

## HALLAZGOS CLINICOS Y MICROBIOLÓGICOS EN PACIENTES CON VAGINOSIS BACTERIANA

*Omaira A. Bermúdez Romero; Yudith M. Martínez Valera; Beatriz M. Nieves Blanco  
Laboratorio de Bacteriología Anaeróbica "Dr. Roberto Gabaldón", Departamento de Microbiología,  
Escuela de Bioanálisis. Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes.*

### RESUMEN

Se estudiaron 63 pacientes que asistieron a consulta de planificación familiar con la finalidad de determinar la frecuencia y etiología de la Vaginosis Bacteriana (VB) en dichas mujeres, así como también se compararon los distintos procedimientos para su diagnóstico. El diagnóstico de VB se llevó a cabo tanto clínicamente como microbiológicamente. Se consideró que una paciente clínicamente tenía VB cuando presentaba tres de los cuatro indicios clínicos establecidos por Amsel y col. en 1983. La coloración de Gram se evaluó mediante los criterios de Spiegel y col. 1983 y Nugent y col. 1991. El estudio de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos se efectuó utilizando procedimientos convencionales. El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante las pruebas de hipótesis intervalos de confianza y técnicas interpretativas. De las 63 pacientes estudiadas 33 (52,38%) presentaron VB diagnosticada clínicamente. De estas 33 pacientes, solamente a 23 (36,5%), se les corroboró el diagnóstico por estudios microbiológicos. El criterio clínico más sensible y específico resultó ser la célula clave. La combinación de 2 o menos morfotipos (*Gardnerella* y otro morfotipo distinto a lactobacilo) más células claves, observadas mediante coloración de Gram demostró la más alta sensibilidad (73 - 91%) y especificidad (100%) para diagnóstico de VB.

La asociación entre *G. vaginalis* y bacterias anaeróbicas representó el más alto porcentaje 56,62% entre los agentes bacterianos involucrados en la etiología de la VB. Al comparar los diferentes métodos usados para el diagnóstico de VB, se encontró que existe diferencia significativa ( $p=0,05$ ) entre los métodos clínicos y microbiológicos, no así entre los criterios de Spiegel y Nugent, y entre la coloración de Gram y el cultivo. La imagen microscópica de la secreción vaginal teñida al Gram permitió realizar un diagnóstico definitivo de VB, de ayuda valiosa para el médico. Por otra parte, la difi-

cultad para realizar los cultivos y el alto costo de los mismos justifican su uso en estudios de investigación sobre VB, pero no es tan importante en el trabajo clínico de rutina.

*Palabras Claves: Vaginosis bacteriana, células claves, morfotipos, células clave, bacterias aeróbicas y anaeróbicas.*

### ABSTRACT

#### Clinical and microbiological findings in bacterial Vaginosis patients

Sixty three patients attending a family planning center were studied in order to determine the frequency and the etiology of bacterial vaginosis (BV). Different diagnostic methods were also compared in this study, which comprised both clinical and microbiological diagnosis. A patient was considered clinical BV positive if she presented three clinical signs as established by Amsel et al., 1983. Evaluation of the Gram-stain was done by the criterion of Spiegel et al., 1983 and Nugent et al., 1991. The study of aerobic and anaerobic microorganisms was done using conventional procedures. The statistical analysis of the results was done through trials of hypothesis intervals of reliance and interpretative techniques.

Out of 63 patients studied, 33 presented clinical diagnosis of BV (52,38%). Out of these 33 patients, only 23 (36,5%) were found to have BV after the microbiological studies. The clue cells resulted in the most sensible and specific clinical criterion. The combination of 2 or less morphotypes (*Gardnerella* and other morphotypes distinct to lactobacillus) plus clue cells, observed by means of Gram-stain proved to show the highest sensitivity (73,91%) and specificity (100%) for the diagnosis of BV. The association of *G. vaginalis* and anaerobic bacteria represented the highest percentage (56,62%) between the bacterial agents involved in the BV etiology. Comparison of the clinical and microbiological methods for the diagnosis of BV showed that there exist

a significant difference between them ( $p=0.05$ ). Nevertheless, no difference was obtained between the criterion of Spiegel and Nugent, nor between Gram-stain and culture. The microscopic image of the vaginal secretion stained allowed to make a definitive diagnosis of BV, which is of great help to the physicians.

On the other hand, the difficulty and high cost of the cultures justifies their use in studies of research about BV, but it is not important in routine clinical work.

*Key Words: bacterial vaginosis, clue cells, aerobic and anaerobic bacteria, morphotypes.*

### INTRODUCCION

La vaginosis bacteriana (VB), es una infección vaginal polimicrobiana, en la cual existe desequilibrio en el ecosistema vaginal, caracterizado por un aumento en los organismos anaerobios y aerobios y una disminución en la población de lactobacilos. Además, dicha infección se caracteriza clínicamente por la presencia de pocos síntomas irritativos, abundante flujo y ausencia de una respuesta inflamatoria (Eschenbach y col., 1988; Weaver y Mengel, 1988).

Durante los últimos años se ha estudiado el espectro bacteriano de la flora vaginal de mujeres con VB; sin embargo, aún se desconoce su etiología exacta. Como agentes etiológicos de dicho síndrome se ha dedicado particular atención a *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, bacterias anaerobias de los géneros *Peptostreptococcus*, *Prevotella* y *Propionibacterium*, y más recientemente a especies del género *Mobiluncus* (Holst, 1990; Hillier y col., 1991).

La VB, es una infección que se presenta en la población femenina en general. Así tenemos que Hallen y col. (1987), encontraron que de 405 pacientes con enfermedades de transmisión sexual (ETS), 164 cumplían con los criterios generalmente aceptados para VB. Eschenbach y col. (1988), determinaron un 33% de VB en 640 mujeres atendidas por ETS. Dichos autores señalan que la prevalencia de VB es alta en pacientes con ETS, por cuanto muchas de estas pacientes no toman cuidado de sus síntomas genitales, además porque la actividad sexual puede ser un factor predisponente de la VB. Con respecto a la actividad sexual, Holst (1990), señala que la misma no es muy importante en la transmisión de la vaginosis bacteriana, debido al hecho que *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus* sp y *Mycoplasma hominis* pueden ser aislados del recto de mujeres, hombres y niños, por lo que es probable su diseminación a la vagina a partir del recto.

Por otra parte, la prevalencia de VB fue estudiada en 700 pacientes de una clínica de salud de estudiantes

universitarias. La ocurrencia de VB en la población de estudiantes fue aproximadamente de un 4%, en contraste al 33% en la población de pacientes con ETS (Eschenbach y col., 1988). Lo cual coincide con el resultado reportado por Sobel (1990), quien sostiene también que la frecuencia de vaginosis bacteriana aumenta considerablemente en las clínicas de ETS, alcanzando valores de 24 a 37%. En este estudio se señala además un 16 a 19% de VB en mujeres embarazadas. Las cifras más bajas de VB se encontraron entre las pacientes que asistieron a clínicas privadas y la mayor prevalencia en las que asistieron a las clínicas de ETS y universitarias.

Cristiano y col. (1989), estudiaron la frecuencia de vaginosis bacteriana en 793 mujeres, de las cuales 680 eran fértiles, 32 embarazadas y 72 menopáusicas. En los grupos de mujeres fértiles y embarazadas, encontraron vaginosis bacteriana en un 20.9% (142) y en 21.9% (7) respectivamente, mientras que en el grupo de mujeres con menopausia hallaron una frecuencia de 12.7% (9). Además investigaron 10 mujeres que sufrieron histerectomía de las cuales 5 (50%) tenían VB.

Con respecto a las pacientes que asisten a las clínicas de planificación familiar, Riordan y col. (1990), señalan que 26% de dicha población presenta una prevalencia de hallazgos positivos para vaginosis bacteriana. Por otra parte, Angelitti y Nieves (1992), reportaron un 43,10% de vaginosis bacteriana en pacientes que acuden a dicha consulta.

La VB por sí sola no representa un grave problema en la población afectada, sin embargo su importancia viene dada porque se cree que existe una relación muy estrecha entre la VB y la aparición de ciertas afecciones, tales como endometritis, salpingitis, abscesos de trompas y ovarios, infecciones sépticas en los abortos y partos prematuros, entre otras; cuyos agentes etiológicos eran los mismos organismos que originaron la VB presente inicialmente en las pacientes (Eschenbach y col., 1988; Holst, 1990; Schwebke, 1991).

A pesar de las investigaciones que se han llevado a cabo al respecto, todavía no están claros muchos aspectos relacionados con la etiología, patogénesis y epidemiología de la VB; razón por la cual creemos necesario su estudio sistemático en las pacientes que asisten a las distintas clínicas ginecológicas.

En este trabajo nos propusimos realizar un estudio prospectivo de la frecuencia y etiología de la VB en mujeres que asisten a consultas de Planificación Familiar, así como también, se compararon los distintos procedimientos para su diagnóstico. El diagnóstico

de VB se llevó a cabo tanto clínica como microbiológicamente. La coloración de Gram se evaluó mediante los criterios de Spiegel y col. (1983) y Nugent y col. (1991).

### OBJETIVOS

Determinar la proporción de vaginosis bacteriana en los pacientes que asisten a la consulta de planificación familiar en el Ambulatorio "El Llano", diagnosticada tanto clínica como microbiológicamente (cultivo y Gram).

Determinar el valor predictivo positivo (VPP) y el valor predictivo negativo (VPN) de los parámetros (combinados e individuales) usados en el diagnóstico clínico de la vaginosis bacteriana.

Comparar los criterios usados por Spiegel y col. (1983) y Nugent y col. (1991) para la interpretación de frotis teñidos al Gram.

Determinar la relación que existe entre el diagnóstico clínico y microbiológico (Gram y cultivo) de la vaginosis bacteriana.

Determinar el valor predictivo positivo y negativo de los morfotipos y las células claves observadas en la coloración de Gram como método diagnóstico de la vaginosis bacteriana.

Identificar y conocer la proporción en que se encuentran presentes los agentes bacterianos involucrados en la etiología de la vaginosis bacteriana.

Comparar la frecuencia de aislamiento de *Mobiluncus* sp en el medio RLK y AS107.

Correlacionar la presencia de vaginosis bacteriana con infecciones causadas por *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *C. trachomatis*.

### VAGINOSIS BACTERIANA

#### Definición

La vaginosis bacteriana es una infección vaginal caracterizada clínicamente por la presencia de pocos síntomas irritativos, abundante flujo y ausencia de una respuesta inflamatoria (Torres y Conde, 1986; Weaver y Mengel, 1988; González y Bellorín, 1991).

En la vaginosis bacteriana existe un estado de desequilibrio del ecosistema vaginal, caracterizado por un aumento de la flora bacteriana anaerobia y aerobia del tracto cervico-vaginal y por una marcada disminución de la población de lactobacilos (Torres y Conde, 1986; Weaver y Mengel, 1988; Thomason y col., 1990; Livengood y col., 1990; Pahlson y Larsson, 1991; Majeroni, 1991; González y Bellorin, 1991; Larsson y col., 1992).

### ETIOLOGIA

Desde 1955, en que Gardner y Dukes realizaron trabajos sobre vaginitis inespecífica, actualmente denominada vaginosis bacteriana, dicha afección se ha relacionado con una bacteria no móvil, variable al gram o gramnegativa, llamada por sus descubridores *Haemophilus vaginalis*, después *Corynebacterium vaginalis* y más recientemente, en base a estudios taxonómicos, *Gardnerella vaginalis*.

La concentración de *Gardnerella vaginalis* es baja en el flujo vaginal de mujeres sanas, a diferencia de las mujeres con vaginosis bacteriana en las que dicho microorganismo es predominante (Spiegel y col., 1980; Cristiano y col., 1989; Ortiz y col., 1990; Soper y col., 1990; Klebanoff y col., 1991; Heather y col., 1990; Livengood y col., 1990; Sobel, 1990; Holst, 1990; Burns y col., 1992; McDonald y col., 1991; Pahlson y Larsson, 1991; Majeroni, 1991; Sjoberg y Hakansson, 1991; Jones y Willcox, 1991; Briselden y col., 1992; Larsson y col., 1992; Easmon y col., 1992; Catlin 1992, razón por la cual se hace necesario su aislamiento y estimación semicuantitativa en medios selectivos utilizados en el diagnóstico de dicho proceso.

Otros estudios señalan, además de *Gardnerella vaginalis* como agente etiológico de la vaginosis bacteriana, a microorganismos anaeróbicos, entre los cuales están los bacilos y cocobacilos gramnegativos que no forman esporas, del género *Prevotella* (*Prevotella bivia*, *P. disiens* y *P. melaninogenica*), cocos gram positivos de los géneros *Peptococcus* y *Peptostreptococcus*, y bacilos grampositivos, pleomórficos del género *Propionibacterium* sp. (Spiegel, 1980; Weaver y Mengel, 1988; Soper y col., 1990; Sobel, 1990; Pahlson y Larsson, 1991; McDonald y col., 1991; Larsson y col., 1992; Jones y Willcox, 1991; Sjoberg y Hakansson, 1991; Briselden y col., 1992; Easmon y col., 1992). Recientemente las investigaciones sobre vaginosis bacteriana hacen referencia a bacilos curvos móviles, anaerobios, gramvariables o gramnegativos, aunque de pared celular grampositiva, de múltiples capas y no esporulados, agrupados en el género *Mobiluncus*. El género *Mobiluncus* posee dos especies *Mobiluncus curtisii* subespecie *curtisii* y *holmesii*, y *Mobiluncus mulieris*, los cuales aparentemente tienen un papel importante en el desarrollo de esta infección (Spiegel y Roberts, 1984; Torres y Conde, 1986; Hallen y col., 1987; Weaver y Mengel, 1988; Sobel, 1990; Livengood y col., 1990; Andreu y col., 1991; Burns y col., 1992; Jones y Willcox, 1991; Briselden y col., 1992; Easmon y col., 1992). Cabe señalar que la relación del género *Mobiluncus* con la etiología de la vaginosis bacteriana

ha sido de difícil establecimiento, por cuanto los métodos de cultivo comúnmente usados son muy laboriosos y complicados y dan rangos de aislamiento subóptimos (Fox y Phillips, 1984; Livengood y col., 1990; Burns y col., 1992; Easmon y col., 1992).

Otros microorganismos asociados a la etiología de la vaginosis bacteriana son los micoplasmas (González y Bellorín, 1992). *Mycoplasma hominis* puede estar presente como flora habitual de la vagina de la población de mujeres sanas, pero es numéricamente mayor en mujeres con vaginosis bacteriana (Holst, 1990; Sobel, 1990; Hillier y col., 1991; Briselden y col., 1992; Larsson y col., 1992; Easmon y col., 1992).

Igualmente, se ha asociado como agente etiológico de VB, a un grupo de microorganismos grampositivos, predominantemente cocobacilares, pertenecientes al género *Corynebacterium* (Pahlson y Larsson, 1991; González y Bellorín, 1992).

En la Tabla 1 se encuentran las especies más frecuentemente involucradas en la etiología de la VB.

#### PATOGENIA

Spiegel y col. (1980), señalan como causa de la vaginosis bacteriana a la actuación de conjunto de ciertos anaerobios con *Gardnerella vaginalis*, por cuanto algunos productos metabólicos tales como succinato producido por *Gardnerella vaginalis* y *Prevotella* sp. por un lado; butirato y acetato producido por *Peptococcus* sp., y el propionato originado por *Propionibacterium* sp. por otra parte, están aumentados en el fluido vaginal de mujeres que padecen dicha infección.

Existen otros estudios (Torres y Conde, 1986) que sugieren una relación simbiótica entre *Gardnerella vaginalis* productor de aminoácidos y las bacterias anaerobias productoras de aminas a partir de aminoácidos. La producción de aminas trae como consecuencia una elevación en el pH de la secreción vaginal, lo cual a su vez, favorece el desarrollo de *Gardnerella vaginalis*, patógeno involucrado en conjunto con los anaerobios en la etiología de la vaginosis bacteriana (Fig. 1).

Entre las aminas producidas están putrescina y cadaverina, las cuales son responsables a su vez del mal olor de la secreción vaginal y prueba de KOH positiva.

Otras investigaciones que intentan explicar la patogenia de la vaginosis bacteriana, son las realizadas por Eschenbach y col. (1989) y Klebanoff y col. (1991). En dichos estudios se señala que la falta de producción de peróxido de hidrógeno por parte de los lactobacilos,

**TABLA 1 - AGENTES ETIOLÓGICOS ASOCIADOS CON LA VAGINOSIS BACTERIANA**

<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Prevotella</i> sp.
<i>Peptococcus niger</i>
<i>Peptostreptococcus</i> sp.
<i>Mobiluncus</i> sp.
<i>Mycoplasma hominis</i>
Corinebacterias grupo JK

Fuente: Spiegel y col. (1980), Spiegel y Roberts (1984), Hallen y col. (1987), Weaver y Mengel (1988), Cristiano y col. (1989), Jawetz y col. (1990), Holst (1990), Ortiz y col. (1990), Majeroni (1991)

disminuídos en vaginosis bacteriana, puede permitir el crecimiento de organismos catalasa negativa encontrados en mujeres que padecen de dicha infección. Además, se indica que la producción de peróxido de hidrógeno por especies de lactobacilos, representa un mecanismo de defensa antimicrobial no específico del ecosistema vaginal normal contra el desarrollo de la vaginosis bacteriana en algunas mujeres.

La adhesión de las bacterias a las células epiteliales de la mucosa, es otro factor importante en la patogenia de la vaginosis bacteriana, por cuanto permite el establecimiento de la flora tanto patógena como indígena (Moi y Schoenknecht, 1983; Sobel, 1990). La capacidad de adherencia está influenciada por diversos factores, tales como el pH, número de bacterias presentadas a cada célula del epitelio vaginal, si las bacterias son piliadas o no, y también depende del estado hormonal de la mujer de quien se obtiene la célula epitelial vaginal. Con respecto al pH, se ha comprobado que la tasa de adherencia de ciertas bacterias, se ve aumentada cuando existe una disminución de la acidez del ecosistema vaginal, hallazgo característico de la vaginosis bacteriana, en la cual se presentan las llamadas células claves. Las células claves son células epiteliales vaginales cubiertas por bacterias, cuya morfología es por lo general sugestiva de *Gardnerella vaginalis* y *Mobiluncus* sp. (Moi y Schoenknecht, 1983; Sobel, 1990).

#### SECUELAS

La importancia de la vaginosis bacteriana está dada por la relación que existe entre la presencia de dicha infección y numerosos cuadros clínicos encontrados en mujeres con vaginosis bacteriana.

La participación de las bacterias anaeróbicas en

cuadros clínicos tales como abscesos pélvicos, enfermedad inflamatoria pélvica, salpingitis, abscesos de trompas y ovarios, infecciones sépticas en los abortos, endometritis, abscesos vaginales y de la vulva, infecciones en la parte inferior de la vagina, abscesos en las glándulas de Bartholini, celulitis repentina postoperatoria, infecciones del líquido amniótico y bacteremia, señalan la importancia de la vaginosis bacteriana, motivado a que en la misma los microorganismos anaerobios están aumentados mil veces más de lo normal, lo cual predispone a que las pacientes desarrollen dichas infecciones más por la presencia de anaerobios que por otros patógenos reales. (Spiegel y col., 1980; Heather y col., 1990; Soper y col., 1990; Thomason y col., 1990; Livengood y col., 1990; Sobel, 1990; McDonald y col., 1991; Jones y Willcox, 1991; Sjöberg y Hakansson, 1991; Briselden y col., 1992; Kurki y col., 1992; Larsson y col., 1992; Easmon y col., 1992; Eschenbach, 1993).

Por otra parte, se ha señalado que la vaginosis bacteriana puede inducir partos prematuros en mujeres embarazadas que presentan dicho síndrome (Eschenbach y col., 1983; Easmon y col., 1992). Es posible que una producción local de fosfolipasa por parte de las bacterias vaginales, incrementadas en mujeres con vaginosis bacteriana, pueda estimular el trabajo del parto prematuro, debido a la acción de la fosfolipasa sobre el ácido araquidónico, dicho ácido es el precursor de la prostaglandinas, las cuales son sustancias que provocan el parto (Eschenbach y col., 1983; Sjöberg y Hakansson, 1991; McDonald y col., 1991).

Igualmente el aislamiento de los microorganismos asociados con vaginosis bacteriana, de mujeres con síntomas clínicos de endometritis, unido al hecho que pacientes con *Gardnerella vaginalis* y anaerobios permanecieron febriles significativamente más tiempo, después de comenzar la terapia de antibióticos, son datos que sugieren que la vaginosis bacteriana podría estar asociada con infección postparto (Eschenbach y col., 1983; Livengood y col., 1990; McDonald y col., 1991; Sjöberg y Hakansson, 1991; Kurki y col., 1992; Easmon y col., 1992). También se ha asociado a la coriamnionitis (Sobel, 1990, Schwebke y col., 1991; McDonald y col., 1991).

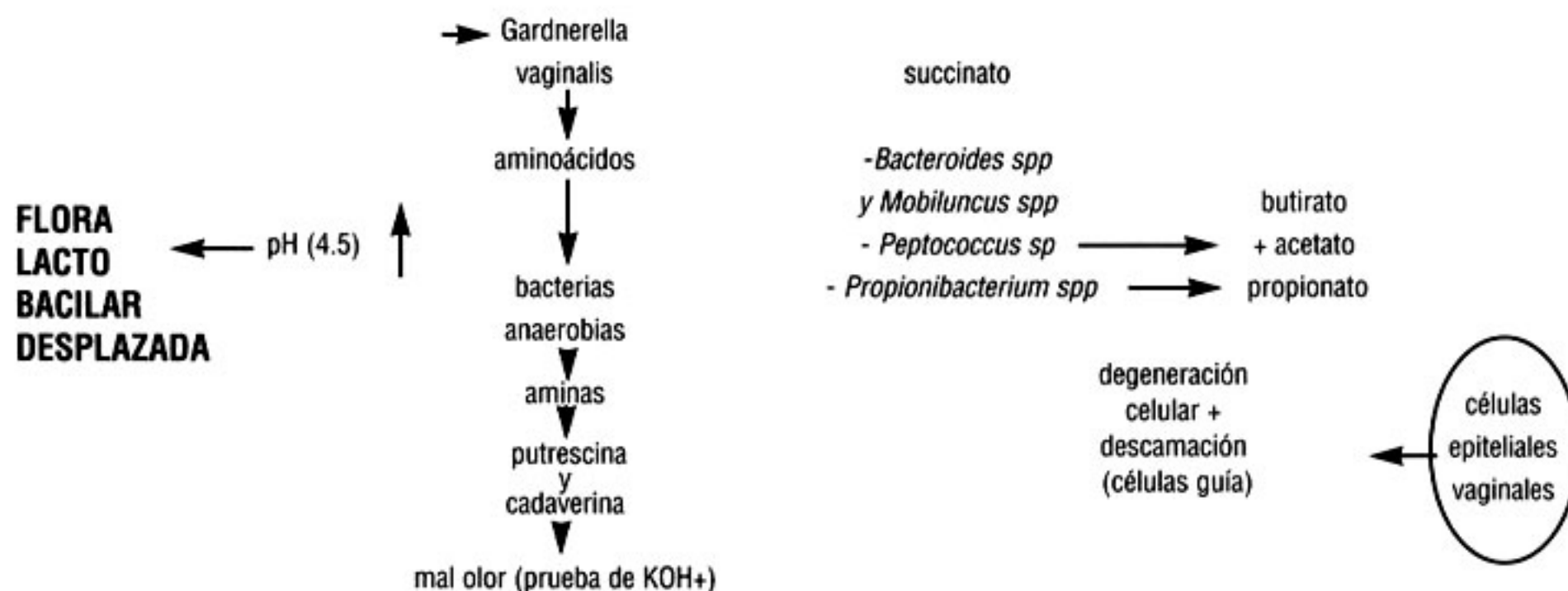
### DIAGNOSTICO CLINICO

En 1983, Amsel determinó que deberían estar presentes al menos tres de los cuatro criterios siguientes para establecer el diagnóstico de vaginosis bacteriana: secreción homogénea, pH > 4.5, prueba de KOH positiva, presencia de células claves.

Por otra parte, Hallen (1987) además de la prueba de aminas positiva y la presencia de células claves, señala la ausencia de lactobacilos como otro criterio que puede ser usado en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. Este autor expone que la característica del flujo vaginal es un criterio subjetivo. De igual forma indica que el pH > 4.5 no es un dato confirmativo, debido a que también se puede encontrar en mujeres sin vaginosis bacteriana.

Martius y col., (1988), propone un criterio ligeramente diferente, en el cual, elimina el flujo homogéneo y considera el pH = 4.7 como el punto límite estableci-

**FIGURA 1** POSIBLE RELACION ENTRE *G. vaginalis* Y LAS BACTERIAS ANAEROBIAS EN LA PATOGENESIS DE LA VAGINOSIS BACTERIANA



Fuente: Piot, P y Vanderheydek, 1984, citado por Torres y Conde 1986, Mobiluncus ¿nuevo patógeno microbiano?

levadura 25% e inhibidores tales como ampicilina, anfotericina y acetato de talio. Para su desarrollo, los micoplasmas requieren una atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub> a 37°C durante 3 a 10 días, al cabo de los cuales aparecen colonias de color azul intenso, con un tamaño que varía de 50 a 500 u, lisas, con forma de huevo frito (Balows y col., 1992; González y Bellorín, 1992).

Las corinebacterias Grupo JK se aíslan en un medio selectivo que contiene agar tripticasa soya, extracto de levadura 0,5%, Tween 80 0,1%, fosfocina 10 ug/mL, carbenicilina 100 ug/mL y sangre humana al 5%. El medio se incuba a 37°C, en atmósfera de CO<sub>2</sub> por un período de 48 a 72 horas, al cabo de las cuales se desarrollan colonias puntiformes, blanquecinas, opacas, lisas, circulares, enteras y no hemolíticas (González y Bellorín, 1992).

**TABLA 2** INTERPRETACION DE FROTIS TEÑIDOS AL GRAM SEGUN EL CRITERIO DE SPIEGEL Y COL. (1983)

Morfotipos por campos	Evaluación
< 1	1+
1 - 5	2+
6 - 30	3+
> 30	4+

Fuente: Spiegel y col. (1983)

**TABLA 3.-** INTERPRETACION DE LOS FROTIS TEÑIDOS AL GRAN SEGUN EL CRITERIO DE NUGENT Y COL. (1991).

Registro	Morfotipos de lactobacilo	Morfotipos de Gardnerella y Bacteroides sp	Bacilos curvos Gramvariables
0	4+	0	0
1	3+	1+	1+ ó 2+
2	2+	2+	3+ ó 4+
3	1+	3+	
4			

Fuente: Nugent y col. (1991)

0: Ningún morfotipo

1: < 1 morfotipo

2: 1 a 4 morfotipos presentes

3: 5 a 30 morfotipos presentes

4: 30 ó más morfotipos presentes

### OTROS METODOS DE DIAGNOSTICO

Existen otros métodos para el diagnóstico de vaginosis bacteriana tales como: Hibridización del ADN (Schwebke y col., 1991), anticuerpos monoclonales (Schwebke y col., 1991), cromatografía de gases del

fluido vaginal (Spiegel y col., 1980), determinación de aminas (diaminas, putrescina y cadaverina) en lavados vaginales mediante cromatografía de capa fina (Easmon y col., 1992), detección de prolina aminopeptidasa en las secreciones vaginales (Schoonmaker y col., 1991), y determinación de sialidasa en líquido vaginal (Briselden y col., 1992). Estos métodos se utilizan principalmente en laboratorios especializados.

### HIPOTESIS

Existe una alta proporción de vaginosis bacteriana (VB) en las pacientes que asisten a la consulta de planificación familiar.

De los criterios clínicos individuales usados para el diagnóstico de VB, las células claves observadas mediante coloración de Gram tienen el mayor valor predictivo positivo para las mujeres con VB y el mayor valor predictivo negativo para las mujeres sin VB.

De los criterios clínicos combinados usados para el diagnóstico de VB, la presencia de células claves, pH > 4.5, flujo homogéneo y una prueba de olor a aminas positiva posee el mayor VPP.

No existe diferencia significativa entre los criterios de Spiegel y col., (1983) y Nugent y col., (1991) para evaluar los frotis directos coloreados al Gram.

No existe diferencia significativa entre el diagnóstico clínico y microbiológico (Gram y cultivo) de la VB.

La presencia de morfología bacteriana distinta a la morfología de lactobacilo en un frotis teñido al Gram, tiene un valor predictivo positivo para el diagnóstico de VB.

Existe una mayor proporción de VB ocasionada por bacterias anaerobias, especialmente del género *Mobiluncus*.

Existe una mayor recuperación de las especies del género *Mobiluncus* en el medio de cultivo RLK que en el medio AS107.

La VB puede presentarse asociada a infecciones producidas por *Candida albicans*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*.

### MATERIALES Y METODOS

#### AMBIENTE FÍSICO

La toma de la muestra se realizó en el Servicio de Planificación Familiar del Ambulatorio "El Llano", Mérida y el procesamiento de las mismas se efectuó en el Laboratorio de Bacteriología Anaeróbica Dr. Roberto Gabaldón, Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes.

## POBLACIÓN

De la población de mujeres que asistió a la consulta de planificación familiar, entre los meses de febrero - abril de 1993, se seleccionó una muestra aleatoria de 63 pacientes con edades comprendidas entre 20 a 50 años, con vida sexual activa, quienes como requisito indispensable no debían estar recibiendo tratamiento antimicrobiano durante los ocho días anteriores a la toma de muestra, ni haberse practicado lavados vaginales durante las 24 horas previas. A cada paciente se le registraron los datos personales, clínicos, y microbiológicos en un formulario elaborado para tal fin.

## COLECCION DE LA MUESTRA

Previa inserción del esp<sup>o</sup>culo estéril en la vagina de cada paciente, se introdujeron secuencialmente 12 hisopos estériles tamponados. Los cuatro primeros se utilizaron para la toma de muestra del endocervix y los ocho restantes del fondo de saco vaginal, los cuales se distribuyeron de la siguiente manera:

<u>Hisopos</u>	<u>Finalidad</u>
1	Agar Thayer Martin y Agar chocolate.
2	Frotis (Coloración de Gram ).
3	Limpiar endocervix.
4	Investigar C. trachomatis.
5	Medio de transporte Stuart reducido.
6 y 7	Frotis (Coloración de Gram ).
8	Solución Salina Fisiológica.
9	Agar Bilis.
10	Agar Vaginalis.
11	Medio de transporte Stuart.
12	Medición de pH, prueba de KOH 10%.

## EXAMEN CLINICO

En cada paciente se examinó la presencia y tipo de secreción, igualmente se le practicó la prueba de las aminas con KOH al 10%, medición del pH del flujo vaginal con cinta pH meter y el exámen de la secreción en fresco para la búsqueda de células claves, tricomonas y levaduras.

## ESTUDIO MICROBIOLOGICO

Exámen directo: Tanto del endocervix como del fondo de caso vaginal se realizaron frotis, los cuales fueron teñidos con la coloración de Gram modificada por Kopeloff (citado en González y Bellorín, 1992). Los dos frotis del fondo de saco vaginal fueron evaluados según los criterios de Spiegel y col. (1983) y Nugent y col. (1991) para el diagnóstico de vaginosis bacteriana.

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE BACTERIAS AEROBICAS Y LEVADURAS.

Para el aislamiento de bacterias aeróbicas se transportó la muestra obtenida del fondo de saco vaginal en el medio de Stuart, a partir del cual se cultivó en agar sangre, agar vaginalis, y agar azida para la investigación de especies del género *Corynebacterium*. La incubación de dichos medios se realizó a 37°C durante 48 - 72 horas para la posterior identificación de los microorganismos de interés según los procedimientos convencionales (Balows y col., 1991).

Para la investigación de *Candida albicans* se utilizó el medio de agar bilis incubado a temperatura ambiente durante un lapso de 24 - 48 horas.

Del endocervix se sembró directamente en el medio de Thayer Martin y agar chocolate para la detección de *Neisseria gonorrhoeae* y en agar vaginalis para la búsqueda de *Gardnerella vaginalis*. De igual forma se tomó una muestra de endocervix para la investigación de *Chlamydia trachomatis*, mediante la coloración de Giemsa y la prueba de inmunofluorescencia directa (BioMerieux).

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE BACTERIAS ANAEROBICAS

Del medio de transporte Stuart reducido, se procedió a realizar una suspensión en 1.5 ml de caldo tioglicolato reducido, a partir del cual se efectuó la siembra con pipeta Pasteur en los siguientes medios de cultivo: RLK (Smith y Moore, 1988) para el aislamiento de *Mobiluncus* sp., agar sangre base Schaedler (OXOID) más suplemento 107 (OXOID), agar sangre base Schaedler más suplemento 108 (OXOID) y agar sangre fenil etil alcohol (DIFCO) para el aislamiento de *Mobiluncus* y otros anaerobios.

Las condiciones de anaerobiosis se proporcionaron mediante la jarra anaeróbica (BBL) y el sobre generador de gases (OXOID). Dichas jarras se incubaron a una temperatura de 37°C, durante 7 días, al cabo de los cuales se subcultivaron las colonias de interés a caldo carne y caldo Schaedler y se procedió a efectuar la identificación bioquímica a través de un Kit comercial de identificación rápida (RAPID-AN, BIOMERIEUX).

## PRUEBAS ESTADISTICAS

El análisis estadístico de los resultados se realizó mediante las pruebas de hipótesis, intervalos de confianza y técnicas interpretativas (Camel, 1966; Colimon, 1978).

**RESULTADOS**

De las 63 pacientes estudiadas en este trabajo, 33 (52,38%) presentaron vaginosis bacteriana, diagnosticada clínicamente de acuerdo a los criterios establecidos por Amsel y col. (1983) Tabla 4. De estas 33 pacientes, 20 (60,60%) mostraron los cuatro indicios clínicos (presencia de flujo homogéneo, pH > 4.5, prueba de olor a aminas positiva, presencia de células claves), mientras que 10 (30,30%) presentaron la combinación de tres de tales indicios, como se puede observar en la Tabla 5.

Mediante estudios microbiológicos se pudo constatar que solamente 23 (36,50%) de las 63 pacientes padecían VB, según el resultado del exámen directo teñido con la coloración de Gram e interpretado por el criterio de Spiegel y col. (1983) Figura 2 y Figura 3, y según los resultados del cultivo. Estos 23 casos se consideraron como las pacientes que verdaderamente padecían de VB. En la Figura 2 también se puede observar que según el criterio de Nugent y col. (1991), 31,74% de las pacientes tenían VB.

Al evaluar los criterios individuales del método clínico para el diagnóstico de VB, se encontró que las células claves presentaron una sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de 100%, en segundo lugar encontramos la prueba de olor a aminas con una sensibilidad y especificidad de 100% y 60% respectivamente. El VPP fue del 59% y el VPN del 100% (Tabla 6). Al interpretar las combinaciones de los criterios clínicos para el diagnóstico de VB (Tabla 7), observamos que la combinación de los 4 criterios presenta la más alta sensibilidad (86,95%, especificidad (100%), VPP (100%) y VPN (93,02%).

La combinación de dos o menos morfotipos (*Gardnerella* y otro morfotipo distinto a lactobacilo) más células claves, observada en la coloración de Gram, demostró la más alta sensibilidad (73,91%) especificidad (100%), VPP (100%) y VPN (86,96%) para el diagnóstico de VB (Tabla 8). En esta tabla se nota que en los exudados vaginales de las pacientes con VB se observó además de la marcada ausencia de lactobacilos, una flora bacteriana mixta abundante conformada por bacilos gramnegativos o gramvariables, cocos grampositivos, bacilos grampositivos (difteroides) y bacilos curvos gramvariables.

La asociación entre *G. vaginalis* y bacterias anaeróbicas representó el más alto porcentaje (56,62%) entre los agentes bacterianos involucrados en la etiología de la VB (Figura 4). En cuanto a las bacterias anaerobias

asociadas a los cuadros de VB, observamos que las prevotellas se aislaron con mayor frecuencia (Tabla 9).

Las sensibilidades, especificidades y los valores predictivos positivos y negativos de los diferentes métodos diagnósticos de VB, con el criterio de Spiegel como el estándar de referencia se muestran en la Tabla 10.

Mediante una prueba de hipótesis ( $\alpha = 0,05$ ) se determinó que existe diferencia significativa entre los métodos clínicos y microbiológicos para el diagnóstico de VB, mientras que no existe diferencia significativa entre los criterios de Spiegel y col. (1983) y Nugent y col. (1991) y entre la coloración de Gram y el cultivo para el diagnóstico de dicha enfermedad.

En las mujeres con VB no se encontraron asociadas otras patologías infecciosas del tracto genital inferior originadas por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis*.

El porcentaje de pacientes con VB que tenían dispositivo intrauterino (DIU) fue del 73,91% (Figura 5).

**TABLA 4- PORCENTAJE DE VAGINOSIS BACTERIANA (VB) EN PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA DE PLANIFICACION FAMILIAR SEGUN DIAGNOSTICO CLINICO**

Ambulatorio " El Llano ". Mérida Febrero - Abril 1993

PACIENTES	FRECUENCIA	PORCENTAJE(%)
CON VB	33	52,38
SIN VB	30	47,62
TOTAL	63	100

**TABLA 5 PORCENTAJE DE LAS COMBINACIONES DE LOS CRITERIOS CLINICOS UTILIZADOS EN EL DIAGNOSTICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA**

Ambulatorio " El Llano ". Mérida Febrero - Abril 1993

COMBINACIONES	FRECUENCIA	PORCENTAJES (%)
A*1+B*2+C*3+D*4	20	60.6
A + B + C	10	30.3
A + B + D	0	0
A + C + D	3	9.1
B + C + D	0	0
TOTAL	33*	100

\*1 A: Presencia de Flujo Homogeneo \*2 B: PH > 4.5  
 \*3 C: Prueba de Olor Aminas Positiva \*4 D: Presencia de Células Claves  
 \* Total de pacientes con Vaginosis Bacteriana según diagnóstico Clínico.

**DISCUSION**

La vaginosis bacteriana (VB) es una entidad nosológica vaginal caracterizada por un aumento en el

**TABLA 6**

EVALUACION CON TECNICAS INTERPRETATIVAS DE LOS CRITERIOS INDIVIDUALES DEL METODO CLINICO PARA EL DIAGNOSTICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA \* (N=63)

Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993

Criterio	Verdadero positivo	Verdadero Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valores Predictivos	
							Positivo	Negativo
Flujo Homogeneo	23	10	30	0	100	25	43.4	100
Olor Aminas	23	24	16	0	100	60	59	100
PH > 4.5	20	18	22	3	87	45	47.6	85.7
Células Claves	23	40	0	0	100	100	100	100

\* Diagnosticada por Método Clínico y Microbiológico (Cultivo y Gram)

• • •

**TABLA 7**

EVALUACION CON TECNICAS INTERPRETATIVAS DE LAS COMBINACIONES DE LOS CRITERIOS CLINICOS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA \*1 (N=63)

Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993

Criterios Combinados	Verdadero positivo	Verdadero Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valores Predictivos	
							Positivo (%)	Negativo (%)
A+B+C+D	20	40	0	3	86.95	100	100	93.02
A+B+C	0	30	10	23	0	75	9.1	56.6
A+B+D	0	40	0	23	0	100	-*3	63.5
A+C+D	3	40	0	20	13.04	100	100	66.7
B+C+D	0	40	0	23	0	100	-	63.5

\*1 Diagnosticada por Método Clínico y Microbiológico (Cultivo y Gram)

\*2: A: Presencia de Flujo Homogeneo

B: PH &gt; 4.5

\*3 El Valor predictivo Positivo quedó indeterminado

C: Olor Aminas Positivo

D: Presencia de Células Claves

• • •

**TABLA 8**

EVALUACION CON TECNICAS INTERPRETATIVAS DE LAS COMBINACIONES DE LOS MORFOTIPOS Y CELULAS CLAVES OBSERVADAS EN LA COLORACION DE GRAM PARA EL DIAGNOSTICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA (N=63)

Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993

Morfotipos	Verdadero positivo	Verdadero Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valores Predictivos	
							Positivo (%)	Negativo (%)
1	17	40	0	6	73.91	100	100	86.96
2	1	40	0	22	4.35	100	100	64.5
3	2	40	0	21	8.7	100	100	65.6
4	1	40	0	22	4.35	100	100	64.5
5	1	40	0	22	4.35	100	100	64.5
6	1	40	0	22	4.35	100	100	64.5
7	0	0	40	23	0	0	0	100.0

1: Dos o menos Morfotipos (Gardenerella y otro Morfotipo distinto a Lactobacilo) + Células Claves

2: Gardenerella + Bacilos(-) + Cocos(+) + Células Claves

3: Gardenerella + Bacilos(-) + Curvos(GV) + Células Claves

4: Gardenerella + Bacilos(-) + Bacilos(+) + Curvos(GV) + Células Claves

5: Gardenerella + Cocos(+) + Bacilos(+) + Células Claves

6: Gardenerella + Bacilos(-) + Bacilos(+) + Cocos(+) + Curvos(GV) + Células Claves

7: Lactobacilos predominantes

• • •

**TABLA 10**

EVALUACION CON TECNICAS INTERPRETATIVAS DE LOS CRITERIOS: NUGENT, CLINICO Y CULTIVO, PARA EL DIAGNOSTICO DE LA VAGINOSIS BACTERIANA (N=63) \*

Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993

Método	Verdadero positivo	Verdadero Negativo	Falso Positivo	Falso Negativo	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valores Predictivos	
							Positivo (%)	Negativo (%)
Nugent	20	40	0	3	87	100	100	93.0
Clínico	23	30	10	0	100	75	67.7	100
Cultivo	23	40	0	0	100	100	100	100

\* 63 pacientes diagnosticadas con Vaginosis Bacteriana según el criterio de Spiegel

**TABLA 10** PORCENTAJE EN QUE SE ENCUENTRAN PRESENTES LAS BACTERIAS ANAEROBIAS ASOCIADAS A LOS CUADROS DE VAGINOSIS BACTERIANA

Ambulatorio " El Llano ". Mérida Febrero - Abril 1993

BACTERIAS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Prevotella sp	15	68.18
Fusobacterium nucleatum	2	9.09
Mobiluncus sp *	4	18.18
Peptostreptococcus niger	1	4.54
TOTAL	22	100

\* Observados en la Coloración de Gram

número de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos y una disminución del número de lactobacilos presentes normalmente en la vagina de mujeres sanas. Desde el punto de vista clínico la infección se caracteriza por la presencia de pocos síntomas irritativos, abundante flujo y ausencia de una respuesta inflamatoria (Torres y Conde, 1986; Weaver y Mengel, 1988; Thomason y col., 1990; Livengood y col., 1990; Phalson y Larsson, 1991; Majeroni, 1991; González y Bellorín, 1991; Larsson y col., 1992; Biswas, 1993).

La VB se ha reportado en pacientes provenientes de diversos tipos de consulta, tales como servicios de atención a pacientes con Enfermedades de Transmisión Sexual, Clínicas de Salud de estudiantes universitarias, Clínicas Obstétricas, Consultas Ginecológicas y Consultas de Planificación Familiar (PF) (Hill y col., 1983; Hallen y col., 1987; Eschenbach y col., 1988; Smith y Moore, 1988; Cristiano y col., 1989; Ortiz y col., 1990; Riordan y col., 1990; Thomason y col., 1991; McDonald y col., 1991; Joa-Granados, 1991; Angelitti y Nieves, 1992; Kurki y col., 1992 ) Figura 2.

En Mérida, Angelitti y Nieves (1992) reportaron una frecuencia de 43,10% de VB en pacientes que asisten a consulta de planificación familiar. En la presente investigación, realizada en 63 pacientes provenientes del mismo servicio, se encontró, con un nivel de confianza de 95%, que el porcentaje (36,5%) de VB obtenido estaba dentro del rango esperado para este tipo de población. (Figura 3 ).

A pesar que la mayoría de los pacientes con VB atendidas en la consulta de PF no refieren sintomatología, existe el riesgo de la aparición de ciertas afecciones, donde la causa primaria son los mismos agentes asocia-

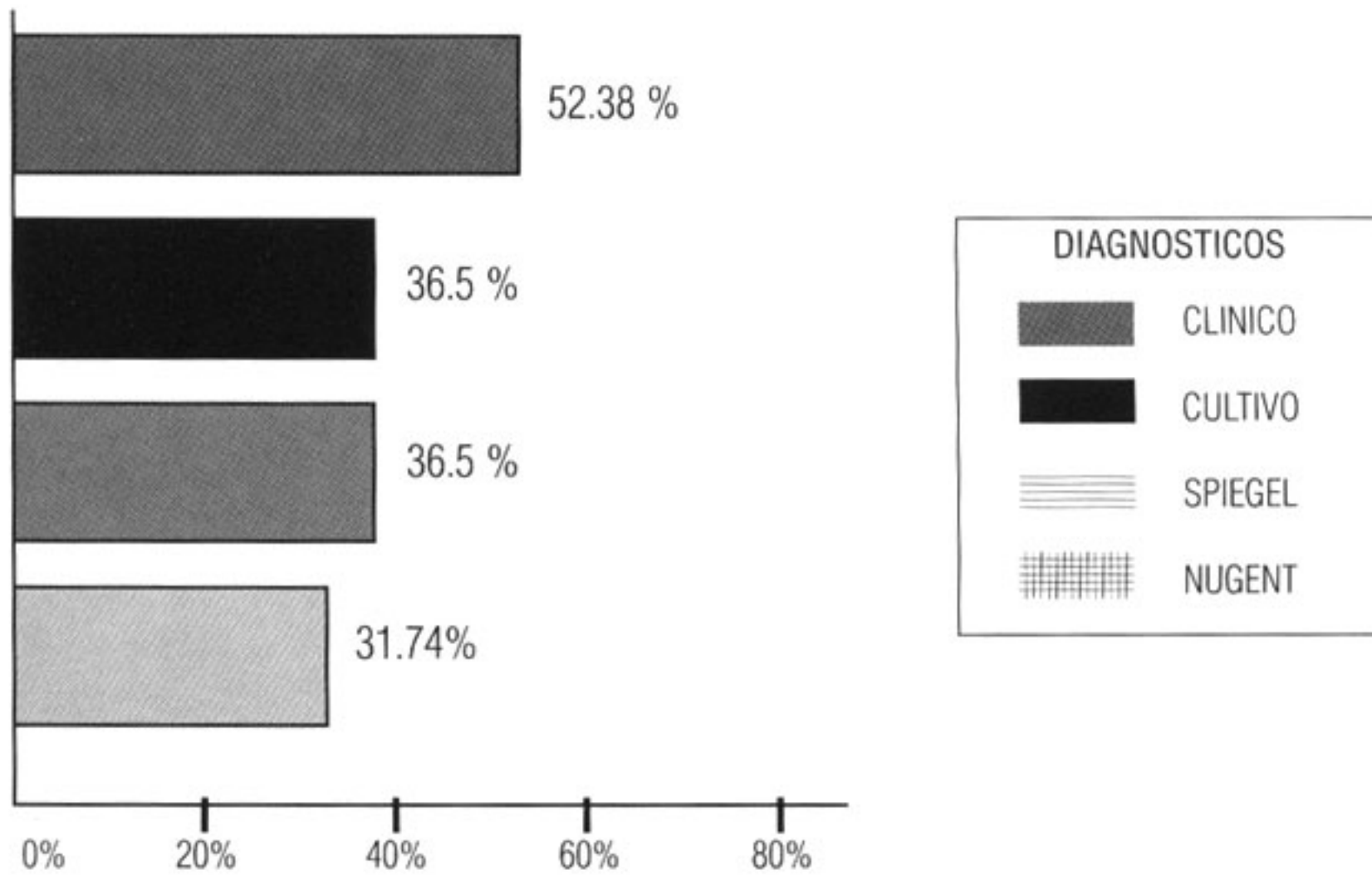
dos a la VB. Se piensa que hay una relación entre la VB y afecciones, tales como endometritis, salpingitis, abscesos de trompas y ovarios, enfermedad inflamatoria pélvica, entre otras (Eschenbach y col., 1988; Holst, 1990; Schwebke, 1991). De igual manera se ha reportado que la VB es causa de aproximadamente el 45% de vaginitis, estando por tanto las pacientes más predispuestas a desarrollar infección del tracto genital inferior si padece de VB que si padeciera de una infección por *Neisseria gonorrhoeae* o *Chlamydia trachomatis* (Eschenbach, 1993).

El diagnóstico clínico de VB puede realizarse sobre la base del hallazgo de una secreción vaginal con un pH > 4.5, olor a aminas positivo y la presencia de células claves al examen microscópico (Amsel y col., 1983). El diagnóstico microbiológico se efectúa a través de la realización de frotis coloreados al Gram evaluados mediante los criterios de Spiegel y col. (1983) o Nugent y col. (1991), y a través del cultivo de la muestra de secreción vaginal en medios selectivos (Spiegel y col., 1980; Sheppard y col., 1990; Balows y col., 1991; González y Bellorín, 1991).

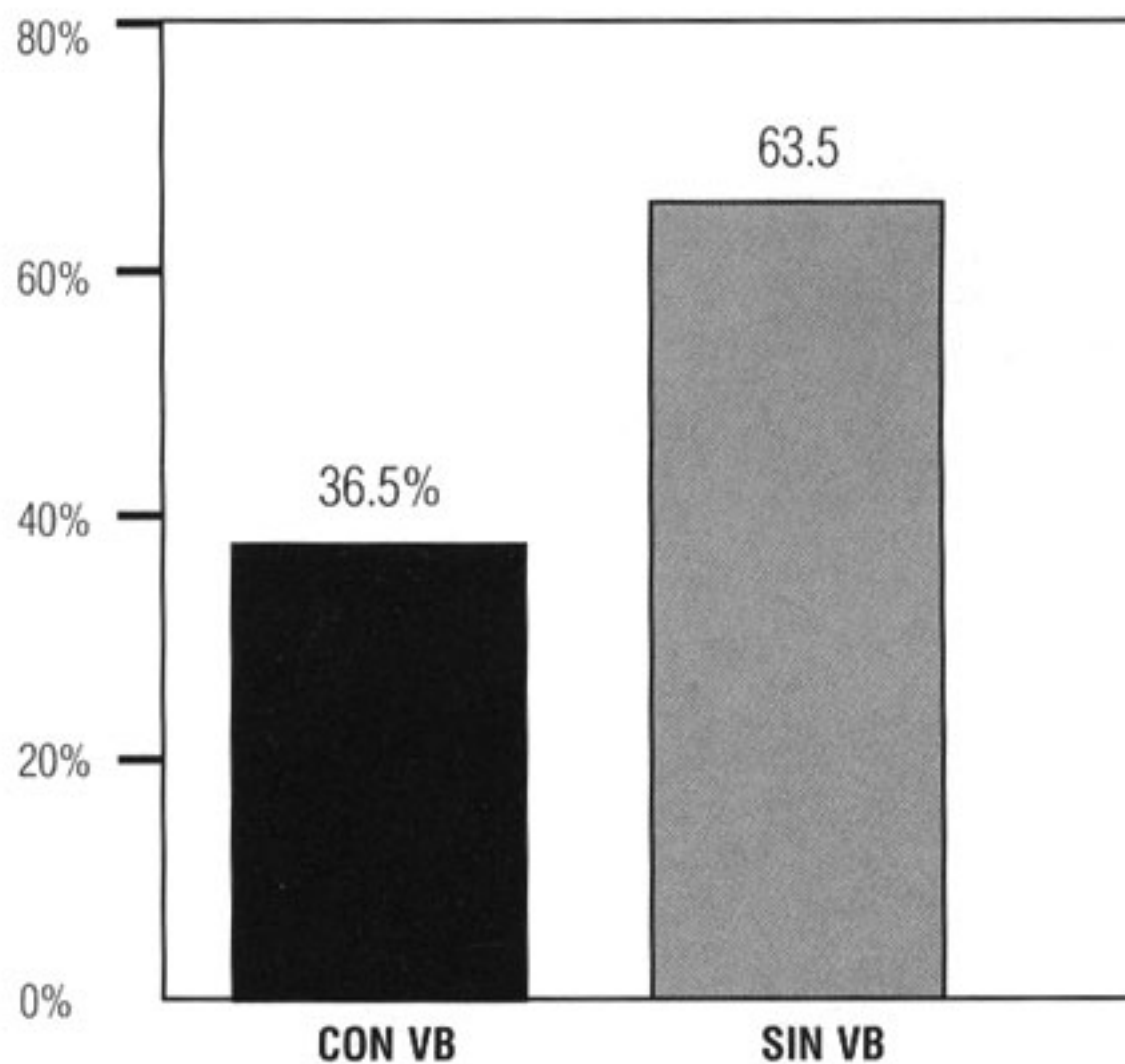
Al evaluar los criterios individuales del método usado en el diagnóstico de VB se encontró que la detección de las células claves era el criterio más sensible y específico para dicho diagnóstico, con un alto VPP y VPN (Tabla 6). Algunos investigadores, en estudios realizados en consultas ginecológicas, también observaron células claves en la secreción vaginal de la mayoría de las pacientes con VB y esto los llevó a concluir que las células claves era el indicador más adecuado de VB (Thomason y col., 1990; Sobel, 1990; Easmon y col., 1992; Biswas, 1993). No obstante, su detección es dependiente del operador; detritus o restos celulares se pueden confundir con células claves, dificultando de esta manera el diagnóstico (Easmon y col., 1992), por lo que es aconsejable no limitarse solamente al examen directo de las preparaciones húmedas; la coloración de Papanicolaou o la de Gram son mejores alternativas para visualizar las células claves en la secreción vaginal de las pacientes con VB (Joa-Granados, 1991; Biswas, 1993).

En cuanto a los otros criterios clínicos individuales, el pH > 4.5 del flujo vaginal, se mostró como indicador sensible de VB pero de baja especificidad (Tabla 6). El pH también se ha encontrado elevado en mujeres con flora vaginal normal después de las relaciones sexuales, durante la menstruación o cuando el moco cervical está presente inadvertidamente en la muestra (Hallen y col., 1987; Hay y col., 1992; Easmon y col., 1992). En la

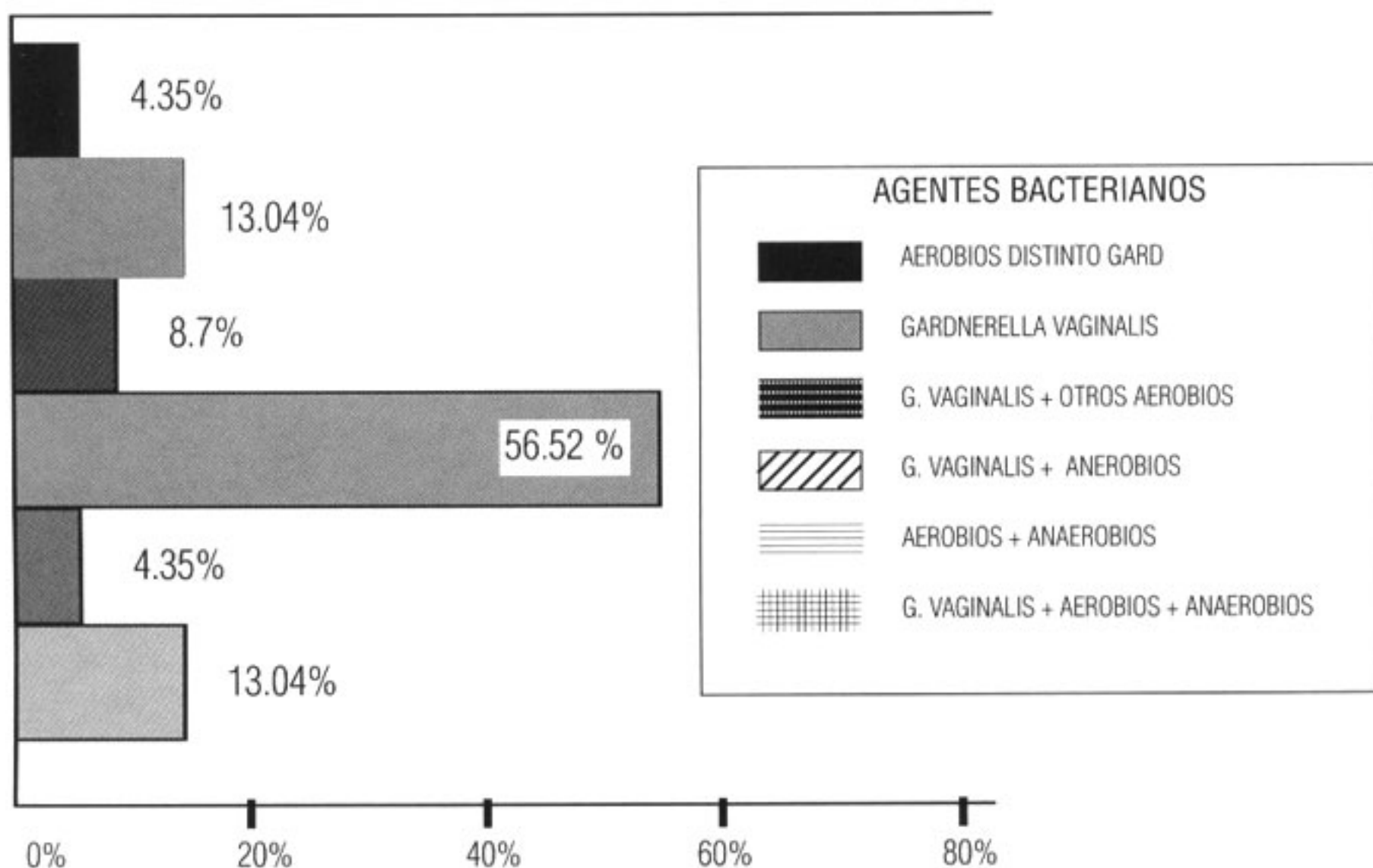
**FIGURA 2** PORCENTAJE DE VAGINOSIS BACTERIANA EN PACIENTES DE PLANIFICACION FAMILIAR SEGUN LOS DIFERENTES DIAGNOSTICOS Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993



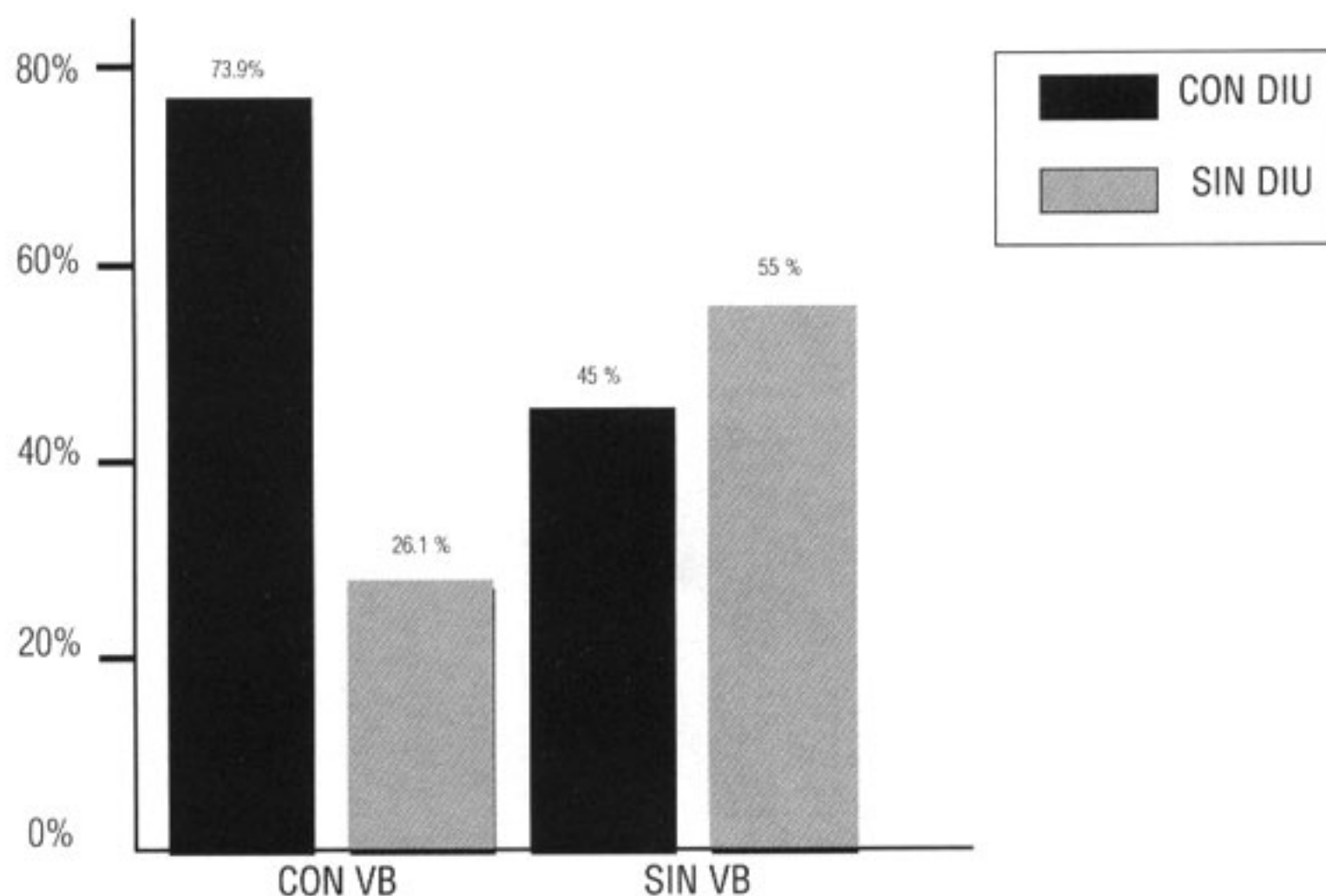
**FIGURA 3** PORCENTAJE DE VAGINOSIS BACTERIANA (VB) EN PACIENTES QUE ACUDEN A CONSULTA DE PLANIFICACION FAMILIAR Ambulatorio El Llano Mérida Febrero-Abril 1993



**FIGURA 4** PORCENTAJE EN QUE SE ENCUENTRAN PRESENTES LOS AGENTES BACTERIANOS INVOLUCRADOS EN LA ETIOLOGIA DE LA VB Ambulatorio El Llano Mérida febrero-Abril 1993



**FIGURA 5** PORCENTAJE DE VAGINOSIS BACTERIANA DE ACUERDO AL USO DEL DISPOSITIVO INTRAUTERINO (DIU) (N=63) Ambulatorio El Llano Mérida Febrero-Abril 1993



investigación realizada por Thomason y col. (1990), señalan que el 92% de las mujeres con VB y el 35% de las mujeres sin VB tenían secreción con  $\text{pH} > 4.5$ .

Al igual que el  $\text{pH} > 4.5$ , el olor a aminas positivo resultó ser altamente sensible pero de poca especificidad (Tabla 6), en contraste a lo sostenido por otros autores (Sobel, 1990; Easmon y col., 1992; Hay y col., 1992) quienes afirman que dicha prueba es usualmente específica para VB, pero de sensibilidad moderada.

Easmon y col. (1992), reportan que falsos olores a aminas pueden ocurrir cuando el semen está presente, debido a que el mismo tiene un  $\text{pH}$  relativamente alto y libera las aminas responsables del olor a pescado. Por otra parte, el semen contiene la putrescina (amina responsable del olor a pescado) de tal manera que mujeres con sensibilidad a los olores podrían notar tal olor y además dar la prueba del hidróxido de potasio positiva, no porque padeciera de VB sino por la práctica de relaciones sexuales recientes.

Otro parámetro clínico observado fue la existencia y característica del flujo vaginal asociado a la VB. Entendiéndose éste como una secreción vaginal homogénea adherida usualmente a las paredes vaginales (Holst, 1990; Majeroni, 1991; Biswas, 1993). Nuestros resultados indican que tal indicio clínico posee poca especificidad y una alta sensibilidad (Tabla 6). Estos datos concuerdan con los publicados por Thomason y col. (1990), en el sentido que, existe un considerable porcentaje de mujeres sin VB (22%) con flujo homogéneo. Por su parte Eschenbach y col. (1988) detectaron secreción anormal en 69% de las mujeres con VB y solamente en 3% de las mujeres sin VB. Easmon y col. (1992), señalan que esta diferencia de resultados podría deberse a una variación en la capacidad del clínico para detectar la secreción.

La combinación de los cuatro criterios clínicos usados en el diagnóstico de VB mostró una sensibilidad, especificidad, VPP y VPN elevado (Tabla 7), lo cual nos lleva a sugerir que para dar un diagnóstico clínico confiable de VB se debe tomar en cuenta los cuatro parámetros. Es importante señalar que cuando se encontró la combinación de tres de estos cuatro criterios, el resultado fue la presencia de 10 casos falsos positivos y solamente 3 verdaderamente positivos (Tabla 7). Por otra parte, investigadores como Sobel (1990), Easmon y col. (1992) y Biswas (1993) reportan que basarse solamente en los signos y síntomas no es confiable como método de diagnóstico de VB, por cuanto los mismos son sutiles y su detección depende de la agudeza y habilidad del clínico que realiza la prueba, por tal razón

investigadores como Nugent y col. (1991) recomiendan la realización de una coloración de Gram para confirmar el diagnóstico clínico de VB, nuestros resultados corroboran esta idea por cuanto hubo diferencia significativa entre el examen clínico (cuando se tomaron en cuenta solamente 3 de los 4 indicios clínicos) y el examen microscópico de la secreción vaginal teñido al Gram, como métodos diagnósticos de VB.

La coloración de Gram interpretada por cualquiera de los criterios reportados, conjuntamente con los hallazgos clínicos, es una manera económica, sencilla, rápida y confiable que permite certificar la impresión clínica en forma inmediata y de esta manera orientar el tratamiento adecuado (Mazzulli y col., 1990; Joa-Granados, 1991; Rotimi y col., 1991).

A pesar de no encontrar diferencias significativas entre el criterio de Spiegel y col., (1983) y Nugent y col., (1991) para evaluar la coloración de Gram, como método de diagnóstico de VB, consideramos que el criterio de Spiegel y col., (1983) es más confiable que el de Nugent y col. (1991). Nugent y col. no toman en cuenta a los cocos grampositivos por tener una concordancia pobre con la enfermedad, estableciendo además un registro intermedio de mujeres que no son normales, pero que tampoco tienen VB pudiendo dejar de detectarse algunos casos.

Microscópicamente con la coloración de Gram, en los exudados vaginales de las pacientes con VB se observó, además de la marcada ausencia de lactobacilos, una flora bacteriana mixta abundante. En este trabajo, al valorar las combinaciones de los morfotipos y las células claves en pacientes con o sin VB, pudimos notar que la mayoría de las mujeres con VB presentaban un predominio de cocobacilos gramvariables sugestivos de Gardnerella y otros tipos morfológicos, tales como, bacilos gramnegativos, bacilos grampositivos, cocos grampositivos, bacilos curvos gramvariables, además de la presencia de células claves y una disminución en la población de lactobacilos. Por el contrario, en las pacientes sin VB, se observó un predominio de lactobacilos en la secreción vaginal (Tabla 8).

Es decir, la característica clave fue la ausencia de bacilos largos grampositivos (lactobacilos) y su reemplazamiento por bacilos gramvariables o gramnegativos, como lo indican Spiegel y col. (1983) y Nugent y col. (1991). En este estudio encontramos que, utilizando el sistema de Spiegel y col. la coloración de Gram tiene una sensibilidad y especificidad del 100% (Tabla 8). Easmon y col. (1992), reportan que en términos de especificidad y VPP, la coloración de Gram fue mejor

que la cromatografía de gas líquido o cultivo para *Gardnerella vaginalis*, aunque fue menos sensible.

A pesar que este estudio reveló una relación estrecha entre la positividad de la coloración de Gram para el diagnóstico de VB y el aislamiento de *G. vaginalis*, es importante señalar que el cultivo requiere de un laboratorio y personal especializados por lo que el mismo es recomendable no en el trabajo de rutina sino en estudio de investigación sobre VB.

*G. vaginalis*, se aisló como único patógeno en un 13,04% de las pacientes con VB y asociado en un 100% con la presencia de células claves. No obstante, en la mayoría de las pacientes con VB (56,62%) se encontró, además de *G. vaginalis*, un incremento en la población de bacterias anaeróbicas representadas por especies de los géneros *Prevotella*, *Peptostreptococcus*, y *Bacteroides*, principalmente (Tabla 9); además, bacilos curvos, sugestivos de *Mobiluncus*, se detectaron en un 18,18% de los casos.

Los hallazgos de los cultivos incubados en condiciones anaeróbicas ha contribuido grandemente al conocimiento de la etiología de la VB; sin embargo, actualmente no es recomendable su uso de rutina por las razones expuestas anteriormente.

Datos de cultivos microbiológicos realizados por Cook y col. (1992) muestran que los anaerobios obligados se aislaron en un 71% de los especímenes obtenidos de la vagina de 31 pacientes con VB aguda, igualmente indican que los géneros *Prevotella* y *Peptostreptococcus* se aislaron en más del 10% de dichas mujeres.

Varios investigadores han reportado un incremento en el número de anaerobios en mujeres con VB sintomática (Spiegel y col., 1980; Weaver y Mengel, 1988; Thomason y col., 1991; Cook y col., 1992) destacando el papel que juegan dichas bacterias en la etiología de VB. Señalan que son las enzimas producidas por las bacterias anaeróbicas y no por *Gardnerella*, las responsables del olor a pescado asociado con tal condición.

Por otra parte, virtualmente todas las mujeres que tenían *Mobiluncus* en la secreción vaginal padecían de vaginosis bacteriana; sin embargo, no todas las mujeres con VB tienen *Mobiluncus* como parte de su bacteriología vaginal anormal (Hallen y col., 1987). Spiegel y col., (1984) consideran a *Mobiluncus* como un marcador más útil y específico de VB que la misma *Gardnerella*, pero todavía existe el inconveniente de identificarlo en exámenes de preparaciones húmedas y la dificultad de aislarlo por técnicas de cultivos a partir de las secreciones vaginales.

En el presente estudio, se incluyó el medio de RLK, además de los medios utilizados de rutina en el ais-

lamiento de bacterias anaeróbicas. No obstante, en ninguno de los casos en que se observó morfología de bacilos curvos al Gram, se pudo detectar *Mobiluncus* en los cultivos anaeróbicos. Parece ser que la flora asociada presente en mayor cantidad que los bacilos curvos interfiere en su crecimiento (Smith y Moore, 1988).

Algunos investigadores (Gravett y col., 1986; Barbone y col., 1990; James y col., 1992) han reportado la asociación de VB con infecciones microbianas, tales como tricomoniasis, clamidiasis y gonorrea. En esta investigación, no encontramos tal asociación, quizás este hallazgo se debe a la naturaleza de la población estudiada.

La alta asociación entre los casos de VB y el uso de DIU (17/23) reportada en el presente trabajo concuerda con lo descrito anteriormente por Amsel y col. (1983), quienes encontraron en su estudio que más del 50% de las usuarias de DIU tenían VB. Adicionalmente Galdacre y col. (1979) (citado en Weaver y Mengel (1988) demostraron una asociación de anaerobios gramnegativos con el uso de DIU y con secreción sintomática, con la posibilidad de que desarrollasen además una enfermedad inflamatoria, pélvica, sobre todo las pacientes con VB que utilizan DIU con "cola" (Mardh, 1991).

## CONCLUSIONES

Con un nivel de confianza del 95% el porcentaje (36,5%) de VB obtenido en este estudio está dentro del rango esperado para las pacientes que asisten a consulta de Planificación Familiar.

Al evaluar los criterios individuales del método clínico usados en el diagnóstico de VB se encontró, que la detección de las células claves era el criterio más sensible y específico para el diagnóstico de VB, con un alto VPP y VPN.

Para dar un diagnóstico clínico confiable de VB se deben tomar en cuenta los cuatro parámetros clínicos: pH > 4,5, presencia de células claves, olor a aminas y flujo homogéneo.

No se encontró diferencia significativa ( $\alpha = 0.05$ ) entre el criterio de Spiegel y col., (1983) y Nugent y col., (1991) para evaluar la coloración de Gram, como método de diagnóstico de VB. La coloración de Gram interpretada por cualquiera de estos criterios conjuntamente con los hallazgos clínicos es una manera económica, sencilla, rápida y confiable que permite certificar la impresión clínica en forma inmediata y de esta manera orientar el tratamiento adecuado.

La coloración de Gram de la secreción vaginal de mujeres con VB evaluada por el criterio de Spiegel y

col., (1983) tiene una sensibilidad, especificidad y un VPP del 100%. A pesar que este estudio reveló una relación estrecha entre la positividad de la coloración de Gram para el diagnóstico de VB y el aislamiento de *G. vaginalis* y bacterias anaerobias, es importante señalar que el cultivo requiere de un laboratorio y personal especializado por lo que el mismo es recomendable no en el trabajo de rutina, sino en estudio de investigación sobre VB.

*Gardnerella vaginalis* conjuntamente con bacterias anaeróbicas (56,62%) de los géneros *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Peptostreptococcus* y *Mobiluncus* fueron los agentes causales de VB en la mayoría de las pacientes investigadas.

No se encontró la asociación de VB con otras infecciones del tracto genital inferior.

(recibido para publicación el 11-04-94)

## BIBLIOGRAFIA

- Ansel, R., Totten, P.A., Spiegel, C. A., Chen, K.C.S., Eschenbach, D., Holmes, K.K. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am. J. Med.*, 74 (14): 14-22, 1983.
- Andreu, A., Giménez, M., Elcuaz, R., Cresco, E., Roig, G. Aislamiento e identificación de *Mobiluncus curtisii* y *Mobiluncus mulieris* en muestras genitales. *Rev. Clin. Esp.*, 189: 18-20, 1991.
- Angelitti, G. y Nieves, B. Vaginosis bacteriana en pacientes que acuden a la consulta de planificación familiar. *Bol. Soc. Venez. Microbiol.*, 12 (1): 39, 1992.
- Ballows, A., Hausler, W., Herrmann, K., Isenberg, H., Shadomy, H. *Manual of clinical microbiology*. 5ta. Edición, pp. 538-551, 1991.
- Barbone, F., Austin, H., Louv, W.C., James, A. Am. A follow up study of methods of contraception, sexual activity, and rates of trichomoniasis, candidiasis, and bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 163 (2): 510-514, 1990.
- Biswas, M. Bacterial Vaginosis. *Clin. Obstet. and Gynecol.*, 36(1): 166-176, 1993.
- Briselden, A. M., Moncla, B. J., Stevens, C. E., Hillier, S. L. Sialidases (Neuraminidases) in bacterial vaginosis and bacterial vaginosis-associated microflora. *J. Clin. Microbiol.*, 30(3): 663-666, 1992.
- Burns, F. M., Gould, I.M., Patterson, A., Wood, W.J. Diagnosis of bacterial vaginosis in a routine diagnostic laboratory. *Med. Lab. Sci.*, 49: 8-11, 1992.
- Camel, F., *Estadísticas Médicas y de Salud Pública*. Universidad de Los Andes. Mérida, 1966.
- Catlin W. *Gardnerella vaginalis*: characteristics, clinical considerations, and controversies. *Clin. Microbiol. Rev.*, 5(3): 213-217, 1992.
- Coliman, K.M. *Fundamentos de Epidemiología*: Medellín, 1978.
- Cook, R.L., Redondo, V., Schmitt, Ch., Meriwether, C., Sobel, J. D. Clinical, microbiological, and biochemical factors in recurrent bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 30(4): 870-877, 1992.
- Cristiano, L., Coffetti, N., Dalvai, G., Lorusso, L., Lorenzi, M. Bacterial vaginosis: prevalence in out patients, association with some micro-organisms and laboratory indices. *Genitourin Med.*, 65: 382-387, 1989.
- Eason, C., Hay, P., Ison, C. Bacterial vaginosis: A diagnostic approach. *Genitourin Med.*, 68: 134-138, 1992.
- Eschenbach, D. A., Gravett, M. G., Chen, K., Hoyme, U. B., Holmes, K.K. Bacterial vaginosis during pregnancy. *Scand. J. Infect. Dis. Suppl.*, 40: 213-222, 1983.
- Eschenbach, D. A., Hillier, Sh., Critchlow, C., Stevens, C., Derouen, T., Holmes, K. K. Diagnosis and clinical manifestations of bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 158: 819-828, 1988.
- Eschenbach, D. A., Davick, P.R., Williams, B., Klebanoff, S. J., Smith, K. I., Critchlow, C., Holmes, K. K. Prevalence of hydrogen peroxide producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 27(2): 251-256, 1989.
- Eschenbach, D. A. Bacterial vaginosis and anaerobes in obstetric-gynecologic infection. *CID*, 16(4): 282-287, 1993.
- Fox, A. y Philips. Two curved rods in non-specific vaginitis. *Scand. J. Infect. dis. Suppl.*, 40: 213-222, 1984.
- Gardner, H. L. y Dukes, Ch. D. *Haemophilus vaginalis* vaginitis a newly defines specific infection previously classified " nonspecific " vaginitis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 69: 962-976, 1955.
- González, I. y Bellorín, E. Algo más sobre vaginosis bacteriana. *Bol. Soc. Venez. Microbiol.*, 11(1): 9, 1991.
- González, I. y Bellorín, E. Metodología en el estudio de la vaginosis bacteriana. Hospital Vargas de Caracas. Unidad de Microbiología y Enfermedades Infecciosas. Sección de Enfermedades de Transmisión: 1-17, 1992.
- Gravett, M. G., Preston, N., DeRoven, T., Critchlow, C., Eschenbach, D. A., Holmes, K. K. Independent associations of bacterial vaginosis and *Chlamydia trachomatis* infection with adverse pregnancy outcome. *JAMA*, 256 (14): 1899-1903, 1986.
- Hallen, A., Pahlson, C., Forsum, U. Bacterial vaginosis in women attending STD clinic: diagnostic criteria and prevalence of *Mobiluncus* spp. *Genitourin Med.*, 63: 386-389, 1987.
- Haroun, S. y Collins, D. *Prevotella*, a new to include *Bacteroides melaninogenicus* and related species formerly classified in the genus *bacteroides*. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 40(2): 205-208, 1990.
- Hay, P. E., Robinson, D. T., Lamont, R. F. Diagnosis of bacterial vaginosis in a gynaecology clinic. *Br. J. of Obstet. and Gynaecol.*, 99: 63-66, 1992.
- Heather, D., Krohn, M., Hillier, Sh., Eschenbach, D. A. Bacterial vaginosis as a risk factor for post-cesarean endometritis. *Obstet. Gynecol.*, 75(1): 52-58, 1990.
- Hill, L. H., Ruparelia, H., Embil, J. A. Nonspecific vaginitis and other genital infections in three clinic populations. *Sex. Transm. Dis.*, 10: 114-118, 1983.
- Hillier, S. L., Critchlow, C. W., Stevens, C. E., Roberts, C. M., Walner-Hanssen, P., Eschenbach, D. A., Holmes, K. K. Microbiological epidemiological and clinical correlates of vaginal colonisation by *Mobiluncus* species. *Genitourin Med.*, 67:26-31, 1991.
- Holst, E. Reservoir of four organisms associated with bacterial vaginosis suggests lack of sexual transmission. *J. Clin. Microbiol.*, 28(9): 2035-2039, 1990.
- James, J. A., Thomason, J. L., Gelbart, Sh. M., Osypowki, P., Kaiser, P., Hanson, L. Is trichomoniasis often associated with bacterial vaginosis in pregnant adolescents ?. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 166(3): 859-863, 1992.
- Joa-Granados, N., Arata, G., Castrillo, N., Carmona, O. La coloración de Gram en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Bol. Soc. Venez. Microbiol.*, 11(2 y 3): 3-8, 1991.
- Joesoef, M. R., Hillier, Sh. L., Josodiwondo, S., Linnan, M. Reproducibility of a scoring system for Gram stain diagnosis of bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 29(8): 1730-1731, 1991.
- Jawetz E., Melnick J., Adelberg E., Brooks G., Butel J., y Ornston L. *Microbiología Médica*, 13a. Edición, México, D. F.:

- Editorial El Manual Moderno. 1990.
- Jones, B.M. y Wilcox, L.M. The susceptibility of organisms associated with bacterial vaginosis to spermicidal compounds, in vitro. *Genitourin Med.*, 67: 475-477, 1991.
- Klebanoff, S. J., Hillier, S. L., Eschenbach, D. A., Waltersdorff, A. M. Control of the microbial flora of the vagina by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - generating lactobacilli. *J. Infect. Dis.*, 164: 94-100, 1991.
- Kurki, T., Sivonen, A., Renkonen, O., Savia, E., Ylikorkala, O. Bacterial vaginosis in early pregnancy and pregnancy outcome. *Obstet. Gynecol.*, 80(2): 173-177, 1992.
- Larsson, P. G. y Platz, J. J. Enumeration of clue cells in rehydrated air-dried vaginal wet smears for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Obstet. Gynecol.*, 76(4): 727-730, 1990.
- Larsson, P., G., Platz, J. J., Thejls, H., Forsum, U., Pahlson, C. Incidence of pelvic inflammatory disease after first-trimester legal abortion in women with bacterial vaginosis after treatment with metronidazole: A double-blind, randomized study. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 166(1): 100-103, 1992.
- Livengood, Ch. H., Thomason, J. L., Hill, G. Bacterial vaginosis: Diagnostic and pathogenetic findings during tropical clindamycin therapy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 163(2): 515-520, 1990.
- Majeroni, B. New concepts in Bacterial Vaginosis. *AFP.*, 44(4): 1215-1218, 1991.
- Mardh, P. The vaginal ecosystem. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 165(4): 1163-1167, 1991.
- Martius, J., Krohn, M. A., Hillier, S.L., Stamm, W.E., Holmes, K.K., Eschenbach, D. A. Relationships of vaginal lactobacillus species, cervical Chlamydia trachomatis, and bacterial vaginosis to preterm birth. *Obstet. Gynecol.*, 71: 89-95, 1988.
- Mazzulli, T., Simor, A., Low, D. Reproducibility of Interpretation of Gram-Stained Vaginal Smears for the Diagnosis of Bacterial Vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 28(7): 1506-1508, 1990.
- McDonald, H. M., O'loughlin, J. A., Jolley, P., Vigneswaran, R., McDonald, P. J. Vaginal infection and preterm labour. *British J. Obstet. Gynecol.*, 98: 427-435, 1991.
- Moi, H., Danielsson, D., Schoenknecht, F. An in vitro study of the Attachment to Vaginal Epithelial Cells of Anaerobic Curved Rods, *Bacteroides bivius* and *Bacteroides disiens*. *Scand J. Infect. Dis. Suppl.*, 40: 185-190, 1983.
- Nugent, R.P., Krohn, M. A., Hillier, Sh. L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.*, 29(2): 297-301, 1991.
- Ortiz, M. C., González, A., Morales, M., Camorlinga, M., Giono, S. Frecuencia de aislamiento de *Gardnerella vaginalis* y su relación con probables factores de riesgo en vaginosis bacteriana. *Rev. Lat. Amer. Microbiol.*, 32: 1-5, 1990.
- Pahlson, C. y Larsson, P. G. The ecologically wrong vaginal lactobacilli. *Med. Hypotheses*, 36: 126-130, 1991.
- Riordan, T., Macaulay, M. E., James, J. M., Leventhall, P. A., Morris, E. M., Neal, B. R., Rowland, J., Evans, B. M. A prospective study of genital infections in a family planning clinic. *Epidemiol. Infect.*, 104: 47-53, 1990.
- Rotimi, V. O., Yakubu, Z., Abudu, O. O., Banjo, T. O. Direct Gram's stain of vaginal discharge as a means of diagnosing bacterial vaginosis. *J. Med. Microbiol.*, 35: 103-106, 1991.
- Roy, S. Nonbarrier contraceptives and vaginitis and vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 165(4): 1240-1244, 1991.
- Sobel, J. D. Vaginal infections in adult women. *Med. Clin. North Am.*, 74(6): 1573-1602, 1990.
- Soper, D. E., Brump, R. C., Hurt, W.G. Bacterial vaginosis and trichomoniasis vaginitis are risk factors for cuff cellulitis after abdominal hysterectomy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 163(3): 1016-1023, 1990.
- Spiegel, C. A., Amsel, R., Eschenbach, D., Schoenknecht, F., Holmes, K. Anaerobic bacteria in nonspecific vaginitis. *N. Engl. J. Med.* 303(11) 601-607, 1980.
- Spiegel, C. A., Amsel, R., Holmes, K. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. *J. Clin. Microbiol.*, 18(1): 170-177, 1983.
- Spiegel, C. A., Roberts, M. *Mobiluncus* gen. nov., *Mobiluncus curtisii* subsp. *curtisii* sp. nov., *Mobiluncus curtisii* subsp. *holmesii* subsp. nov., and *Mobiluncus mulieris* sp. nov., curved rods from the human vagina. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 34(2): 177-184, 1984.
- Shepard, A., Cammarata, C., Martin, D. Comparison of Different Medium Bases for the Semiquantitative Isolation of Anaerobes from Vaginal Secretions. *J. Clin. Microbiol.*, 28(3): 455-457, 1990.
- Schoonmaker, J., Lunt, B. D., Lawellin, D. W., French, J. L., Hillier, Sh., McGregor, J. A new proline aminopeptidase assay for diagnosis of bacterial vaginosis. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 165(3): 737-742, 1991.
- Schwebke, J. R., Lukehart, S. A., Roberts, M. C., Hillier S. L. Identification of two new antigenic subgroups within the genus *Mobiluncus*. *J. Clin. Microbiol.*, 29(10): 2204-2208, 1991.
- Sjoberg, L., Hakansson, S. Endotoxin in vaginal fluid of women with bacterial vaginosis. *Obstet. Gynecol.*, 77(2): 265-266, 1991.
- Smith, H.J., Moore, H. Isolation of *Mobiluncus* species from clinical specimens by using cold enrichment and selective media. *J. Clin. Microbiol.*, 26(6): 1134-1137, 1988.
- Thomason, J. L., Gelbart, Sh. M., Anderson, R. J., Walt, A.K., Osypowski, P. J. Statistical evaluation of diagnostic criteria for bacterial vaginosis. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 162: 155-160, 1990.
- Thomason, J. L., Gelbart, Sh. M., Scaglione, N.J. Bacterial vaginosis: current review with indications for asymptomatic therapy. *Am. J. Obstet., Gynecol.*, 165 (4): 1210-1271, 1991.
- Torres, I. y Conde, C. *Mobiluncus* é Nuevo patógeno microbiano ?. *Infectología*, 2:44-49, 1986.