

MOBILUNCUS SPP. EN LA VAGINOSIS BACTERIANA: CRITERIOS DIAGNOSTICOS

María de los Angeles Acuña*, Francisco Hernández*, Evelyn Rodríguez*, María del Mar Gamboa*, Oscar Coto** y María de los Angeles San Román***.

RESUMEN:

*Se evaluaron 30 pacientes remitidas al Servicio de Ginecología del Hospital San Juan de Dios, 15 de ellas presentaban síntomas clínicos compatibles con vaginitis y 15 eran asintomáticas. De cada paciente se tomó una muestra de secreción vaginal, que se analizó microscópicamente a fresco y por tinción de Gram, se evaluó el pH y se hizo la prueba de aminas. Dieciocho casos, incluyendo 3 asintomáticos, presentaron alteraciones de la flora vaginal, cuatro de los cuales fueron catalogados como vaginosis bacteriana. En tres de ellos se observó bacterias similares a **Mobiluncus**, que se aisló de dos casos y que se identificó como **M. mulleris**.*

INTRODUCCION

La vagina humana representa un nicho ecológico dinámico, cuya flora es influenciada por cambios asociados con la edad, el influjo hormonal, la menstruación, la gestación y el parto (1). Bajo condiciones normales, la flora vaginal está constituida principalmente por **Lactobacillus** spp, cuyo metabolismo induce un ambiente ácido. Los procesos infecciosos aumentan el pH, debido a la sustitución de los

lactobacilos por una flora mixta, en la que predominan bacilos gramnegativos facultativos y anaerobios (1). El cuadro clínico más conocido es la vaginitis, caracterizada por la inflamación de la mucosa vaginal y la presencia de secreción blanquecina con abundantes leucocitos (2). Este cuadro se ha asociado con levaduras como **Candida** spp. y **Saccharomyces cerevisiae**, bacterias como **Chlamydia trachomatis**, **Gardnerella vaginalis**, **Mycoplasma hominis** y **Bacteroides** spp, entre otros, y parásitos como **Trichomonas vaginalis** (1). Sin embargo, ante la imposibilidad de aislar un germen potencialmente infeccioso de un porcentaje importante de los casos de vaginitis, se acuñó el término "vaginitis inespecífica", y se incriminó a algunas bacterias anaerobias en su etiología (3, 4, 5).

La búsqueda de organismos anaerobios en las secreciones vaginales, cuyas primeras descripciones datan de principio de siglo, llevó al aislamiento e identificación de **Mobiluncus** spp., una bacteria curva, Gram variable, móvil, con 4 y 8 flagelos lofotricos subpolares, anaerobia estricta, de lento crecimiento y bioquímicamente poco reactiva, lo que la cataloga como un organismo de aislamiento difícil (6). Su asociación con secreciones vaginales, aún en ausencia de inflamación, condujo a la definición del síndrome "vaginosis bacteriana", para referirse a una alteración del ecosistema vaginal, que puede desembocar en otros cuadros clínicos importantes, como ruptura prematura de membranas, conoamnionitis **post partum**, inflamación pélvica, abscesos en mamas, umbilicales, en cuero cabelludo de recién nacidos y en heridas

* Departamento de Microbiología,
Facultad de Microbiología,
Universidad de Costa Rica,
San José, Costa Rica.

** Servicio de Ginecología,
Hospital San Juan de Dios,
San José, Costa Rica.

*** Laboratorio Clínico Dr. Clodomiro Picado,
Hospital San Juan de Dios,
San José, Costa Rica.

quirúrgicas, lo que indirectamente muestra el potencial patogénico de este agente (7).

La vaginosis bacteriana se asocia con la presencia de una secreción lechosa adherente, con un valor de pH mayor de 4,5, presencia de células epiteliales colonizadas por bacterias, denominadas células guía, prueba de aminas positiva y sobre todo, la observación de bacterias móviles (8, 9, 10). El cumplimiento de tres de los primeros cuatro criterios enumerados permite hacer el diagnóstico (10).

Debido al carácter fastidioso de este organismo, se han propuesto métodos alternos a su aislamiento para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana, como cromatografía de gases de las secreciones vaginales y estudio de frotis teñidos con Gram de esas secreciones (7). El propósito de este estudio fue evaluar y adaptar el análisis de los hallazgos realizados en frotis de secreciones vaginales, como herramienta diagnóstica en las vaginosis bacterianas.

MATERIAL Y METODOS:

Se analizaron 30 pacientes adultas, atendidas en el Servicio de ginecología del Hospital San Juan de Dios. Cada paciente se valoró clínicamente, según presentase secreción, enrojecimiento de la mucosa vaginal y prurito. Quince de ellas fueron catalogadas como casos de posible vaginitis y las restantes carecían de síntomas. De cada una se colectó una muestra, lavando el fórnix vaginal con solución salina estéril, empleando una jeringa de 1 ml sin aguja. El líquido de lavado se recogió en la jeringa, a la cual se le colocó la aguja y se pinchó contra un tapón de hule para evitar al máximo posible el contacto con el oxígeno. Las muestras se transportaron al laborato-

rio y se guardaron a 4°C hasta su procesamiento, que fue realizado en un período menor de 4 horas desde su recdección.

De cada muestra se analizó una preparación a fresco, en busca de células guía, **Trichomonas vaginalis**, **Candida** spp. y bacterias móviles. Se midió el pH, se hicieron dos frotis, uno para tinción de Gram y otro para la prueba de aminas. Esta última se hizo agregando dos o tres gotas de KOH al 10% a un frotis de la secreción y se interpretó como positiva cuando se produjo un fuerte olor a pescado (3,8,9,10).

La secreción de cada paciente se inoculó en platos con agar sangre, para aislamiento de **Candida** y **Gardnerella** (11). Cuando se observó bacterias móviles o bacilos curvos Gram variables, usualmente grannegativos, se inoculó la secreción en tubos con caldo peptona-levadura (PY) y con agar infusión de cerebro y corazón ("tubos arrollados"), ambos enriquecidos con suero humano y prerreducidos (PRAS). El material también se inoculó en platos con agar sangre y agar chocolate, que se incubaron a 35°C durante 5 a 10 días en anaerobiosis (GasPak). Las colonias de bacterias similares a las descritas para **Mobiluncus** spp. se analizaron mediante tinción de Gram, bioquímica y cromatografía de gases (12).

RESULTADOS:

Las 30 pacientes estudiadas presentaron algún tipo de secreción y con excepción de dos casos cuyo pH fue mayor de 5,1, el resto presentó valores de pH entre 4,5 y 5,0.

El análisis de los morfotipos bacterianos observados en la tinción de Gram reveló que sólo 11 de los 15 casos asintomáticos presentaron flora normal, los 19 restantes presentaron

alteraciones, en tres de ellos predominó una flora cocobacilar gramnegativa; aunque no se aisló **Gardnerella**. En tres casos se observó bacterias curvas gramnegativas y en tres se observó levaduras, que correspondieron a **Candida albicans**. En 10 casos la flota era mixta, incluyendo cocos grampositivos, bacilos gramnegativos y grampositivos, en uno de ellos también se aisló **C. albicans**.

En dos de los tres casos en los que se detectó la presencia de bacterias curvas en la tinción de Gram, o bacterias móviles en el frotis a fresco; se aisló **Mobiluncus**. Las colonias sospechosas se detectaron más fácilmente en el agar sangre que en el agar chocolate; aunque a los 10 días de incubación las colonias median menos de 1 mm de diámetro, eran convexas e incoloras. La morfología, tanto en la tinción de Gram como al microscopio electrónico (Figura 1), el perfil bioquímico y el cromatograma de este agente, permitió clasificar ambas cepas como **Mobiluncus mulleris** (Cuadro 1). En conclusión, se detectó la posible presencia de **Mobiluncus**, en 3 (16% de 19 casos sintomáticos estudiados; aunque la bacteria sólo se logró aislar a partir de dos casos. En estos tres, se detectó la presencia de células guía y dieron la prueba de aminas positiva. Estos tres casos corresponden a vaginosis bacteriana, pues cumplieron al menos con tres de los cuatro criterios utilizados para su diagnóstico. Otro caso, en el que no se detectó **Mobiluncus**, presentó células guía, pH > 4,5 y secreción, por lo que también cumple con los criterios diagnósticos de vaginosis bacteriana.

DISCUSION:

La identificación de **Mobiluncus** en secreciones vaginales tiene un costo relativamente alto, debido a que el cul-

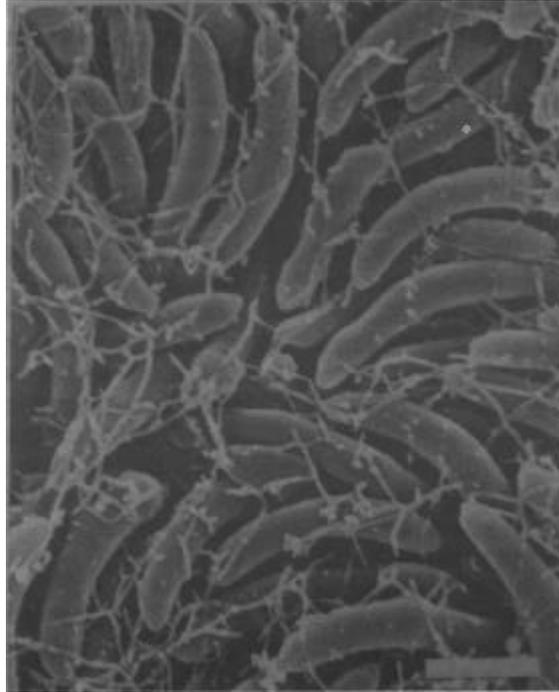
tivo debe hacerse en anaerobiosis (1); además, los criterios para identificarle no están incluidos en la rutina de un laboratorio clínico, al menos en Costa Rica. Por lo tanto, es importante la búsqueda de criterios diagnósticos, que aunque en algunos casos presuntivos, permitan catalogar los cuadros clínicos para orientar el tratamiento. En la vaginosis bacteriana el diagnóstico requiere del examen clínico para catalogar las posibles alteraciones de la mucosa y secreción vaginal (5); aunque no siempre se detectan cambios suficientes para confirmar el diagnóstico clínico. Por lo tanto, éste debe complementarse con el análisis de frotis vaginales a fresco, prueba de aminas, valoración del pH de las secreciones vaginales y tinción de Gram (1, 6, 7). Esto se pone de manifiesto en el estudio de nuestra serie de pacientes, pues 4 de los 15 casos asintomáticos mostraron alteraciones en la flora bacteriana, que permitieron su catalogación como vaginosis bacteriana.

SUMMARY:

Thirty gynecology patients in were studied; 15 of them with vaginal symptoms and the others asymptomatic. A sample of vaginal secretion was taken from each patient, and fresh and Gram stained smears from these samples were analysed microscopically; (pH In each sample, pH was evaluated and amines tests were done) evaluation and amines test were done from each sample. Nineteen cases, including 4 asymptomatic, presented vaginal microflora altered. Four cases were diagnosed as bacterial vaginosis, and in three of them curve shaped rods detected. **Mobiluncus** was isolated from two cases, and identified as **M. mulieris**.

DESCRIPCION DE LA FIGURA 1

Micrografía electrónica de barrido de la superficie de una colonia de *Mobiluncus*; se aprecia los bacilos curvos y algunos flagelos adheridos a la superficie de las bacterias (Barra = 1 μm).



CUADRO 1

Características fenotípicas de *Mobiluncus* spp^a

Característica ^b	M. curtisii curtisii ^b	M. Curtisii Holmesii ^b	M. Mulieris ^b
Fermentación de ^c :			
Arabinosa	-	-	-(amd)
Fructosa	amd (-)	amd (-)	ad
Galactosa	d	amd pr-	amd (-)
Glucosa	ad (v)	-(amd)	af(ad)
Glucogeno	amd	amd (-)	af
Inositol	-	-	af(v)
Lactosa	-(vw)	-	-(amd
Maltosa	ad9af)	amd (-)	af
Manosa	-(amd)	-	amd 0 -
Melibiosa	af(v)	-(ad)	-
Rafinosa	af(v)	-(ad)	-
Ramnosa	-	-	-(amd)
Ribosa	-	-	- o ad
Almidón	-	-(amd)	ad
Sacarosa	-	-	af o -
Trealosa	-	-	af o -
Xylosa	v	amd(-)	af(v)
Nitratos	-	+	-(+)
CLG ^d	aS	aS	AS(1)

- Adaptado de Spiegel y Roberts, 1984 (Ref No 66).
- Todos los aislamientos son móviles e hidrolizan el almidón. Ninguno produce ácido del manitol o salicina; tampoco hidrolizan esculina, ni producen gelatinasa después de 30 días de incubación. No producen lecitinasa, lipasa, indol, catalasa ni oxidasa.
- + Positivo; -, negativo; amd, acidez muy débil (pH 6,1 to 6,5); ad, acidez débil (pH 5,5 to 6,0); af, acidez fuerte (pH <5,5); y, variable.
- Resultados de cromatografía de gases (CG) en caldo PY auplementado con glucógeno y 2% de suero: a, >1 meq de acetato por 100 ml; A, > 1 meq de acetato por 100 ml; 1, < 1 meq de lactado por 100 ml; 5,> 1 meq de succinato por 100 ml.

BIBLIOGRAFIA

1. Siegel, C. A.: Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol. Rev.*, 1991;4:485-502.
2. Hay, P. E.; Taylor-Robinson, D. y Lamont, R. E.: Diagnosis of bacterial vaginosis in a gynecology clinic. *Br. J. Obstet-Gynecol*, 1992; 99: 63-66.
3. Burns, F. M.; Gould, I. M.; Patterson, A. y Wood, W. J.: Diagnosis of bacterial vaginosis in a routine diagnostic laboratory. *Med. Lab. Sci.*, 1992; 49:8-11.
4. Cook, R. L.; Redondo-López, V.; Schmitt, C.; Meriwether, C. y Sobel, J. D.: Clinical, microbiological, and biochemical factors in recurrent bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1992; 30: 870-877.
5. Cristiano, L.; Coffetti, N.; Dalvai, G.; Lorusso, L. y Lorenzi, M.: Bacterial vaginosis: prevalence in outpatients, asociación with some micro-organisms and laboratory indices. *Genitourin. Med.*, 1989; 65:382-387.
6. Spiegel, C. A. y Roberts, M.: *Mobiluncus* gen. nov., *curtisii* sp. nov., *Mobiluncus curtisii* subspecies *holmesii* subsp. nov., and *Mobiluncus mulieris* sp. nov., curved rods from the human vagina. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 1984; 34:177-184.
7. Spiegel, C. A.- The genus *Mobiluncus*. En: Balows, A., Truper, T. G., Dworkin, M., Harder, W. y Scherifer, K. H. (eds.) *Prokaryotes*, 2nd. ed. Springer-Verlag, N. Y. 1992; p. 906-917.
8. Joesoef, M. R.; Hillier, S. L.; Josodiwondo, S. y Linnan, M.: Reproducibility of a scoring system for Gram stain diagnosis of bacterial vaginosis. *J. Clin. Microbiol.*, 1991;29:1730-1731.
9. Krohn, M. A.; Hiller, S. L. y Eschenback, D. A.: Comparison of methods for diagnosing bacterial vaginosis among pregnant women. *J. Clin. Microbiol.*, 1989, 27:1266-1271.
10. Nugent, R. P.; Krohn, M. A.; y Hillier, S. L.: Realibility of diagnosing bacterial vaginosis in improved by a standarized method of Gram stain interpretation. *J. Clin. Microbiol*, 1991; 29:297-301.
11. Piot, P.: Gardnerella, Streptobacillus, Spirillum, and Calymatobacterium. En: Balows, A.; Hausler, W. J.; Herrmann, K. L.; Isenberg, H. D. y Shadomy, H. J. (Eds.) *Manual of Clínica Microbiology*, 5th. ed. ASM, Washington, D. C. 1991; p. 483-487.
12. Holdeman, L. V.; Cato, E. P. y Moore, W. E. C. (ed.) *Anaerobic laboratory manual*, 4th ed. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksinking. 1977;pp. 152.