían sido observados a través de la tinción de Gram; sin embargo, como estos microorganismos tienen necesidades nutricionales especiales y son anaerobios muy estrictos no habían podido aislarse con facilidad, hasta que Durieux y Dublanche caracterizaron 18 cepas de bacilos curvos productores de succinato, aislados a partir de pacientes con vaginosis bacteriana. Posteriormente otros científicos replicaron los hallazgos encontrados por los investigadores señalados y confirmaron la observación de estos gérmenes en la tinción de Gram y su desarrollo en condiciones específicas.

En el Instituto Nacional de Perinatología se han establecido técnicas de investigación para el aislamiento de este microorganismo, encontrando que *Mobiluncus* es parte de la flora existente en la vaginosis bacteriana además de que su aislamiento e identificación definitiva es muy laboriosa y altamente costosa; además de que *Mobiluncus* es difícil de cultivar, y su aislamiento a partir de muestras clínicas lleva una o más semanas y su identificación completa por especies requiere de siete a 14 días adicionales. Investigadores como Roberts y colaboradores han estudiado la posibilidad de identificarlo mediante técnicas de hibridación por homología de ADN marcado con ^{32}P , por lo que consiste en fijar a filtros de papel de nitrocelulosa que ha recibido un procesamiento químico especial, colonias bacterianas a partir de caldos o de exudados vaginales a las que se da un tratamiento para exponer el ADN microbiano (Fig. 5).

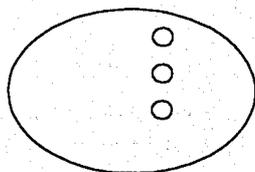
La eficiencia de este método es de 100% a partir de colonias bacterianas desarrolladas en caldo, y de 60 a 70% cuando se emplea exudado vaginal directamente. Los resultados obtenidos indican que este es un método rápido (de 2 a 7 días) para identificar *Mobiluncus* mediante su ADN, aún en presencia de una población bacteriana mixta.

Por otro lado también se han estudiado las diferencias serológicas de *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris* comparándolas serológicamente mediante inmunodifusión doble e inmunotransferencia (Fig. 6) utilizando antisueros preparados contra cada una de las especies. Los resultados señalan que varias cepas de la misma especie reaccionan fuerte con el antisuero homólogo, en tanto que la reacción con el antisuero heterólogo es débil debido a la posición entre las dos especies de algunos antígenos comunes (reacción cruzada). Por lo que respecta a una diferenciación antigénica entre las subespecies de *Mobiluncus curtisii*, los antisueros hasta ahora elaborados no pueden distinguir las mediante las técnicas señaladas.

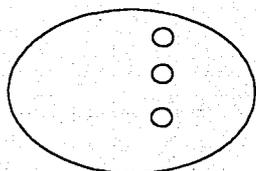
Fig.5 Técnicas de hibridación de ADN radiactivo³



Filtrado de nitrocelulosa
Tratado químicamente



Filtrado con gotas problema
De suspensión bacteriana.
Cuyo ADN se ha expuesto
y fijado al papel



Adición de ADN purificado
y radiactivo (³²P).
Proveniente de especie tipo
Recombinación por homología

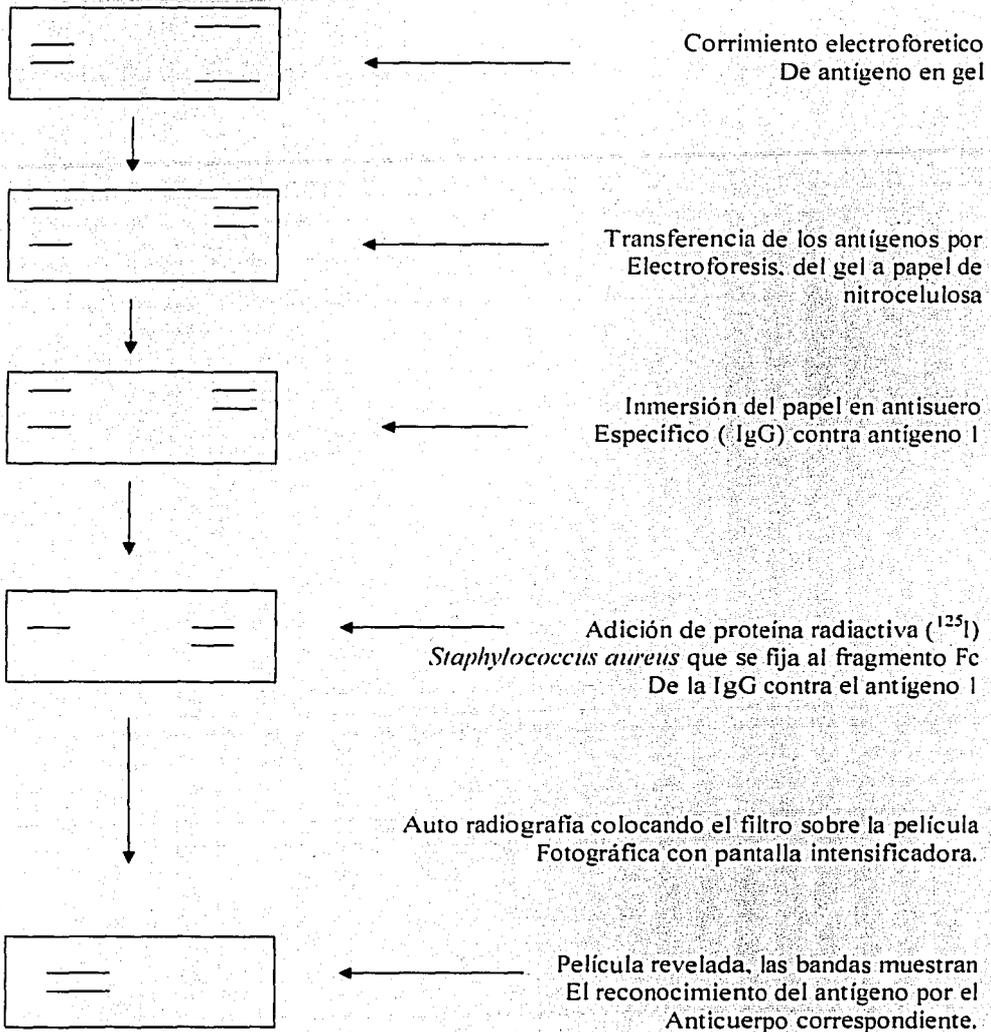


Autorradiografía colocando
El filtro sobre la película
Fotográfica con pantalla
Intensificadora

Película revelada

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 6 Técnica de inmunotransferencia³



1.8 AGENTES ETIOLÓGICOS

Las especies de *Mobiluncus* son bacterias anaerobias móviles, curvas de crecimiento lento que se encuentran sobre todo en la vagina humana en asociación con la vaginosis bacteriana: cuando se observan al microscopio electrónico la pared celular de estos microorganismos presenta un aspecto Gram positivo.^(1,4,7,11) Las especies de *Mobiluncus* carecen de actividad de lipopolisacáridos, son indol, oxidasa, H₂S, gelatina, ureasa y la catalasa negativa y producen ácidos succínico, acético y láctico; se requiere de un medio enriquecido para su desarrollo, que es estimulado por el suero de caballo o de conejo, la maltosa y el glucógeno, la motilidad serpenteante característica, aparentemente se debe a la presencia de múltiples flagelos que generalmente se encuentran unidos subterminalmente en uno de los extremos de la célula bacteriana.^(3,4,7,10) Se han descrito dos especies de *Mobiluncus*: *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris*, el primero designado así en honor a Curtis que fue el primero en aislarlo: es pequeño (1.5 – 1.7 µm de longitud), Gram variable y ligeramente curvo lo que en ocasiones le da un aspecto corineforme y el segundo de Mulieris que significa mujer, es más grande (2.7 – 3.0 µm de longitud), Gram negativo y con aspecto de semiluna.^(7,11) Los bacilos curvos pueden presentarse aislados o en pares, dando la apariencia de "alas en vuelo" y algunas veces se encuentran formando una S muy característica : sus extremos son puntiagudos, no esporulados y móviles: cuando se examina mediante microscopía de luz una preparación en fresco puede observarse que sus movimientos son ondas, muy rápidos y de corta duración con dirección en línea recta o ligeramente arqueada y muestra una actividad de "sacacorcho" o en "espiral", *Mobiluncus* puede aislarse en medios no selectivos como agar sangre para Brucella, agar chocolate , agar BHI, o medios selectivos como agar sangre CNA: forma colonias pequeñas de 2 a 3 mm, de borde entero, translúcidas, convexas y lisas que aparecen después de un período de incubación de 3 a 5 días a 37°C en una atmósfera anaerobia húmeda. Ambas especies hidrolizan el almidón, son sacarolíticas, oxidasa negativa, y requieren de suero de conejo al 2 % para producir un desarrollo visible en caldo de peptona y extracto de levadura, crecen mejor en peptona – levadura suplementada^(3,5,7).

1.9 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Al igual que *Gardnerella vaginalis*, las especies de *Mobiluncus* se encuentran con frecuencia en la vagina de las mujeres con vaginosis bacteriana, en donde se asocian con una flora anaerobia mixta. Las especies de *Mobiluncus*, sobre todo *Mobiluncus curtisii*, se asocian con infecciones del tracto genitourinario superior y algunos casos con efectos adversos sobre el embarazo. Las infecciones extragenitourinarias han incluido abscesos no puerperales en las mujeres y en un hombre y recientemente se han descrito infecciones umbilicales y de heridas de mastectomía.^(1,2,5,7)

2.0 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los bacilos curvos fueron observados por primera vez por Kroning (1895), en muestras de pacientes con problemas ginecológicos los cuales, no correspondían a la flora habitual de la vaginosis. Después de su descubrimiento estos bacilos curvos fueron objeto de diferentes investigaciones morfológicas, bioquímicas y genéticas. Y no fue hasta (1984) que Spiegel, con base en pruebas bioquímicas comprueba que se trata de un género diferente al que llamo *Mobiluncus*.

Sin embargo en México no existen estudios del género *Mobiluncus*, aun cuando en el laboratorio clínico se ha reportado a este microorganismo en muestra de pacientes que cursan con una vaginosis. Por lo que se desconoce su frecuencia en esta población y si existen diferencias sintomatológicas en pacientes con vaginosis cuando *Mobiluncus* esta presente.

3.0 OBJETIVOS

- Determinar mediante pruebas bioquímicas las especies más frecuentes del género *Mobiluncus* en muestras de exudados cervico vaginales de pacientes que acuden al servicio del laboratorio del Hospital General Dr. Gonzalo Castañeda ISSSTE.
- Con ayuda de un cuestionario determinar la sintomatología que presentan las pacientes que cursan con vaginosis cuando se encuentra presente alguna especie de *Mobiluncus*.
- Asociar a *Mobiluncus* dentro de la Vaginosis Bacteriana como uno de los causantes de este síndrome.
- Determinar que diferencias morfológicas se observan en un frote de *Mobiluncus* teñido con la técnica de Gram y la técnica de Gram modificada por Kopeloff.

4.0 HIPÓTESIS

Considerando la información sistematológica de los cuestionarios aplicados a los pacientes y el estudio microbiológico del laboratorio se podrá establecer que especies de *Mobiluncus* son más frecuentes en la población de estudio y determinar si presentan una sintomatología característica.

5.0 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.1 Población de estudio

El estudio se realizó en pacientes que acuden al laboratorio de análisis clínicos del Hospital general "Dr. Gonzalo Castañeda" ISSSTE, previa evaluación del médico e indicación del estudio cervico vaginal.

El estudio se hará observacional, prolectivo, transversal y descriptivo, recibiendo a todas las pacientes que fueron enviadas durante el periodo, que dura el proyecto, el cual fue de seis meses.

5.2 Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

1. Paciente entre 20 – 60 años.
2. Pacientes sexualmente activas.
3. Presentarse al laboratorio sin ingerir ningún antibiótico, antiparasitario ni anticonceptivos dos semanas previas a su estudio.
4. No aplicarse óvulos vaginales u otro medicamento 15 días antes de la toma.
5. No presentar sangrado transvaginal.
6. No haber tenido relaciones sexuales 2 días antes de la realización del estudio..

Criterios de exclusión

1. Pacientes menores de 20 y mayores de 60 años.
2. Pacientes con inactividad sexual o poco frecuente.
3. Haberse presentado al laboratorio bajo el efecto de algún tratamiento con fármaco.
4. Haberse aplicado óvulos vaginales u otro tratamiento 15 días antes de la toma de muestra.
5. Presentar sangrado transvaginal.
6. Haber tenido relaciones sexuales el día anterior a la toma de muestra.

Criterios de eliminación

1. Pacientes que aún cumpliendo con el criterio de inclusión al procesar la muestra se contamine.
2. La muestra sea mínima o insuficiente.

5.3 Diseño estadístico

Se determinó la frecuencia con que se presentó *Mobiluncus* en la población en estudio.

5.4 METODOS

Para este estudio se tomaron muestras de mujeres que acudieron al Hospital Dr. Gonzalo Castañeda ISSSTE, del 20 de noviembre de 2000 a junio de 2001, previa consulta con su médico.

Al momento de la toma de las muestras se registraron los siguientes datos de cada paciente:

- a) Nombre de la paciente
- b) edad
- c) Estado civil
- d) Tratamiento actual
- e) Diagnóstico presuntivo

De las pacientes que presentan secreción se realiza la observación de:

- a) Cantidad de flujo (escaso, moderado y abundante)
- b) Olor
- c) Color
- d) Consistencia
- e) Presencia de inflamación, prurito, etc.
- f) Otros (Número de parejas, inicio de molestias, sangrados etc.)

Para la toma de muestra se colocó al paciente en posición ginecológica, con ayuda de un espejo vaginal estéril se tomará la muestra con tres hisopos estériles de endocervix y de fondo de saco vaginal.

Uno de ellos se colocó en solución salina fisiológica al 0.85%. Con el segundo hisopo se realizó un frote directo para la tinción de Gram con el tercer hisopo se sembró en el agar C.D.C. y agar Mobiluncus.

Procesamiento de la muestra. Al tubo con solución salina se le introdujo una tira reactiva para medición de pH, posteriormente se coloca una gota en un portaobjetos para observar al microscopio el "examen en fresco", e identificar la actividad de sacacorcho de *Mobiluncus*, al resto se le adiciona hidróxido de potasio al 10% para identificar la reacción de aminas. Una vez teñido el frote se observa al microscopio a 100X para identificar a *Mobiluncus*, procediendo a realizar la siembra e incubación a 37 °C por 48 hs en una atmósfera parcial de CO₂. Del crecimiento bacteriano, se observan las características de la colonia (incolora, translúcida, entera, convexa, y con un diámetro de 2 a 3 mm), realizándose una tinción de Gram para observar al *Mobiluncus* al microscopio y proceder a realizar una resiembra para obtener una cepa pura e identificar las especies de *Mobiluncus* (*M. curtisii* y *M. mulieris*) mediante pruebas bioquímicas.

5.5 MATERIAL

a) Material

1. Material de vidrio

- Cajas de pétri (Pirex)
- Termómetro de vidrio de 0 – 100 °C
- Frascos goteros
- Tubos de ensayo de 13 X 100 mm (Pirex)
- Tubos de vidrio con tapa de baquelita (Pirex)
- Portaobjetos de 25 X 75 mm (Ciba – Corning)
- Cubreobjetos de 22 X 22 mm (Ciba – Corning)
- Pipeta graduada de 10 mL (Pirex)

2. Material diverso

- Abatelenguas
- Aplicadores de madera
- Asas bacteriológicas
- Espejos vaginales
- Gradilla de acero inoxidable
- Mechero Fischer
- Tiras reactivas para medición de pH. escala 0 – 14 (Merck)

b) EQUIPO

- Autoclave automática (Baumer – Hi-Vac)
- Balanza granataria (OHAUS)
- Balanza analítica (Mettler)
- Estufa Felisa ajustada a 35 – 37 °C
- Jarras para anaerobiosis
- Microscopio óptico científico (Carl-Zeiss)
- Refrigerador (Toledo)

c) MEDIOS DE CULTIVO

- Agar sangre para anaerobios seg. o C.D.C.
- Agar Mobiluncus
- Medio de enriquecimiento: Caldo de peptona y extracto de levadura suplementadas con glucógeno y suero de conejo o caldo de peptona con extracto de levadura suplementada con glucosa y suero de conejo.

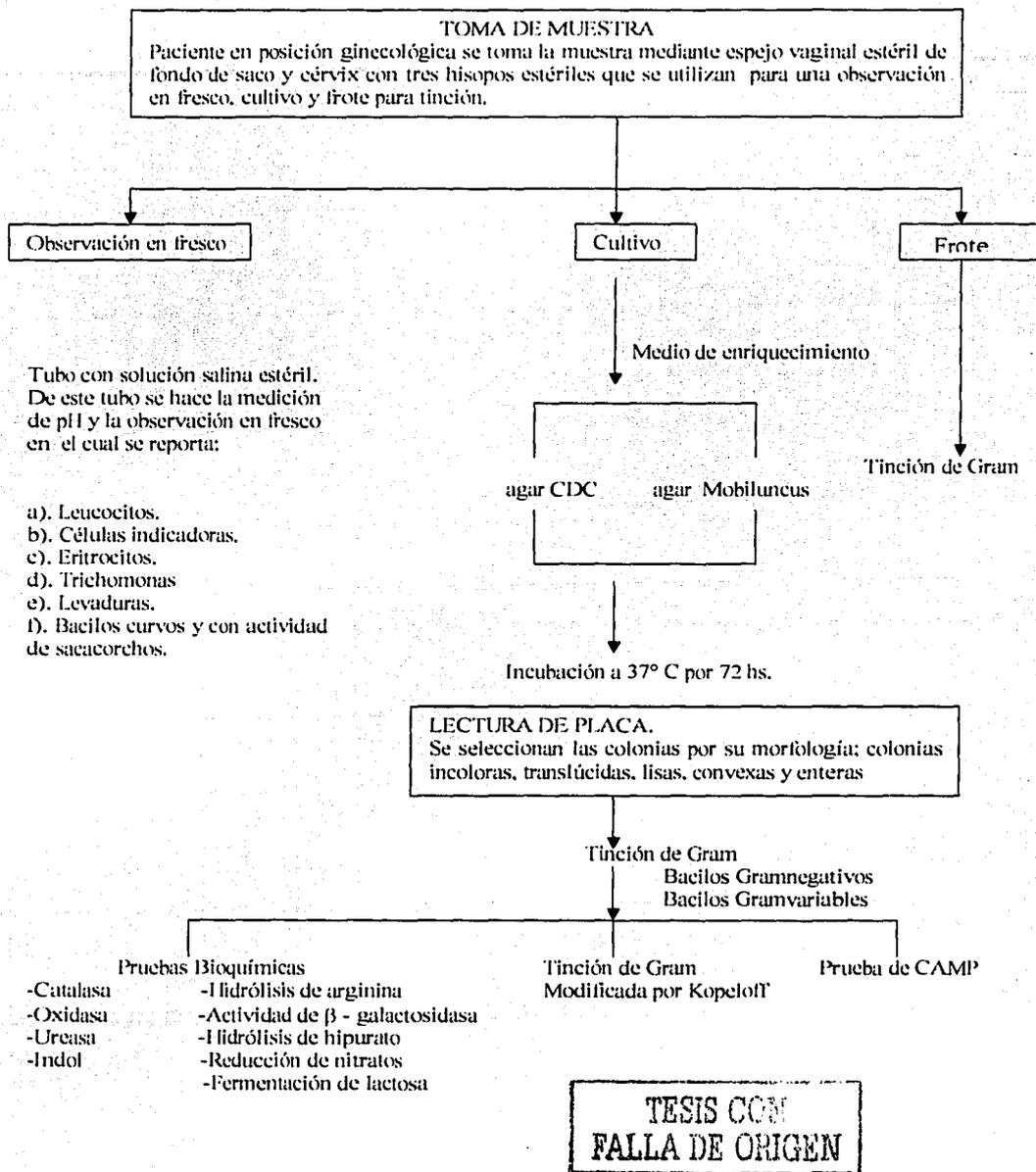
d) REACTIVOS Y SOLUCIONES

- Aceite de inmersión (Hycel de México)
- Dilución alcohol – acetona (1:1). (Sigma)
- Cristal violeta disolución (Sigma)
- Metanol G.R. (Merck)
- Safranina (Sigma)
- Yodo (Sigma)
- Carbol – Fucsina (Merck)
- Hidróxido de potasio al 10 % p / v (Merck)
- Peróxido de hidrógeno al 3 % p / v (Merck)
- Ninhidrina al 3.5 % p / v (Sigma)
- Solución isotónica al 0.85 %

e) MATERIAL BIOLÓGICO

- Cepa control (*M. mulieris* (American Type Culture Collection (ATCC))ATCC 35239 Productos Hemobiológicos).

5.6 DIAGRAMA DE FLUJO



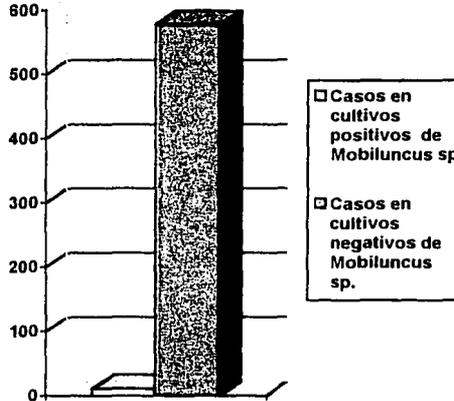
6.0 RESULTADOS

Se analizaron 588 muestras de exudados cervico vaginales obtenidas del laboratorio central del Hospital Dr. Gonzalo Castañeda; obteniéndose 11 aislamientos del género *Mobiluncus*, lo cual significa una frecuencia del 1.87%.

TABLA I

Distribución de cultivos positivos y negativos a *Mobiluncus sp* en exudados cervicovaginales de 588 pacientes.

DESCRIPCIÓN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Casos en cultivos positivos de <i>Mobiluncus sp</i>	11	1.87
Casos en cultivos negativos de <i>Mobiluncus sp</i> .	577	98.13
Total.	588	100



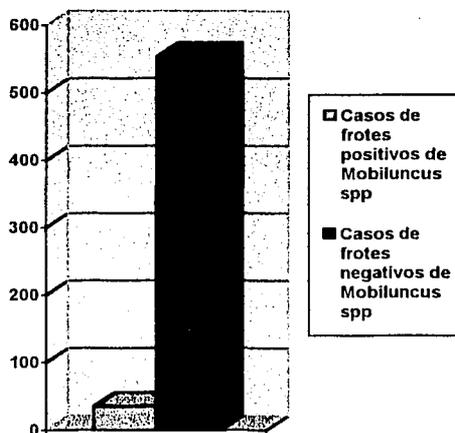
Los 11 cultivos de *Mobiluncus spp* corresponden a un 1.87% de un total de 588 pacientes que acudieron al laboratorio del hospital Dr. Gonzalo Castañeda I.S.S.S.T.E.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA II

Distribución de frotos positivos y negativos a *Mobiluncus spp.* en exudado cervicovaginal de 588 pacientes.

DISTRIBUCIÓN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Casos de frotos positivos de <i>Mobiluncus spp.</i>	35	5.95
Casos de frotos negativos de <i>Mobiluncus spp.</i>	553	94.05
Total	588	100



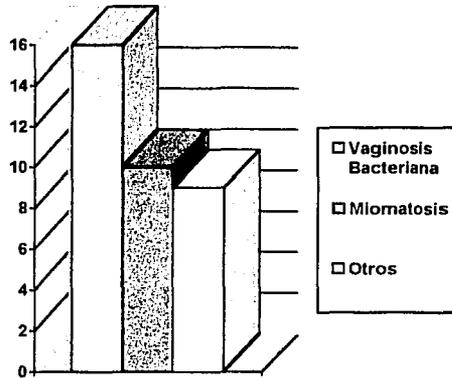
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los 35 frotos positivos a *Mobiluncus spp.* corresponden a un 5.95% de un total de 588 pacientes que acudieron al laboratorio central del Dr. Gonzalo Castañeda ISSSTE.

TABLA III

Distribución de los 35 frotos con *Mobiluncus spp.* en exudados cervicovaginales de 588 pacientes de acuerdo al diagnóstico.

DIAGNÓSTICO	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Vaginosis Bacteriana	16	45.12
Miomatosis	10	28.57
Otros	9	25.71
Total	35	100



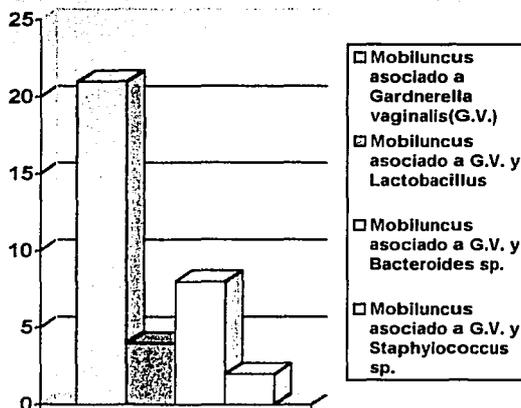
Los 35 frotos con *Mobiluncus spp.* tuvieron los siguientes diagnósticos presuntivos: con miomatosis 45.12%, vaginosis bacteriana 28.57%, y otros el 25.7%.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA IV

Distribución de 35 frotos de *Mobiluncus spp.* y su asociación con otros microorganismos.

Microorganismo	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>Mobiluncus</i> asociado a <i>Gardnerella vaginalis</i> (G.V.)	21	60
<i>Mobiluncus</i> asociado a G.V. y <i>Lactobacillus</i>	4	11.43
<i>Mobiluncus</i> asociado a G.V. y <i>Bacteroides sp.</i>	8	22.85
<i>Mobiluncus</i> asociado a G.V. y <i>Staphylococcus sp.</i>	2	5.72
Total	35	100



En esta tabla se describen los hallazgos de *Mobiluncus* y su asociación con otros microorganismos, encontrando a *G.V.* en asociación con *Mobiluncus* en todos los casos, asociado con bacilos Gram (+) en un 11.42%, asociado con bacilos Gram (-) un 22.85% y cocos Gram (+) un 5.72%.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla V.

Asociación de *Mobiluncus* y *Gardnerella vaginalis* con otros microorganismos encontrados en las 35 muestras de exudados vaginales.

Grupo	Microorganismo	Observación cualitativa	Número de pacientes	%
I	M G.V.	+++ ++++	18	51.42
II	M G.V. B	++++ +++ ++	5	14.28
III	M G.V. L	++ ++ +	4	11.42
IV	M G.V. B	+++ ++++ +	3	8.57
V	M G.V.	++++ +	3	8.57
VI	M G.V. St.	++ +++ +	2	5.7

M - Mobiluncus
 G.V. - Gardnerella vaginalis
 B - Bacteroides
 L - Lactobacillus
 St - Staphylococcus

TABLA VI

Resultados del examen en fresco realizado a las 35 muestras positivas a *Mobiluncus spp.*

Estudio en fresco

Células clave	Leucocitos por campo			PH			KOH	Actividad de sacarorcho
	0-4	5-8	>9	4.5	5	5.5		
17/1	15	3				18	17/1	14/4
4/1	4	1				5	4/1	4/1
0/4			4	1	1	2	0/4	0/4
3/0	3					3	3/0	3/0
0/3	3					3	0/3	3/0
0/2			2		1	1	0/2	0/2
24 presentaron/11 no presentaron							24 presentaron/11 no presentaron	24 presentaron/11 no presentaron

-Por microscopia en fresco se observó que la mayoría de las muestras que presentaron *Mobiluncus spp.* presentan "Células clave" 24 mientras que 11 no presentan "Células clave".

-El pH en el cual se aisló el mayor número de cultivos fue de 5.5; aislándose a *Mobiluncus mulieris* con mayor frecuencia.

-El 77% de las muestras dieron prueba positiva de KOH al 10% y en un 77% de las muestras se observó la actividad de sacarorcho .

TABLA VII

Distribución de los 35 cultivos de *Mobiluncus spp.* aislados en agar C.D.C. y agar Mobiluncus.

Agar	<i>Mobiluncus mulieris</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
C.D.C.	7	1
Mobiluncus	9	2

El agar en el cual se obtuvo el mayor número de aislamiento fue agar Mobiluncus, aislándose mejor *Mobiluncus mulieris* en agar obteniendo 11 cepas puras distribuidas de la siguiente manera: *Mobiluncus mulieris* (9) y *Mobiluncus curtisii* (2).

La cepa que más se aisló en agar C.D.C. fue *Mobiluncus mulieris* aislando siete cepas y una cepa de *Mobiluncus curtisii*.

TABLA VIII

Cultivos de *Mobiluncus mulieris* y *Mobiluncus curtisii* aislados de exudados vaginales.

	<i>Mobiluncus curtisii</i>	<i>Mobiluncus mulieris</i>
Cepas aisladas	2	9

Las 11 cepas de *Mobiluncus* fueron estudiados y clasificados de acuerdo a las pruebas bioquímicas obteniendo nueve cepas de *Mobiluncus mulieris* y dos cepas de *Mobiluncus curtisii*.

TABLA IX

Características de las muestras con aislamiento positivo para *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris*.

No de aislamiento	Cepa	Catalasa	Oxidasa	Ureasa	Arginina	Lactosa	Hidrólisis de Hipurato	Nitrato	CAMP
1	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
2	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
3	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
4	<i>Mobiluncus curtisii subsp. holmesii</i>	-	-	-	+	-	+	+	Débil
5	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
6	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
7	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
8	<i>Mobiluncus curtisii subsp. curtisii</i>	-	-	-	+	-	+	-	Débil
9	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
10	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte
11	<i>Mobiluncus mulieris</i>	-	-	-	-	-	-	-	Fuerte

Con la prueba reducción de nitratos se pudo identificar a *Mobiluncus curtisii subespecie holmesii* y *Mobiluncus curtisii subespecie curtisii* la cual es positiva para el primero y negativa para el segundo.

Foto 1. Tinción de Gram de una secreción vaginal con flora bacteriana normal (Lactobacillus spp. 100 X)

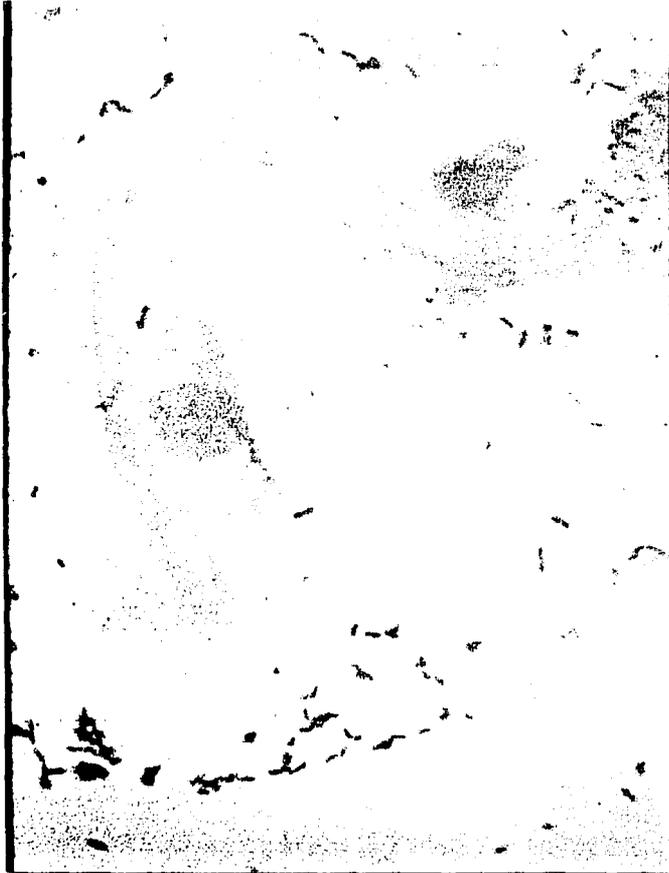
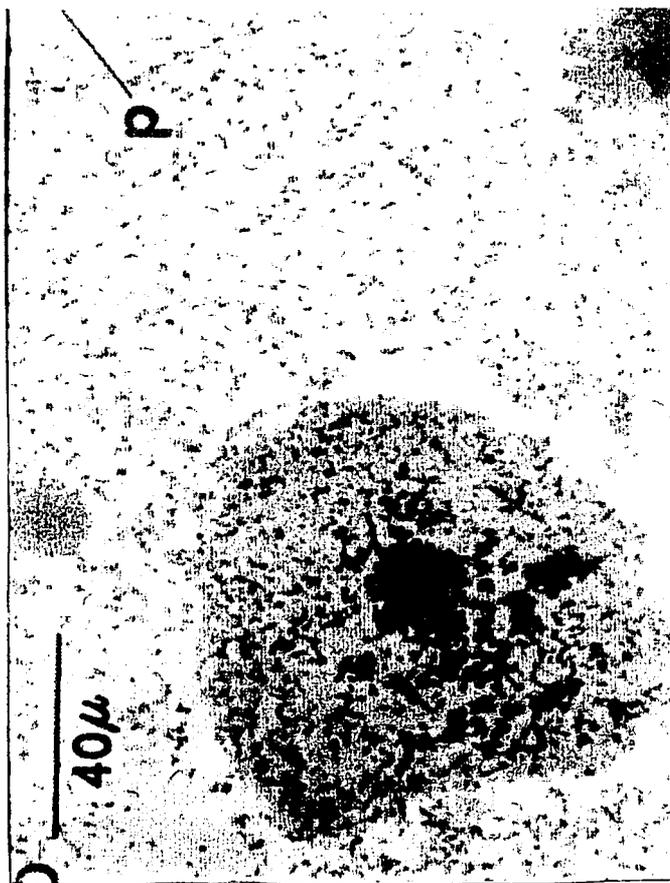


Foto 2. Tinción de Gram de una secreción vaginal con vaginosis bacteriana (*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp., *Bacteroides* sp. 100 X)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 3. Tinción de Gram de una secreción vaginal de una paciente con vaginosis bacteriana y los bacilos curvos anaeróbicos (100 X)



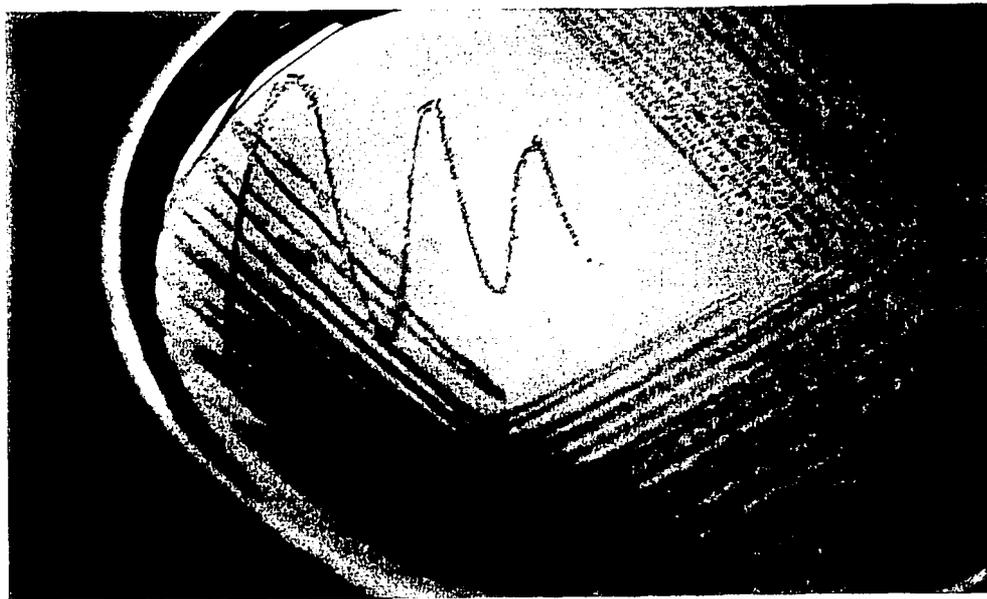
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 4. Tinción de Gram de un cultivo puro de bacilos curvos anaeróbicos (100 X)



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 5: Cultivo puro de Mobiluncus mulieris en agar Mobiluncus



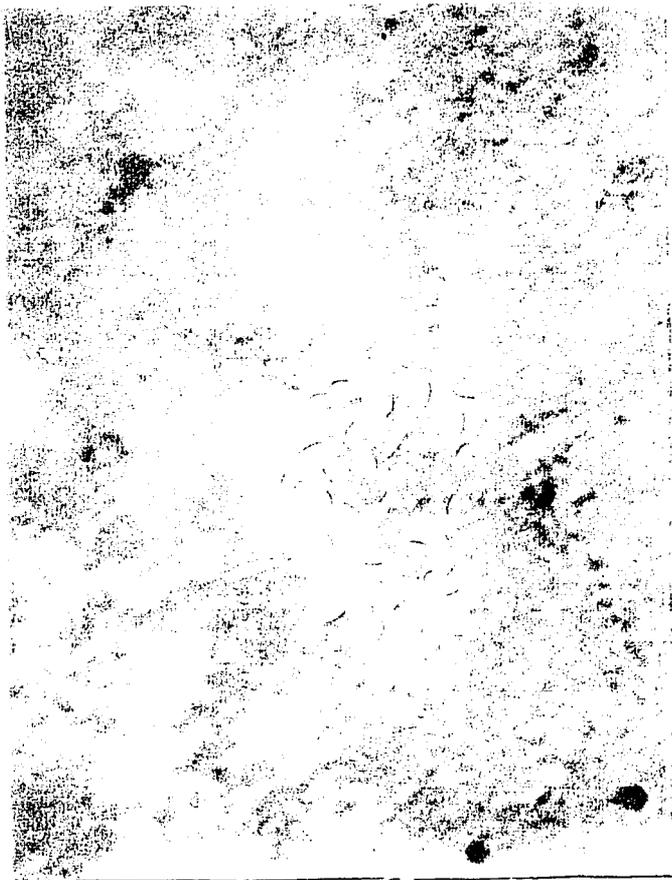
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 6. Cultivo puro de Mobiluncus curtisii en agar C.D.C.



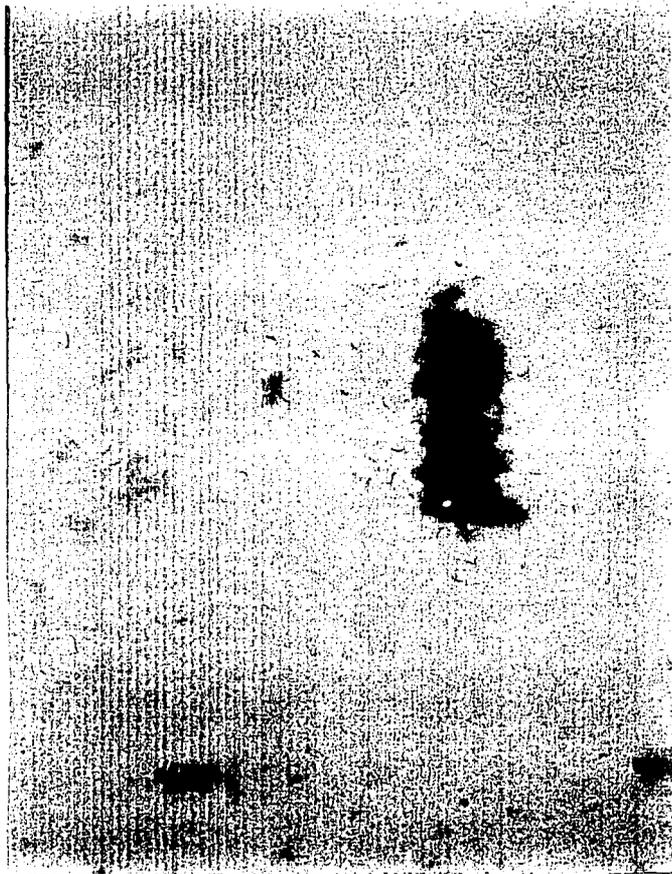
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 7. Tinción de Gram de un cultivo puro de Mobiluncus mulieris (100X).



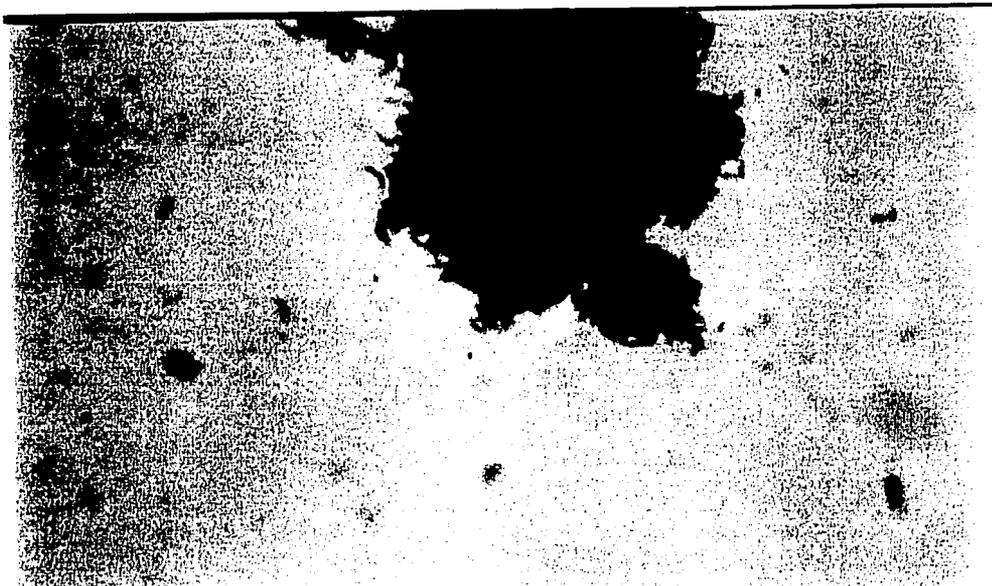
TESIS CON
SALA DE ORIGEN

Foto 8. Tinción de Gram de un cultivo puro de Mobiluncus curtisii (100 x).



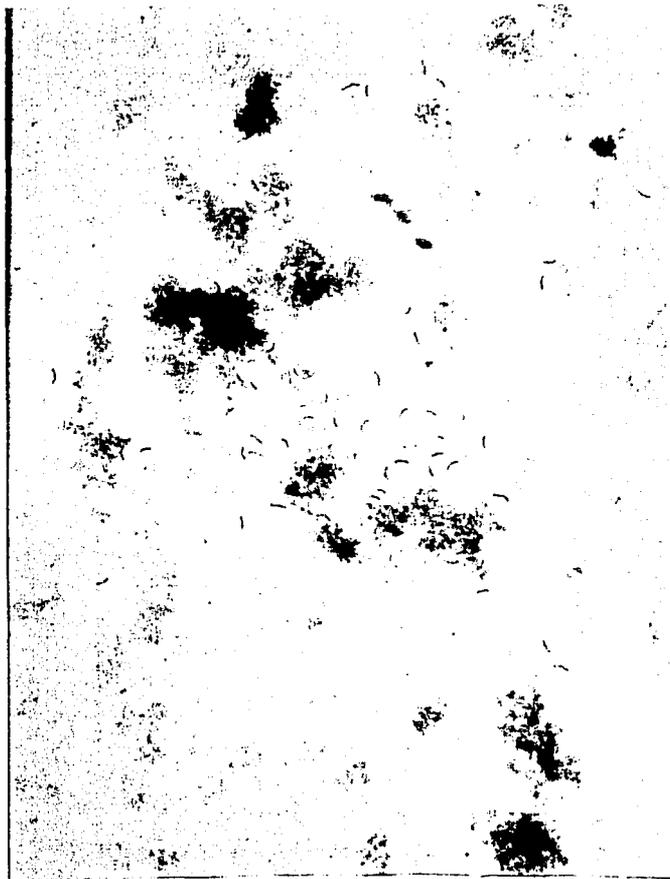
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 9. Tinción de Gram modificada por Kopeloff de Mobiluncus mulieris (100 X).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Foto 10. Tinción de Gram modificada por Kopeloff de Mobiluncus curtisii (100 X).



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

7.0 DISCUSIÓN

La frecuencia de *Mobiluncus spp.* mediante el cultivo de las 588 muestras fue muy baja (1.87%). TABLA I ; esto se debe a que *Mobiluncus* es un microorganismo muy difícil de aislar , y necesita un tiempo más largo para su identificación, además de que es anaerobio estricto, requiere una baja concentración de oxígeno (5 % de oxígeno), y la simple colección de la muestra expone a esta bacteria anaeróbica a niveles más elevados de oxígeno y la concentración de este comparándolo con otros patógenos y microorganismos de la flora normal es muy baja por lo que compiten probablemente por los nutrimentos del medio de cultivo^(1,3,8.)

Al observar los frotos teñidos por Gram se encontró que *Mobiluncus* está acompañado siempre por *Gardnerella vaginalis*, lo que nos indica que *Mobiluncus* no es el único microorganismo causante de la Vaginosis Bacteriana. Algunos autores argumentan que la Vaginosis Bacteriana está caracterizada por la presencia de *Gardnerella vaginalis*, *Micoplasma hominis*, *Bacteroides sp.*, *Mobiluncus spp*^(9,12,14). Como se puede observar en la grafica No. IV, tabla V y foto No. 2 y 3.

La identificación de *Mobiluncus* por microscopia de los frotos teñidos por Gram fue del 5.95% para cultivos positivos a *Mobiluncus* (Tabla I. Este porcentaje es muy bajo comparándolo con los obtenidos por Spiegel et. al. ⁽²⁶⁾ quien encontró a *Mobiluncus* en el 51%. En otro estudio Roberts et. al. ⁽²⁷⁾ detectó a *Mobiluncus* en el 90% de las muestras. Esto se debe a la capacidad y experiencia de estos investigadores al observar por microscopia la morfología de *Mobiluncus* o la cantidad de pacientes con *Mobiluncus* la cual es menor que la se encuentra en donde realizó esta investigación.

La frecuencia de *Mobiluncus* en mujeres con un diagnóstico clínico de Vaginosis Bacteriana es del 45.12%: (Tabla III) este resultado es mayor al observado por Marilyn C. et. al. ⁽²⁷⁾ quien encontró a *Mobiluncus* en el 21 % de mujeres con Vaginosis Bacteriana. Si lo comparamos con el estudio hecho por Spiegel et. al. ⁽¹¹⁾ encontraron un 50 %, este resultado es parecido al encontrado, en nuestro estudio sin embargo esta variación de porcentajes puede deberse a las distintas técnicas de aislamiento y técnicas de identificación de *Mobiluncus*. Aunque en algunos casos como en el grupo V se encontró mayor cantidad de *Mobiluncus* y de *Gardnerella vaginalis* menor cantidad, sin embargo presenta las características de una Vaginosis Bacteriana.

Además se observó una frecuencia de 28.57 % en mujeres con diagnóstico de Miomatosis de las cuales, tres de ellas presentaban cáncer cervical, este resultado es muy importante ya que se pudiera relacionar a *Mobiluncus* con el diagnóstico de carcinoma cervical y que

hayan tenido sangrados transvaginales ya las pacientes estudiadas presentaban este síntoma: esta observación se relaciona con las observadas por J K Schwebke et.al. ⁽²⁸⁾

Cuando encontramos poca cantidad de *Lactobacillus* como es el caso del grupo III, se puede considerar que la paciente inicia con una Vaginosis Bacteriana por que la respuesta inmune origina mayor flujo quizás por la acción del ácido succínico producido por los *Bacteroides*, así la cantidad de leucocitos se encuentra disminuida y empiezan a desaparecer los Lactobacilos, observando un aumento de *Gardnerella vaginalis* y de *Mobiluncus* como en los grupos I, II, IV, V.

Las características observadas en el examen en fresco se detecto que *Mobiluncus* se presenta en aquellas pacientes que tienen un pH vaginal de 5.5, prueba de aminas positiva, poca cantidad de leucocitos debido a que no se produce inflamación, existen células clave, no se encuentran Lactobacilos y se observa a *Mobiluncus* con su actividad de sacacorcho. (Tabla VI). Estas características sugieren la presencia de *Mobiluncus* aunque éstas concuerdan también con *Gardnerella vaginalis*, por tal motivo no es exclusivo de *Mobiluncus* y se requiere realizar la tinción de Gram para diferenciar la morfología bacteriana del microorganismo.

Se pudieron aislar once cepas de *Mobiluncus*; nueve de *Mobiluncus mulieris* la cual creció en agar Mobiluncus y agar C.D.C. como se observa en la foto No. 5 y dos de *Mobiluncus curtisii* como se observa en la foto No. 6, a pesar de que es una bacteria anaerobia estricta se pudo aislar en estos medios de cultivo los cuales demostraron ser efectivos para crecimiento bacteriológico: siendo su crecimiento como colonias redondas, incoloras, translúcidas, convexas, con un diámetro de 2-3 mm después de una incubación de 72 hr. a 37° C posteriormente estas fueron estudiadas y clasificadas de acuerdo a las pruebas bioquímicas (Tabla IX).

Gracias a la tinción de Gram se puede identificar la presencia de morfotipos de *Mobiluncus* en muestras de exudados cervico vaginales de pacientes femeninas con Vaginosis Bacteriana de los cultivos puros de *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris* como se observa en las fotos 7 y 8.

Al realizar la tinción de Gram modificada por Kopeloff a los cultivos puros de *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris* se observa mayor nitidez al hacer la diferencia de los morfotipos de *Mobiluncus mulieris* y *Mobiluncus curtisii*, por esta técnica al compararla con la técnica de Gram.

Basándose en los resultados obtenidos en el diagnóstico final de laboratorio de las 35 muestras positivas a *Mobiluncus* detectamos que el 31.42 % (11 muestras) tuvieron desarrollo de *Mobiluncus* y el 68.57 % (24 muestras) no presentaron desarrollo microbiano a *Mobiluncus* : sugiriéndonos que la Vaginosis Bacteriana causada por *Mobiluncus* puede ser el problema principal de la patología existente en estas pacientes, y es aquí donde el aislamiento de anaerobios, especialmente de *Mobiluncus* adquiere importancia; ya que podría ser el microorganismo causante del problema y por ser un anaerobio estricto no se puede detectar por técnicas microbiológicas de rutina empleadas en el laboratorio central del Hospital.

La Vaginosis Bacteriana esta presente en mujeres en edad reproductiva (22 – 40 edad), lo mismo ocurre en pacientes cuyas muestras fueron positivas a *Mobiluncus*, esto nos da un indicio de que *Mobiluncus* puede ser un microorganismo que se transmite sexualmente.

Así tanto la identificación de *Mobiluncus* por tinción de Gram o por cultivo de las 35 muestras estudiadas con un diagnóstico de Vaginosis Bacteriana y ninguna de las pacientes presentaba otro diagnóstico: este resultado concuerda con otros investigadores que nos indican que *Mobiluncus* es exclusivamente aislado de mujeres con Vaginosis Bacteriana y no se aísla de pacientes que tienen otro problema ginecológico. ^(11,13,14,15,20,23,27,36)

8.0 CONCLUSIONES

- ❖ El aislamiento de *Mobiluncus spp.* es muy difícil, debido a que es un microorganismo estricto, sin embargo fue posible aislarlo en el laboratorio central del Hospital Dr. Gonzalo Castañeda del I.S.S.S.T.E.
- ❖ La frecuencia de *Mobiluncus* en 588 muestras de exudados cervico vaginales fue de 1.87% de 35 muestras positivas a *Mobiluncus*.
- ❖ La especie más frecuente de *Mobiluncus* en nuestro estudio fue *Mobiluncus mulieris*, aislándose nueve cepas y dos cepas de *Mobiluncus curtisii*.
- ❖ Con la ayuda del cuestionario se pudo determinar la sintomatología con la que cursa una paciente con *Mobiluncus*, encontrando que esta coincide con la sintomatología de la Vaginosis Bacteriana, además que las pacientes presentan como síntoma particular sangrados transvaginales.
- ❖ Las diferencias observadas con la técnica de Gram y la técnica modificada por Kopeloff, son muy diferenciales ya que con la técnica de Kopeloff se observa mayor nitidez en los morfotipos de *Mobiluncus*.
- ❖ Se observó que *Mobiluncus* esta acompañado siempre de *Gardnerella vaginalis* lo que nos indica que *Mobiluncus* no es el único microorganismo causante de vaginosis bacteriana.
- ❖ Es necesario seguir trabajando con *Mobiluncus* para encontrar la mejor técnica para probar la presencia de *Mobiluncus* como causante de Vaginosis Bacteriana.

9.0 ANEXO 1.

PRUEBAS BIOQUÍMICAS

BETA-GALACTOSIDASA. (ONPG)

FUNDAMENTO

Demuestra la presencia o ausencia de la enzima β -galactosidasa utilizando el compuesto orgánico o-nitrofenil- β -D- galactopiranosido (ONPG).

Esta prueba proporciona un rápido resultado positivo con bacterias. fermentando lentamente la lactosa, por lo que la prueba de ONPG reemplaza muy ventajosamente las propiedades de la prueba de fermentación de lactosa. Bajo el efecto de la enzima beta-galactosidasa, formada por algunas bacterias se libera orto-nitrofenol de color amarillo a partir del sustrato incoloro.

A tubos que contienen 0.5 mL de medio prueba que se inocula con una asada de bacterias se inoculan a 37 °C los resultados se leen después de 4 horas y finalmente a 18 horas para la producción de un color amarillo.

HI DRÓLISIS DE HIPURATO DE SODIO

FUNDAMENTO.

La enzima actúa sobre el hipurato sódico produciendo benzoato y glicina, los cuales pueden identificarse con cloruro férrico y ninhidrina, respectivamente, con acción de la enzima de hipurato hipuricaza.

En el caso de benzoato, su presencia se demuestra mediante la formación de un precipitado de color café con leche, que permanece estable durante más de 10 minutos. Por su parte, la existencia de glicina se pone de manifiesto al aparecer una coloración púrpura o morada en el medio de reacción.

Se emplea una solución de hipurato al 10 % en buffer de fosfato de Sörensen 0.067 M pH 6.4.

A tubos que contienen 0.5 mL de esta solución, se inocula con una asada de bacterias y se incuba a 37 °C durante dos horas, luego se añade 0.2 mL de solución de ninhidrina al 3.5% disuelta en partes iguales de acetona-butanol, el desarrollo de un intenso color púrpura en cinco minutos indica una prueba positiva de hidrólisis de hipurato.

Control positivo *Streptococcus agalactiae*.

Negativo. Tubo sin inóculo.

PRUEBA DE OXIDASA

FUNDAMENTO

Determina la presencia de oxidasa. Esta basada en la producción bacteriana de una enzima oxidasa. Esta reacción de la oxidasa se debe a un sistema citocromooxidasa que activa la oxidación del citocromo reducido por el oxígeno molecular el que a su vez actúa como aceptor de electrones en la etapa terminal del sistema de transferencia de electrones

Se emplea una solución de clorhidrato de dimetil parafenilendiamina al 1%. recién preparada debido a que se oxida fácilmente y la positividad se observa al llevarse al cambio de color (rosa a negro) de la colonia probada. Esta prueba se realiza sobre una placa o bien sobre un papel filtro impregnado del reactivo y al que se adiciona la colonia.

Control positivo *Aeromonas sp.*

PRUEBA DE CATALASA

FUNDAMENTO

Comprobar la presencia de la enzima catalasa

La enzima catalasa se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo. las bacterias que no poseen el sistema no pueden descomponer el peróxido de hidrógeno, la cual se lleva a cabo a través de la acción de dos enzimas: 1). Catalasa (oxidoreductasa del peróxido de hidrógeno), y 2). Una peroxidasa nicotinamida adenindinucleótico (NAD) reducido, nicotinamida adenindinucleótico (NADP), además en esta descomposición una molécula actúa como el sustrato reducido por los átomos de hidrógeno cedidos por el dador.

INTERPRETACION

Prueba positiva: formación inmediata de burbujas bien visibles (formación de burbujas)

PRUEBA REDUCCIÓN DE NITRATOS

FUNDAMENTO

Determinar la capacidad de un organismo a reducir el nitrato en nitritos o en nitrógeno libre. La reducción de nitrato en nitrito y en gas nitrógeno tiene lugar generalmente en condiciones anaeróbicas, en las cuales un organismo obtiene su oxígeno del nitrato. Esta respiración anaeróbica es un proceso de oxidación por el cual las sustancias inorgánicas, especialmente nitrato y sulfato proporcionan oxígeno para que sirva como aceptor de electrones para suministrar energía. La reducción del nitrato en gas nitrógeno u óxido nítrico se denomina desnitrificación. Esta reducción se manifiesta por la presencia de un producto final catabólico o la ausencia de nitrato en el medio.

INTERPRETACION

Prueba positiva color rosado a rojo intenso

PRUEBA DE FERMENTACION DE HIDRATOS DE CARBONO

FUNDAMENTO

Determina la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico, produciendo ácido, o ácido con gas visible. La fermentación es un proceso metabólico de oxidación-reducción anaeróbico en el cual un sustrato orgánico sirve como el aceptor de hidrógeno final (aceptor de electrones) en lugar del oxígeno. Los productos finales de la fermentación bacteriana son: ácido láctico, ácido acético y fórmico, ácido láctico y alcohol etílico, alcohol etílico, acetilmetilcarbinol, ácido succínico a ácido propiónico, CO₂, ácido butírico a alcohol butílico.

Positivo color amarillo (ácido)

Negativa color rosa-rojizo (alcalina)

ANEXO II.

CUESTIONARIO QUE SE LE APLICÓ A CADA PACIENTE.

DIAGNÓSTICO:

FECHA:

DIAGNÓSTICO ETIOLÓGICO:

BAÑO NORMAL EN LA MAÑANA:

NOMBRE DEL PACIENTE:

No. DE REGISTRO:

EDAD:

NOMBRE DEL MÉDICO:

DIRECCIÓN

SERVICIO:

CAMA:

TELÉFONO:

SINTOMATOLOGÍA.

PRURITO----- LEUCORREA----- DOLOR-----

ARDOR----- No. DE PAREJAS----- INICIO DE MOLESTIAS-----

SANGRADO-----

OBSERVACIONES MACROSCÓPICAS.

COLOR DEL FLUJO----- COLOR DE LA MUCOSA-----

OTROS-----

TOMA DE LA MUESTRA.

pH----- SOL. SALINA----- MEDIOS UTILIZADOS-----

CANTIDAD-----

TOMA DE ANTIBIÓTICOS O COLOCACIÓN DE POMADAS U ÓVULOS.

MEDIOS:

C.D.C.

MOBILUNCUS.

FROTE:

10. REFERENCIAS

1. Mandell B D, Bennett D J. Enfermedades infecciosas principios y práctica. 4a. ed. Ed. Panamericana, 1997; vol. 2: 2298-2299
2. Lynch M J, Bernard J. Métodos de laboratorio. 2a. ed. Ed. Nueva editorial Interamericana. 1997: 60-62.
3. Torres A I, Carlos J C. Mobiluncus: ¿Nuevo patógeno microbiano?. Infectología. 1986; 2: 44-99.
4. Balows A C, Hausler W J, Herman J K. Manual of clinical microbiology. 5a. ed. American society microbiology Washington 1991.
5. Finegold S M y Barón E J. Diagnóstico microbiológico. 7a ed. Ed. Médica Panamericana Buenosaires. 1992: 48-56.
6. Berkow, Robert et. al. El Manual Merck (Diagnóstico y terapéutico). 7a. ed. Ed. Nueva Editorial Interamericana. 1984: 124-128.
7. Guyton, Artur C A. Fisiología Humana. 9º ed. Ed. Nueva Editorial Interamericana. México D. F. 1984: 504-535.
8. Conde Gonzalez, Carlos J, Calderón Jaimes. "Características microbiológicas de la vaginosis bacteriana". Ginecol Obstret Méx.: 1987; 55: 74-79.
9. Spiegel C A, Roberts M. Mobiluncus gen. nov., Mobiluncus curtisii subspecie curtisii sp. nov. Mobiluncus curtisii subspecie holmesii subgp nov. and Mobiluncus mulieris sp. nov. Curvet Rods from the human vagina. Int J Bacteriol. 1984; 34: 177-184.
10. De Boer J M, Platema F H. Ultrastructure of the *in situ* adherence of Mobiluncus to the vaginal epithelial cells. Can J Microbiol. 1988; 34:757-766.
11. Spiegel C A, Amsel R H K. Diagnostic of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. J Clin Microbiol. 1983; 18: 170-177.
12. Spiegel C A, Amsel R, Eschenbach D., et. al., Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. N Engl J Med. 1980; 303: 601-607.
13. Spegel C A. Mobiluncus curtisii and Mobiluncus mulieris curved motile bacteria from the human vagina. Clin Microbiol News. 1984; 6: 163-165.
14. Hjelm E A, Hallen U, Forsum, and Wallin J. Motile anaerobic curved rods in non-specific vaginitis. J Sex Trans Dis. 1982; 1: 9-14.
15. Hjelm E A, Hallen U, Forsum and Wallin J. Anaerobic curved rods in vaginitis, Lancet, 1981.ii:1353-1354.

16. Spiegel C A, Eschenbach D A, Amsel R and Holmes K. Curved anaerobic bacteria (nonspecific) vaginosis and their response to antimicrobial therapy. *J Infect Dis.* 1983; 148: 817-822.
17. Fonh M J, Lukehart S A, and Hiller S L. Production and charecterization of monoclonal antibodies to Mobiluncus species. *J Clin Microbiol.* 1988; 26: 2598-2603.
18. Schwebke J R, Hillier S L, Fonh M J, and Lukehart S A. Demonstration of heterogenity among the antigenic proteins of Mobiluncus species. *J Clin Microbiol.* 1990; 28:463-468.
19. Vetere A S P, Barriello E, Fontaine P J, Reed and D Taylor-Robinson. Characterization of anaerobic curved rods (Mobiluncus sp). isolated from the urogenital tract. *J Med Microbiol.* 1987; 23: 279-288.
20. Women wth lower genital tract. Infection in tree diferent countries. *Euro J Tract Dis.* 1983; 1: 73-75.
21. Species from clinical specimens after alkaline treatmen. *Acta Path Microbiol Immunol Scand sect.* 1986; 94: 113-116.
22. S I Hiller, C W Critchlow, C E Stevens. Microbiological, Epidemiolocal and clinical correlates of vaginal colonization by Mobiluncus species genitourin Med. 1991; 67: 26-33.
23. Sprott M S, Ingham H R, Pattmon RS, Sisson PR, Selkon J: Characteristics of motile curved rods invaginal secretions. *J Med Microbiol* 1983; 16: 175-82
24. Jawest, Melinck y Geort F B. *Microbiología Med. Ed. El Manual Moderno.* 1999 338, 817.
25. Pratick R Murray, Ken S. *Medical Microbiology. Third edition. Ed Mosby.* 1999., 294., 352-357.
26. Duerden B I, Reid T M. *Microbiología Enfermedades Infecciosas. Ed. Limusa. México España.* 1993: 127-130, 348-349.
27. Elmer W Koneman. *Diagnostico microbiologico. Editorial medica panamericana Buenos Aires - Argentina.* 1998: 1197-12009, 2418-2434.
28. Sharon Hillier King, Holmes K. *Bacterial Vaginosis Approach to common Clinical Syndromes.* 1998: 547-558.
29. Jack D Sobel, Donal Kaye. *Urinary Tract Infection. Mayor Clinical Syndromes.* 1998: 773-792.
30. Jull E Clarridge, Alice S Weissfeld. *Laboratory Diagnosis of Urinary Tract Infections. American Society for microbiology. Comitech 2A.* 1997: 1-13.
31. Cedric A Hims, John H L. *Microbiología Médica. publicaciones Mosby/Doyma,* 1995 : 24.12-24.15.

32. Linde Thompson, Rock T. Ginecologia Quirurgica 7a. ed. Ed. panamericana, 1993: 56-70, 1010-1018.
33. Roy M, Pitkin T. Clinical Obstetrics and Gynecological. Ed. Interamericana Mc Graw-Hill, 1991: 563-566.
34. Williamson S, Newark R. La parte escondida del clitoris. El investigador. 1999; 15 : 24-25.
35. Canut A Blasco, Chimeno M V. Enfermedades de transmisión sexual. Aspectos generales y síndromes clínicos: 1998 : 589-608.
36. Ralph C Benson, autotes asociados. Diagnostico y tratamiento ginecobstetricos. 12a. ed. Ed. El manual maderno, 1998:25-46.
37. Sharon L. Hillier Ph D. Diagnostic microbiology of bacterial vaginosis. American J Obstet Gynecol. 1995: 455-462.
38. Jens J. platz-Chistensen M D. Endotoxin and interleukin-1 in the cervical mucus and vaginal fluid of pregnant women with bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol, 1993; 11: 1161-1166.
39. Roger L Cook, Vicente Redondo-Lopez, Cheryl Schmitt. Clinical, Microbiological, and biochemical Factors in recurrent Bacterial Vaginosis. J Clin Microbiol: 1992;30 (4) : 870-875.
40. Giandomennico Rottini, Aldo Dobrina, Ornella Forgiarini, Identification and Partial Characterization of Cytolytic Toxin produced by *Gardnerella vaginalis*. Infectian and immunity, 1990; 11: 3751-3757.
41. Homorary senior, Morgan research. A Longitudinal study of bacterial vaginosis during prenanacy. Br J of Obst Ginecol, 1994; 101: 1048-1053.
42. Rivera M C. y col. Prevalencia de vaginitis y vaginosis bacteriana: asociación con manifestaciones clínicas, de laboratorio y tratamiento. Ginecologia y obstretricia de México. 1998; 64: 26-31.
43. Schwebek J R, Lukehart S A. Identification of two New antigenic subgroup within the genus *mobiluncus*. J clin Microbiol 1991; 10: 2204-2208.
44. Angelika Skarin. Antigenic and biochemical characteristics of *Mobiluncus mulieris* and *Mobiluncus curtisii*. Acta path microbiol scan sect. 1986; 94: 126-133.
45. Carl Pahlson, Anders Hallen. Improved of *Mobiluncus* species from clinical specimens after alkalina treatment. Acta path microbiol immunol scand. 1986; 94: 113-116.
46. George M. Carlone Myrtle L. Cell wall characteristics of *mobiluncus* species. Int J Syst bacteriol. 1986; 36 : 288-296.

47. Marilyn C Roberts, Sharon L Hillier, Fritz D Schoenknecht. Comparison of Gram Stain, DNA probe, Culture for the Identification of species of *Mobiluncus* in Femate Genital Specimens. 1985; 152 :74-77.
48. Robert P Nugent, Marijane A. Krohn, Sharon L Hillier. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. J Clin Microbiol. 1995;29 (2) : 297-301.
49. Thomason P C, Schreckenberger W N, Riff L J. Clinical and microbiological characterization of patients with nonspecific vaginosis associated with motile, curved anaerobic rods. J Inf Dis. 1984; 149 (5) : 801-807.
50. James A McGregor, Janice I French, Kyung S M. Premature rupture of membranes and bacterial vaginosis. Am J Obstet Gynecol. 1993. 169: 463-466.
51. David E. Soper M D. Bacterial vaginosis and postoperative infections. Am J Obstet Gynecol. 1993; 169: 467-469.
52. Sebastian Faro, Martens M D, Maurizio M PhD. vaginal flora and pelvic inflammatory disease. Am J Obstet Gynecol. 1993; 169:470-474.
53. Elisabet Holst. Reservoir of Four Organisms Associated with Bacterial Vaginosis Suggests Lack of Sexual Transmission. J Clin Microbiol. 1990;28 : 2035-2039.
54. Ralph C. Benson. Diagnóstico y Tratamiento Ginecoobstetricos. 12a. ed. Ed. El manual Moderno S.A. de C.V.. 1994: 22-57.
55. Roger Y Stanier, John L ingraham Mark L Wheelis. Microbiologia, 2a. ed. Ed. Reverte S.A. Barcelona-Bogota, 1996 : 155-178.
56. Vaginosis Bacteriana. <http://www.niaid.gov/factsheets/stdvad.htm>. 1999;(Internet).
57. Infección vaginal. <http://www.amaassn.org/special/std/support/educate/stdvag.htm>. 1999.(Internet).
58. Vaginosis Bacteriana. <http://kali.ucsf.edu/medical/std/2098.3906.html>. 1999.(Internet).
59. Infección vaginal y vaginitis. <http://www.mediconsult.com/women/shareware/vaginal/> 1999.(Internet).
60. Enfermedades de Transmisión Sexual. <http://www.drscope.com/privados/pac/gineobs/go114/cervical.html>. 1999.(Internet).
61. Enfermedades de Transmisión Sexual. <http://www.drscope.com/privados/pac/gineobs/go114/noulcera.html>. 1999(Internet).
62. Cáncer de cérvix. <http://www.unizar.es/gine/229gin.htm>. 2001.(Internet)



63. *Mobiluncus*. HYPERLINK. [HTTP://WWW.CTV.ES/SVAMC/"VI" "P6"](http://www.ctv.es/svamac/vi/p6). (Internet).

64. Infección vaginal. <http://www.wellweb.com/index/QVAGINITIS.HTM>. 1999. (Internet).

65. Quo I. Sexo. Anatomía elemental: ¿Cómo está constituido el aparato genital externo femenino?. edición especial 2001:08: 109.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Glosario de abreviaturas

- ATCC : American Type Culture Collection
- B : Bacteroides
- C.D.C. : Agar base de sangre
- G.V. : *Gardnerella vaginalis*
- L. : Lactobacilos
- M : *Mobiluncus*
- OCI : Orificio cervical interno
- OCE : Orificio cervical externo
- PSD : Agar peptona y almidón
- St. : Staphylococcus
- V.B. : vaginosis bacteriana

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN