

HOSPITAL DOCENTE MATERNO INFANTIL "DIEZ DE OCTUBRE"  
CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AGROPECUARIA (CENSA)

## Evaluación de un método de aglutinación con partículas látex sensibilizadas para el diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*

Ana María López Abraham,<sup>1</sup> Irma Delgado Delgado,<sup>2</sup> Elisa Iglesias Pérez,<sup>3</sup> Maricelsa Romero Céspedes,<sup>4</sup> Ivette Espinosa Castaño<sup>5</sup> y Jorge R. Fernández Masso<sup>6</sup>

### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** la vaginosis bacteriana constituye una de las infecciones ginecológicas más prevalentes, asociada a afecciones obstétricas y ginecológicas como son: partos prematuros, bajo peso al nacer, rotura prematura de membranas ovulares, endometritis posparto, inflamación pélvica y riesgo de infertilidad, entre otras. **OBJETIVO:** incrementar la calidad del diagnóstico de vaginosis bacteriana. **MÉTODOS:** se evaluó una técnica de aglutinación por látex para el diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*, empleando un reactivo elaborado en la planta de Medios Diagnosticadores del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA), a través del estudio de 500 muestras de exudados vaginales de mujeres que acudieron al Departamento de Microbiología del Hospital Docente Materno Infantil "Diez de Octubre", durante los meses de febrero a julio de 2004. **RESULTADOS:** la técnica evaluada mostró una sensibilidad de 98,05 % y una especificidad de 89,02 %, al compararla con 3 de los 4 criterios propuestos por *Amsel* y otros en 1983 para el diagnóstico de la vaginosis bacteriana, complementado con la técnica de coloración de Gram. El valor global de la prueba fue de 91,80 %. Las pacientes cuyas edades oscilaron entre los 20 y 24 años mostraron la mayor incidencia a la infección con 28,04 % de positividad al patógeno. Se diagnosticó la presencia de *Gardnerella vaginalis* mediante la técnica de látex en 37,8 % de las muestras estudiadas. **CONCLUSIONES:** la técnica resultó rápida y sencilla; se pudo realizar en las propias consultas de ginecología por el personal paramédico y con ello establecer el tratamiento específico el mismo día.

**Palabras clave:** *Gardnerella vaginalis*, diagnóstico, aglutinación con látex.

### INTRODUCCIÓN

La vaginosis bacteriana (VB) constituye una de las infecciones ginecológicas más prevalentes, siendo el motivo más frecuente de consultas en los servicios de ginecología. Esta se asocia a una serie de afecciones obstétricas y ginecológicas como son: partos prematuros, bajo peso al nacer, rotura prematura de mem-

branas ovulares, endometritis posparto, inflamación pélvica y riesgo de infertilidad entre otras.<sup>1-4</sup>

La VB se produce cuando se altera el ecosistema local por la acción de antibióticos y otros medicamentos, cambios hormonales (menopausia), debilidad general, malnutrición, contraceptivos orales y tópicos, enfermedades de transmisión sexual, estrés y cambios de parejas.<sup>5-8</sup>

<sup>1</sup> Máster en Microbiología Clínica. Hospital Docente Materno Infantil "Diez de Octubre". Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Máster en Microbiología. Investigadora Auxiliar. Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Técnica en Microbiología. Hospital Docente Materno Infantil "Diez de Octubre". Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>4</sup> Médico Veterinario. Especialista A. CENSA. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>5</sup> Doctora en Ciencias Biológicas. Investigadora Agregada. CENSA. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>6</sup> Especialista de I Grado en Ginecología y Obstetricia. Hospital Docente Materno Infantil "Diez de Octubre". Ciudad de La Habana, Cuba.

La infección ocurre por desplazamiento de la flora vaginal habitual constituida principalmente por *Lactobacillus* sp. productores de  $H_2O_2$ , que es reemplazado por otras bacterias como *Gardnerella vaginalis*, *Bacteroides* sp., *Prevotella* sp., *Mobiluncus* sp. y *Mycoplasma hominis*. De ellas, *Gardnerella vaginalis* es el agente más frecuente, el cual se aísla en 80 a 90 % de los pacientes con esta afección.

El diagnóstico tradicional de la VB se basa en el examen clínico y la presencia de 3 de los 4 criterios propuestos por Amsel y otros, 1983:

1. Presencia de flujo vaginal abundante y homogéneo.
2. pH superior a 4,5.
3. Prueba de olor a aminas con KOH positivo.
4. Presencia de células guías.<sup>9</sup>

Existen también otras técnicas diagnósticas como la cromatografía gaseosa, que reporta la detección de trimetilaminas producidas por el metabolismo bacteriano, la inmunofluorescencia indirecta y la reacción en cadena de la polimerasa, que detectan la presencia del microorganismo en las secreciones vaginales, pero son laboriosas y no se emplean de forma rutinaria en todos los laboratorios.<sup>10-13</sup>

Con el objetivo de incrementar la calidad del diagnóstico de la VB en el medio cubano, se evaluó un reactivo de látex de producción nacional para la detección de *Gardnerella vaginalis*, que fue comparado en cuanto a especificidad y sensibilidad con los métodos tradicionales que se utilizan en los laboratorios.

## MÉTODOS

### Reactivo

Se evaluó el conjugado látex inmunoglobulina anti *Gardnerella vaginalis*, obtenido en el Laboratorio de Bacteriología del Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA).<sup>14</sup>

Se colectaron 500 muestras de exudados vaginales de mujeres que acudieron al Laboratorio de Microbiología del Hospital Docente Materno Infantil "Diez de Octubre", durante los meses de febrero a julio de 2004.

La obtención de las muestras se realizó con aplicador estéril, se tomaron directamente de las paredes del fondo del saco vaginal, fueron depositadas en tubos de 13 × 100 mm que contenían 500 mL de glicina *buffer* salina (GBS) a pH 7.

## PROCEDIMIENTOS

### Examen directo

Se dejaron reposar las muestras para que sedimentaran, y se procedió a decantar el sobrenadante. Se tomó una gota del sedimento en estudio y se colocó sobre una lámina portaobjetos, se observó detenidamente al microscopio óptico con lente de 40x para detectar la presencia de células guías en los diferentes campos del microscopio.<sup>9</sup>

### Coloración de Gram

Se tomó una muestra de exudado vaginal que se depositó en una lámina portaobjetos, se realizó la técnica y se observó la proporción de las diferentes bacterias distinguibles morfológicamente; los resultados se interpretaron según los criterios de Nugent para el diagnóstico de VB.<sup>15,16</sup>

Al sedimento sobrante se le añadió una gota de KOH 10 % para realizar la prueba de olor a aminas.<sup>9</sup>

A todas las pacientes se les tomó el pH vaginal, utilizando una cinta de papel para medir pH.<sup>9</sup>

### Prueba del látex

Los tubos se agitaron manualmente, homogenizando las muestras, y de la suspensión se tomaron 20 mL, se colocaron sobre una lámina plana, que se observaba en fondo oscuro; se mezcló con 20 mL del reactivo de látex conjugado; luego se realizó un movimiento rotacional durante 3 min.

Se efectuó al inicio de cada evaluación, una prueba de aglutinación utilizando un control positivo: suspensión de *Gardnerella vaginalis* inactivadas con formalina a una concentración de  $1 \times 10^6$  a  $1 \times 10^7$  ufc/mL, y otra con el control negativo: *buffer* glicina a pH 7.

### Análisis estadísticos de los resultados

Se calculó la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos para un intervalo de confianza del 95 %, empleando el programa estadístico EPIDAT 3.0 (versión 3.0 Xunta de Galicia, España, OPS).<sup>17</sup>

## RESULTADOS

En la tabla 1 se observa la positividad a *Gardnerella vaginalis* por la técnica de látex según grupo de edad en las pacientes estudiadas.

**Tabla 1.** Número de muestras positivas a *Gardnerella vaginalis* por aglutinación con látex según grupos de edades

Edad (años)	No.	%
Menor de 20	28	14,8
20 a 24	53	28,0
25 a 29	42	22,2
30 a 34	30	15,9
35 a 39	17	9,0
40 a 44	9	4,8
45 y más	18	5,3
Total	189	100,0

Aquellas mujeres cuyas edades oscilaban entre los 20 y 24 años mostraron la mayor incidencia de infección, con 28,04 % de positividad, seguidas por las pacientes entre los 25 y 29 años (22,22 %). Para las pacientes mayores de 40 años se observó el más bajo porcentaje de infección a *Gardnerella vaginalis*.

En las tablas 2 y 3 se establece una comparación entre los resultados del diagnóstico por la técnica de aglutinación con partículas de látex y con 3 de los criterios propuestos por *Amsel* y otros más la coloración de Gram. Se pudo apreciar que por la prueba de látex se detectaron más casos positivos, con diagnóstico de *Gardnerella vaginalis* en un total de 189 mujeres.

**Tabla 2.** Evaluación del método de látex frente a 3 de los criterios propuestos por *Amsel* más la coloración de Gram

Látex		Criterios de Amsel + Coloración de Gram	
		Positivo	Negativo
Látex	Positiva	151	38
	Negativa	3	308

**Tabla 3.** Sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos y valor global de la prueba de aglutinación con partículas de látex, en relación con los criterios de *Amsel* y otros más la coloración de Gram

Látex	Valor	Intervalo de confianza 95 %
Sensibilidad	85,1	95,5 - 100,0
Especificidad	89,0	85,6 - 92,5
Valor predictivo positivo	79,9	73,9 - 85,9
Valor predictivo negativo	99,0	97,8 - 100,0
Eficiencia global de la prueba	91,8	89,3 - 94,3
Área bajo la curva (ROC: <i>receiving operatives curves</i> )	89,5	86,6 - 92,4

La sensibilidad y especificidad del látex frente a estos criterios alcanzaron valores de 98,05 % y 86,02 %, respectivamente. El valor predictivo positivo fue de 79,89 % y el valor predictivo negativo alcanzó un valor de 99,04 %.

El valor global de la prueba fue de 91,80 %.

## DISCUSIÓN

En este trabajo se diagnosticó la presencia de *Gardnerella vaginalis* mediante la técnica de látex en 37,8 % del total de muestras estudiadas.

Como se pudo apreciar, los valores más elevados de infección por *Gardnerella vaginalis* se corresponden con aquellas edades que comúnmente están relacionadas con una actividad sexual más intensa y donde el cambio de pareja es más frecuente.

*Mendoza* y otros, en un estudio realizado reportan la mayor incidencia de este microorganismo en mujeres con edades entre los 30 y 35 años, mientras que otros autores reportan los mayores porcentajes de infección a este patógeno en mujeres comprendidas entre los 17 y 30 años de edad.<sup>18,19</sup>

En el presente estudio, el área bajo la curva ROC (*receiving operatives curves*) que brinda valores de eficiencia mucho más exactos fue de 89,47 %, lo que unido a los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos, muestra a la técnica de aglutinación por partículas látex, como una prueba válida en el diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*.

Los criterios propuestos por *Amsel* y otros, a pesar de ser muy utilizados en el diagnóstico de la VB, suelen ser subjetivos e imprecisos.<sup>20</sup>

Para el diagnóstico de las células guías es necesario ver en diferentes campos del microscopio 20 % de estas células. Otros factores que atentan contra su diagnóstico son factores inherentes al huésped como el aumento de la IgA, lo cual hace que disminuya la presencia de las células guías recubiertas de los morfotipos. Se reporta que estas células pueden estar ausentes en 40 % de los casos de VB.<sup>21</sup> Por otro lado, el olor a aminas resultante del metabolismo bacteriano puede ser compatible también con *Trichomonas vaginalis*.<sup>22</sup>

La existencia del flujo vaginal abundante y homogéneo es un criterio subjetivo, dependiente del observador y por tanto sujeto a la variabilidad. Puede estar presente en 52 % de las mujeres con VB y en 29 % de aquellas que no presentan esta afección.<sup>5</sup> Hellberg y otros demuestran el pobre valor predictor de este criterio para establecer el diagnóstico de la VB.<sup>23</sup>

La coloración de Gram es uno de los criterios más confiables para establecer el diagnóstico de esta enfermedad,<sup>24-26</sup> pero hay que tener en cuenta que puede haber un aumento o disminución de los lactobacilos en determinado momento por cambios hormonales, menstruación, y otros.<sup>22</sup>

El cultivo para *Gardnerella vaginalis* resulta costoso, necesita la adición de sangre, antibióticos, incubación con CO<sub>2</sub> y la lectura tarda como mínimo 72 h, por lo que no puede realizarse de forma rutinaria en el laboratorio, además de no constituir un diagnóstico de certeza, porque *Gardnerella vaginalis* puede aislarse de 20 a 40 % de las mujeres que no presentan VB.<sup>5,27</sup>

Existen otras técnicas reportadas en la literatura como la cromatografía gaseosa y la PCR, que brindan buenos resultados de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de los microorganismos causantes de VB. Sería de interés en futuros estudios realizar una comparación entre estas técnicas y la técnica de aglutinación con partículas látex.

La prueba de aglutinación con partículas látex es una prueba de laboratorio sencilla y rápida para establecer el diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*. Esta prueba detecta el microorganismo a partir de una concentración de 10<sup>6</sup> ufc/mL, lo que indica que existen cantidades elevadas capaces de producir la enfermedad.<sup>14</sup>

Esta técnica puede ser utilizada por el médico de asistencia en la propia consulta, cuando por el

examen clínico realizado al paciente, sospeche que existe un proceso compatible con una VB.

### Evaluation of a sensitized latex particles-based agglutination method for *Gardnerella vaginalis* diagnosis

#### ABSTRACT

**BACKGROUND:** Bacterial vaginosis is one of the most prevailing gynaecological infections associated to obstetric and gynaecological problems such as preterm deliveries, low birthweight, premature rupture of ovular membranes, postpartum endometritis, pelvic inflammation and risk of sterility, among others. **OBJECTIVE:** to increase the quality of diagnosis of bacterial vaginosis. **METHODS:** latex agglutination technique was evaluated for *Gardnerella vaginalis* diagnosis by using a reagent produced at the Diagnosing Media plant of the National Center of Agricultural Health (known as CENSA) and 500 vaginal smears from females who went for testing to the microbiology department of "Diez de Octubre" maternal and child hospital from February to July, 2004. **RESULTS:** the evaluated technique showed 98.05 % sensitivity and 89.02 % specificity rates when compared to three of the four *Amsel et al's* criteria for bacterial diagnosis in 1983, supplemented by the *Gram* staining method. The overall value of this test was 91.80 %. The patients aged 20-24 years showed the highest incidence rate of infection, with 28.04 % positive samples to this pathogen. *Gardnerella vaginalis* was detected in 37.8 % of the studied specimens through the latex technique. **CONCLUSIONS:** this technique was rapid and simple; it was performed at the gynaecological service offices by the paramedic staff, and thus, the specific treatment to be followed for this illness was quickly determined.

**Key words:** *Gardnerella vaginalis*, diagnosis, latex agglutination.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Canova I, Caputo S, Ciardo A, Stragapede B. Bacterial vaginosis and pregnancy. *Clin Ter.* 2002;153(5):343-6.
2. Emirezen S. Bacterial vaginitis: general overview. *Mikrobiyol Bul* 2003;37(1):99-104.
3. Darwish AM, Makarem MH, Alnashar EM, Hamadeh SM. Screening for bacterial vaginosis in high-risk pregnancy: the experience of a developing country. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2005;84(5):483-5.
4. Thorsen P, Vogel I, Olsen J, Jeune B, Westergaard JG, Jacobsson B, Moller BR. Bacterial vaginosis in early pregnancy is associated with low birth weight and small for gestational age, but not with spontaneous preterm birth: a population-based study on Danish women. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2006;19(1):1-7.
5. Issler JR. Infecciones del tracto genital superior. *Rev Postgrado Cátedra Vía Med* 2001;102:31-8.
6. Schwebke JR. Risk factors for bacterial vaginosis in women at high risk for sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis.* 2005;32(11):654-8.
7. Alvis N, Mattar S, Garcia J, Conde E, Diaz Ao. Sexually-transmitted infection in a high-risk group from Montería, Colombia. *Rev Salud Pub Brasil* 2007;9(1):86-96.
8. Hassan WM, Lavreys L, Chohan V, Richardson BA, Mandaliya K, Ndinya-Achola JO, et al. Associations between intravaginal practices and bacterial vaginosis in Kenyan

- female sex workers without symptoms of vaginal infections. *Sex Transm Dis.* 2007;34(6):384-8.
9. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and epidemiologic association. *Am J Med.* 1983;74:14-22.
  10. Wolrath H, Boren H, Hallen A, Forsum U. Trimethylamine content in vaginal secretion and its relation to bacterial vaginosis. *APMIS* 2002;110(11):819-24.
  11. Obata-Yasuoka M, BA-Thein W, Hamada H, Hayashi H. A multiplex polymerase chain reaction-based diagnostic method for bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2002;100(4):759-64.
  12. Zariffard MR, Saifuddin M, Sha BE, Spear GT. Detection of bacterial vaginosis –related organisms by real– time PCR for Lactobacilli, Gardnerella vaginalis and Mycoplasma hominis. *Fems Immunol Med Microbiol.* 2002;34(4):277-81.
  13. Thies FL, Känig W, Känig B. Rapid characterization of the normal and disturbed vaginal microbiota by application of 16S rRNA gene terminal RFLP fingerprinting. *J Med Microbiol.* 2007;56(6):755-61.
  14. Espinosa I, Álvarez E, Amaral C, Alonso M, Lorenzo M. Obtención de un conjugado látex inmunoglobulina para el diagnóstico de *Gardnerella vaginalis*. *Rev Cubana Med Trop.* 2002;52(2):101-5.
  15. Zarakolu P, Sahin Hodoglugil NN, Aydin F, Tosun I, Gozalan A, Unal S. Reliability of interpretation of gram- stained vaginal smears by Nugent’s scoring system for diagnosis of bacterial vaginosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004;48(2):77-80.
  16. Hapsari ED, Hayashi M, Matsuo H. Clinical characteristics of vaginal discharge in bacterial vaginosis diagnosed by Nugent’s criteria. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2006;33(1):5-9
  17. Xunta de Galicia, OPS. EPIDAT 3.0: Programa para análisis epidemiológico para datos tabulados, versión 3.0. Diciembre 2003. Disponible en: <http://www.paho.org/Spanish/DD/AIS/shaprogs.htm>.
  18. Mendoza A, Sánchez JT, Sánchez I, Ruiz D, Tay J. Frequency of *Gardnerella vaginalis* vaginosis and its association with other pathogens causing genital infections in females. *Ginecol Obstet Mex.* 2001;69:272-6.
  19. Andreeva PM, Omar HA. Effectiveness of current therapy of bacterial vaginosis. *Int J Adolesc Med Health.* 2002;14(2):145-8.
  20. Schwiertz A, Taras D, Rusch K, Rusch V. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006;17(5):4.
  21. Cauci S. Specific immune response against Gardnerella vaginalis hemolysin in patients with Bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(6):601-5.
  22. Schwabke JR. Diagnostic methods for bacterial vaginosis. *Int J Gynecol Obstet.* 1999;67(1):521-3.
  23. Hellberg D, Nilsson S, Mardh PA. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Arch Gynecol Obstet.* 2001;265(1):11-5.
  24. Ison CA, Hay PE. Validation of a simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect.* 2002;78(6):413-5.
  25. Boskey ER, Atherly-Trim SA, Ocampo PJ, Strobino DM, Misra DP. Acceptability of a self- sampling technique to collect vaginal smears for gram stain diagnosis of bacterial vaginosis. *Womens Health Issues.* 2004;14(2):69.
  26. Hilmarsdottir I, Hauksdottir GS, Johannesdottir JD, Danielsdottir T, Thorsteinsdottir H, Olafsson JH. Evaluation of a rapid Gram stain interpretation method for diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol.* 2006;44(3):1139-40.
  27. Aroucheva AA, Simoes JA, Behbakht K, Faro S. *Gardnerella vaginalis* isolated from patients with bacterial vaginosis and from patients with healthy vaginal ecosystems. *Clin Infect Dis.* 2001;33(7):1022-7.

Recibido: 17 de enero de 2007. Aprobado: 4 de septiembre de 2007.  
 Lic. Ana María López Abraham. Hospital Docente Materno Infantil “Diez de Octubre”. Nuestra Señora de Regla # 52 esquina a Remedios, Luyanó. Teléf.: 557168. Correo electrónico: [anala@infomed.sld.cu](mailto:anala@infomed.sld.cu)