

Balance del contenido vaginal en el diagnóstico diferencial de vaginosis-vaginitis Reacción inflamatoria vaginal en embarazadas sintomáticas

Balance of vaginal content in vaginosis-vaginitis differential diagnosis

Vaginal inflammatory reaction in symptomatic pregnant women

- Susana Di Bartolomeo¹, Antonia Patricia Leonino²,
Marcelo Rodríguez Fermepin³, Ramón Alberto de Torres⁴

-
1. Bioquímica. Especialista en Microbiología Clínica (Asociación Argentina de Microbiología). Jefa de la Sección de Microbiología del Servicio de Bioquímica Clínica del Hospital Nacional Dr. A. Posadas.
 2. Médica Ginecóloga y Obstetra. A cargo del área de Patología del tracto genital inferior y colposcopia del Servicio de Obstetricia del Hospital Nacional Dr. A. Posadas.
 3. Dr. en Bioquímica. Profesor de Inmunología Clínica. Departamento de Bioquímica Clínica. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.
 4. Dr. en Farmacia y Bioquímica. Profesor Emérito. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

Resumen

El objetivo del trabajo fue validar el alto valor predictivo de BACOVA (Balance del contenido vaginal, disponible en www.fba.org.ar/proeco) en el diagnóstico microscópico diferencial de vaginosis bacteriana (VB) y vaginitis microbiana inespecífica (VMI). Fueron estudiadas 299 embarazadas sintomáticas. Se determinó por microscopía el Valor Numérico (Nugent) (VN), células guía (CG), morfotipos extraños (Mex), leucocitos por campo (Lpc), tricomonas (TV) y levaduras (LE) con lectura a 400X. Los resultados globales fueron: VN de 7 a 10, 16,4% del total de casos. BACOVA permitió diferenciar 11,7% de los casos con VN de 7 a 10, con reacción inflamatoria vaginal (RIV) menor de 10 Lpc, como casos típicos de BV. Con igual VN se detectó 4,7% de casos con RIV con más de 10 Lpc, compatibles con VMI. En sólo 7,3% de los casos de LE detectadas por microscopía (20,4% en total), se confirmó una RIV significativa. Hubo 2,7% del total de casos con RIV significativa, pH < 4,5 y resultado negativo para el resto de los criterios estudiados. La determinación de la RIV, fue imprescindible, junto al VN, en el diagnóstico diferencial de VB y VMI. La RIV también es necesaria para establecer la significación clínica de la presencia de levaduras. BACOVA detecta casos con RIV significativa (2,7%), como único marcador, con pH inferior a 4,5, compatibles con infección del tracto genital superior.

Palabras clave: balance del contenido vaginal * vaginosis * vaginitis * candidas * tricomonas * Nugent * reacción inflamatoria * levaduras

Summary

This study was undertaken to demonstrate the high diagnostic predictive value of BACOVA (Balance of Vaginal Content, www.fba.org.ar/proeco) for bacterial vaginosis and microbial non specific vaginitis, in pregnant women primary health care. BACOVA including Nugent score (Gram 1000X) and leucocyte count (Wet mount and Giemsa, using 400X) was evaluated in 299 symptomatic pregnant women. Nugent score 7 to 10 was detected in 16.4%. Crossing Nugent value 7 to 10 with leucocytes counts shows that only 11.7% were below 10 leucocytes per field and 4.7% had a significant vaginal inflammatory response. Yeasts were detected in 20.4% but only in 7.2% of cases they show a significant association with vaginal inflammatory response. In 2.7% of the cases there was a significant vaginal inflammatory response, with pH below 4.5, VN from 0 to 3 and negative for TV, fishy odor, and exogenous microbial morphotypes. Simultaneous study of vaginal inflammatory response and Nugent score is mandatory in order to detect true cases of bacterial vaginosis (11.7%) from those of potential microbial non specific vaginitis (4.7%) (Donders' "aerobic vaginitis") Besides, vaginal inflammatory response became a strong criterion to define yeast vulvovaginitis (7.2%). Cases (2.7%) with score 0 to 3, negative for other criteria, with a high vaginal inflammatory response, are predictors of upper genital infections.

Key words: *balance of vaginal content * vaginosis * vaginitis * candida * trichomonas * Nugent * inflammatory reaction * yeasts*

Introducción

El estudio microscópico del contenido vaginal es el procedimiento de laboratorio con los valores predictivos (positivo y negativo) más altos en el diagnóstico de vaginosis bacteriana (VB) (1) (2), transformándose en un verdadero postulado con el que se define el síndrome.

La vaginosis bacteriana es una patología prevalente en el marco de la disfunción vaginal (DV) de la mujer en edad fértil.

La DV en su contexto genérico, en el que se agregan a VB la vaginitis microbiana inespecífica (VMI), las vaginitis convencionales por levaduras (LE) y tricomoniasis (TV) y atrofas idiopáticas, es la causa más frecuente de consulta médica de la mujer sexualmente activa: se desarrolla además en forma asintomática en un número significativo de mujeres (3).

La DV representa un factor de riesgo aumentado para la adquisición de infecciones post quirúrgicas, de transmisión sexual (4), enfermedad inflamatoria pélvica (5) y la colonización, con o sin el desarrollo de estados inflamatorios, por diversas bacterias exógenas oportunistas (6).

La DV es un indicador asociado al riesgo de retardo del crecimiento fetal, parto prematuro, ruptura prematura de membranas (7) y de infecciones neonatales y maternas (8).

Para el caso de mujeres embarazadas, así como de las que deciden tener hijos, la Guía para la práctica del cuidado preconcepcional y del control prenatal, del Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación (Argentina) (9) constituye el documento patrón a seguir. Sin

embargo, en este aspecto de la patología de la disfunción vaginal (vaginosis-vaginitis) requiere un reordenamiento y actualización.

Una referencia importante que apoya esta necesidad en el manejo de la DV se encuentra en las recomendaciones del American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) (junio 2006) (10).

En forma prioritaria hay que ajustar la guía vigente de procedimientos (9) para coordinar una respuesta integral coherente del cuerpo biomédico en el manejo inmediato de tres entidades virtuales (de alta prevalencia), con importancia clínico-terapéutica en el nivel predictivo de riesgo sexual y gineco-obstétrico:

- a. Vaginosis bacteriana.
- b. Vaginitis microbiana inespecífica, vaginitis aeróbica de Donders (11).
- c. Vaginitis convencionales (VC): por tricomonas y vulvovaginitis por levaduras.

En el marco de BACOVA (2) se resuelve el diagnóstico de VB con el más alto valor predictivo positivo y negativo. El valor numérico solo, no define los casos reales de VB. En este trabajo se revisa y amplía el algoritmo práctico para identificar casos típicos de VB, VMI y VC.

La dimensión del contexto global de la DV ha sido estudiada en argentina por diversos grupos (2) (12-17).

La DV afecta entre el 15 y 40% de las mujeres sintomáticas en edad fértil, embarazadas o no. Sin embargo, la diversidad de criterios diagnósticos para VB y la omisión de la consideración del concepto de VMI, requiere una amplia discusión para unificar el apoyo del laboratorio en el manejo clínico de la DV.

En esta presentación se hace hincapié en el reconocimiento de la VMI, que resulta de mayor valor predictivo para los problemas de la salud sexual, de la gestación y del parto (18).

La accesibilidad al diagnóstico de la DV mediante BACOVA, a partir de una muestra de fácil obtención y con bajo riesgo, hace que pueda y deba realizarse en todos los laboratorios habilitados del país. Se asegura así la ampliación significativa de la cobertura ética y científica, hoy insuficiente.

Se discute en forma puntual la importancia del ajuste del estudio e interpretación de la reacción inflamatoria vaginal en la orientación diagnóstica de VB, VMI y vaginitis convencionales.

Materiales y Métodos

POBLACIÓN ESTUDIADA

Entre los años 2001 y 2002 (2) se estudiaron secuencialmente 299 mujeres embarazadas sintomáticas con DV que concurren al Servicio de Obstetricia del Hospital Posadas. El análisis de datos refiere solamente al resultado aislado del primer estudio de BACOVA solicitado, encuadrado en el marco del consentimiento informado regular de atención.

Las cifras siguientes representan el promedio crudo del total de 299 mujeres. La edad biológica fue de 25.6 años [Desviación estándar (DE) 6.8] , y el rango de 14 a 44 años; la edad gestacional de 21,3 semanas (DE 8.7), mediana 20, moda 18 y el rango de 6 a 40 semanas; el número de gestaciones previas fue 2,6 (DE 2.5), mediana 2,0, moda 1 y el rango 0 a 15 partos; el número de parejas 2,4 (DE 2.5), mediana 2,0, moda 1 y el rango de 1 a 15; el inicio de relaciones sexuales a los 16,9 años (DE 3.1), mediana 17, moda 18 y el rango de 13 a 30 años.

BALANCE DEL CONTENIDO VAGINAL (BACOVA)

Determinación del valor numérico (VN)

La metodología de BACOVA ha sido publicada previamente (2) y el Manual de Procedimientos completo con detalles metodológicos precisos se encuentra con acceso libre al público, en la página de Internet de la Fundación Bioquímica Argentina (www.fba.org.ar/proeco)

Brevemente, se tomaron dos muestras del fondo de saco vaginal y se efectuó un estudio microscópico del material en fresco y de extendidos teñidos con Gram y Giemsa. El informe incluyó un valor numérico que derivó del recuento y evaluación relativa de tres morfotipos bacterianos [1.-lactobacilos, 2.-bacilos "cortos" Gram variables ("Gardnerella" formes) y 3.-bacilos Gram negativos curvos], todos miembros de la microbiota vaginal habitual. Un VN de 0 a 3 significa microbiota normal

(predominio de lactobacilos). El VN de 7 a 10, muy pocos o ausencia de lactobacilos y predominio de bacilos cortos Gram variables y eventual presencia de bacilos Gram negativos curvos indica vaginosis bacteriana. El VN de 4 a 6 define una zona intermedia que generó la mayor incertidumbre diagnóstica (1) (2) (19).

Células guía

BACOVA incorporó una corrección al VN estándar de Nugent (19), sumando dos puntos si se detectaron células guía en el examen en fresco y/o en cualquiera de los extendidos, independiente de su número (2).

Recuento de leucocitos por campo microscópico (LPC)

Se realizó una prolija cuantificación de leucocitos, expresada en leucocitos por campo (Lpc) utilizando un aumento de 400X en el preparado en fresco. Se presentó el análisis en función de grupos de casos con resultado de 0 a 2, 3 a 5, 6 a 10, 11 a 20, 21 a 30 y más de 30 Lpc. En cada caso el número entero que se informó resultó del promedio (redondeo a número entero) de la lectura de no menos de 10 campos microscópicos no contiguos.

Células epiteliales del contenido vaginal (CE)

El perfil de las células epiteliales se informó en este trabajo, en forma convencional: escasas, regular y abundante cantidad. Se refirió a la evaluación subjetiva, integrando la observación en fresco y de los extendidos.

Morfotipos extraños (MEX)

Se informó la presencia de los Mex para definir la presencia de bacterias no habituales del contenido vaginal. Se eliminó todo intento de identificar especies y se resumió el informe en cuatro grupos de morfotipos: 1. gram positivos (cocos y/o bacilos), 2. bacilos Gram negativos, 3. bacterias corineformes y 4. formas compatibles con actinomicas.

En este trabajo sólo se informó la presencia detectable por microscopía (1000X), por sí o por no, sin expresión cuantitativa. Se siguieron los lineamientos propuestos por Larson y col. (20) y por Verhelst y col (21).

Detección de levaduras (LE)

En todos los casos en que el estudio en fresco y/o coloraciones respectivas detectó la presencia de levaduras, se informó el caso como positivo a los efectos del análisis comparativo de este trabajo.

No se tuvieron en cuenta las evaluaciones cuantitativas y/o descriptivas de la morfología en particular y eventual cultivo para identificar especie. Esta información sí acompañó los informes originales destinados a

la atención médica. El término levaduras obedece al uso exclusivo del criterio morfológico, que obviamente no permitió el reconocimiento de género.

Detección de Tricomonas

El informe incluyó la detección o no de tricomonas con metodología convencional de la observación en fresco y sobre todo la prolífica lectura de la coloración de Giemsa.

Determinación de pH

Si bien BACOVA no tiene incorporado en su Manual de Procedimientos actual las determinaciones de pH y el olor a aminas (2), en este estudio se reevaluaron estos criterios clásicos a los efectos de revalidar nuevamente los valores predictivos del VN y considerar su importancia en la definición de casos de RIV significativa. Se utilizó papel pH de rango entre 3.5 y 6.0, evaluando directamente la reacción, por contacto con material recién extraído del fondo de saco.

Olor a aminas

Se colocó una pequeña cantidad del material extraído sobre la superficie de un portaobjeto y se agregó una gota de KOH 10%. Se evaluó subjetivamente el olor a aminas volátiles desprendido.

Equipo microscópico

En todos los casos la observación microscópica se realizó con un mismo equipo Carl Zeiss (Heidenheim, Germany).

Procesamiento y estudio de significación de datos

Se utilizó una ficha clínica adaptada a los objetivos comparativos puntuales de este trabajo, incorporados a EPI INFO 6 y sometidos a análisis de significación. En los casos en que ésta se estimó mediante el cálculo de proporción de desigualdades (*"odds ratio"*), se refirió al 95% de límites de confianza y se evaluó el nivel de significación en base a un valor de *p* igual o inferior a 0,05, que se calculó por corrección de Yates y/o de Mantel Haenzel. En la mayoría de casos se utilizó la prueba exacta de Fisher.

Resultados

REACCIÓN INFLAMATORIA VAGINAL Y VALOR NUMÉRICO EN EL DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA

Se analizaron las relaciones de asociación del VN con la reacción inflamatoria cuyos resultados se presentan a continuación.

Sólo se tuvo en cuenta el VN objetivo obtenido a partir de la lectura de la tinción de Gram [hasta ahora *gold standard* reconocido internacionalmente (1)]. No se aplicó la corrección por CG, que es una interpretación de valor clínico (2).

En la Tabla I se documentó la relación de los VN con las pacientes ordenadas en seis grupos según el número de Lpc.

Sobre un total de 49 casos con VN 7 o mayor se obtuvo la siguiente distribución:

- a. Analizados los casos con 11 o más Lpc (n= 81) hubo 14 mujeres con VN 7 o más que correspondió al 4,7% del total de pacientes estudiadas.
- b. En la franja de 0 a 10 Lpc (n=218) se encontraron 35 casos con VN 7 o más que correspondió al 11,7% del total de pacientes estudiadas.

La definición de VB incluye ausencia de RIV. Los casos típicos de VB fueron 35 (11.7% del total), tomando la línea de corte de 10 Lpc, como límite de la RIV, cuando ésta se midió con aumento de 400X.

Con una marcada disminución de lactobacilos (VN 7 o más) y con una reacción inflamatoria significativa (11 o más Lpc) se detectaron 14 casos (4,7% del total) compatibles con VMI.

En el área de VN de 4 a 6, si bien con un número reducido de casos, se presentaron candidatas a VB (basado en la presencia CG) y ausencia de RIV y a VMI, en ausencia de CG, RIV y eventual presencia de Mex.

La edad biológica, la edad gestacional, el número de gestaciones, el número de parejas y el inicio de relaciones sexuales, fue prácticamente el mismo en los tres grupos de VN considerados y no difirió de los valores generales de la población en estudio.

VALOR PREDICTIVO DE LAS CÉLULAS GUÍA PARA VAGINOSIS BACTERIANA

En la Tabla I se presenta la distribución de CG en función del VN y RIV. Las CG estuvieron presentes en 53 casos, lo que representó el 17,7% del total.

El valor predictivo positivo de CG para VB, tomando el VN de 7 a 10 (absoluto) fue de 83% y el negativo 98%. Cuando el cálculo se efectuó considerando los casos con VN de 7 a 10 que mostraron RIV mayor de 10 Lpc, como falsos positivos para VB, el valor predictivo positivo cayó de 83% a 60,4% y el negativo se mantuvo prácticamente igual (97,6%).

VALOR PREDICTIVO DEL OLOR A AMINAS PARA VAGINOSIS BACTERIANA

En la Tabla I se documenta la detección de OA en función del VN y la RIV. OA estuvo presente en 58 pacientes, alcanzando el 19,4% de la casuística.

Tabla 1. Distribución de valores de BACOVA en función del cruce del valor numérico y la reacción inflamatoria vaginal

RIV recuento de Leucocitos por campo (aumento de 400X)																			
	0 a 2 n=74 (25%)			3 a 5 n=81 (27,1%)			6 a 10 n=63 (21,0%)			11 a 20 n=37 (12,4%)			21 a 30 n=10 (3,3%)			>30 34 (11,4%)			TOTAL y PORCENTAJE
VN	0/3	4/6	7/10	0/3	4/6	7/10	0/3	4/6	7/10	0/3	4/6	7/10	0/3	4/6	7 a 10	0/3	4/6	7 a 10	
Total de casos	59	4	11	65	3	13	52	0	11	27	3	7	9	0	1	28	0	6	299 (100%)
CG+	0	2	11	1	2	10	1	0	11	1	1	6	0	0	1	1	0	5	53 (17,7%)
Células guía																			
OA+	3	2	9	2	2	10	1	0	9	3	2	7	0	0	1	3	0	4	58 (19,4 %)
Olor a aminas																			
OA+/pH+	2	2	9	1	1	10	1	0	9	3	2	7	0	0	1	2	0	4	54 (18,1%)
pH+	30	2	11	39	2	12	25	0	11	17	3	7	6	0	1	17	0	6	189 (63,2%)
pH+ total									0										
pH+ solo	25	0	0	29	0	0	12	0	0	4	0	0	4	0	0	2	0	0	76 (25,4%)
pH+ Mex+	3	0	0	3	0	0	5	0	0	6	0	0	0	0	0	2	0	0	19 (6,35%)
pH- Mex+	8	2	0	0	0	0	5	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	18 (6,02%)
LE	5	0	0	11	1	1	11	0	2	9	0	0	5	0	0	17	0	0	62 (20,7%)
Levaduras																			
TV	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	2	0	0	7 (2,34%)
Tricomonas																			
RIV negativa Sola	18	0	0	24	0	0	17	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	59 (19,7%)
RIV positiva Sola	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	0	0	0	0	0	2	0	0	8 (2,7%)
pH - y un criterio positivo	8	2	0	3	0	1	9	0	0	5	0	0	3	0	0	9	0	0	40 (13,4%)

VN: Valor numérico, RIV: Reacción Inflamatoria Vaginal, CG: Cálulas Guía, pH: concentración de hidrogeniones, OA: Olor a aminas, LE: levaduras, TV: tricomonas, Mex: Morfotipos extraños.

El valor predictivo positivo para los valores absolutos de VN 7 a 10, fue de 68% y el negativo 96%, cuando se tuvo en cuenta la RIV para descartar falsos positivos de VB, el valor predictivo positivo perdió significación y el negativo mantuvo su valor.

CÉLULAS EPITELIALES

La expresión de la presencia de células epiteliales en la forma de "escasas", "regular cantidad" y "abundante cantidad", careció de valor predictivo individual y no se incluye en la documentación.

VALOR PREDICTIVO DEL PH PARA VAGINOSIS BACTERIANA

El pH por encima del valor de corte de 4,5 se detectó en 189 casos, o sea en un 63,2% de las mujeres estudiadas.

En la Tabla I se muestra la relación del pH con el VN y la RIV del contenido vaginal. El valor predictivo del pH mayor que 4,5 en el diagnóstico de VB (valores numéricos absolutos) fue de 25,7% para el valor predictivo positivo y 99% para el negativo. Cuando se tuvo en cuenta la exclusión de casos con VN entre 7 y 10, por RIV alterada, el valor predictivo positivo cayó a 18%, mientras que el negativo se mantuvo en 99,1%.

VALOR PREDICTIVO DE PH Y OLOR A AMINAS PARA VAGINOSIS BACTERIANA

Existe consenso sobre la importancia de la determinación simultánea de pH y OA, en el apoyo al diagnóstico sindrómico en consultorio (10). El análisis simultáneo del valor predictivo de OA y pH se presentó en este grupo de embarazadas de la siguiente forma: OA y pH ambos positivos: 54 casos. Ambos negativos: 97 casos. Con pH positivo y OA negativo hubo 136 y OA positivo y pH negativo solamente 4 pacientes. La utilización simultánea de OA y pH en el marco convencional actual aumentó el valor predictivo positivo a 78% y alcanzó un valor predictivo negativo de 96%.

Estos valores fueron tomados sin la exclusión de los casos de VN 7 a 10, con RIV significativa. Cuando éstos se tuvieron en cuenta, el valor predictivo positivo fue inferior.

DETECCIÓN DE MORFOTIPOS EXTRAÑOS

En esta serie de casos sólo se evidenciaron Mex caracterizados por cocos gram positivos y bacterias corineformes. No se detectaron bacilos gram negativos ni formas compatibles con actinomices.

En la Tabla I, se presentan los resultados del análisis de la presencia de morfotipos extraños.

Se detectaron en 73 casos, el 24,4% del total de pacientes. En 19 casos se acompañaron de pH por encima de 4,5, como únicos criterios de patología y su distribución en los distintos niveles de RIV se muestran en la Tabla I. Otros 18 casos mostraron Mex en contenidos vaginales con pH normal. En los 36 casos restantes, los Mex se encontraron acompañando a otras alteraciones detectadas por BACOVA.

Con respecto a VB, el valor predictivo positivo de Mex fue de 14%, que cuando se calculó descartando los valores de 7 a 10 con RIV significativa se hizo aún inferior. Sin embargo, el valor predictivo negativo fue de 83%.

La relación de Mex con el grupo puntual de VN 0 resultó negativa [OR 0,00 (0,00-0,73) $p=0,0181$]. Fue neutra cuando se consideraron los valores 0 a 3 y 7 a 10.

La presencia de Mex mostró una asociación positiva cuando se consideró el grupo puntual de VN 4 [OR 13,4(1,34-311,63) $p=0,0161$].

DETECCIÓN DE PH NORMAL CON AL MENOS UN CRITERIO DE PATOLOGÍA DETECTADO POR BACOVA

En la Tabla I se muestra la distribución de 40 casos en los cuales se informó alguna patología en presencia de pH igual o inferior a 4,5.

Se evidenció una marcada asociación de este tipo de casos (93%) con microbiota normal (VN de 0 a 3).

La distribución en los diferentes niveles de RIV mostró un porcentaje mayor de estos casos en los valores de Lpc de 21 o más.

PACIENTES CON REACCIÓN INFLAMATORIA VAGINAL SIGNIFICATIVA Y AUSENCIA DE TODO OTRO CRITERIO DE PATOLOGÍA DETECTABLE POR BACOVA

En este grupo hubo 8 casos (2,7%), todos en la franja de VN de 0 a 3. Se debe recordar que si bien la detección de pH y OA no integran BACOVA, en estos ocho casos también fueron negativos.

VAGINITIS CONVENCIONALES: LEVADURAS Y TRICOMONAS

Levaduras

Se diagnosticaron 62 casos de LE positivos, lo que correspondió al 20,7% del total. En la Tabla I se presenta la distribución en función de VN y RIV.

Con respecto a la relación con el VN, 58 casos se presentaron en la franja de 0 a 3, 1 en la intermedia y 3 en la de 7 a 10. Esto indicó una marcada asociación de la presencia de levaduras con el estado de normalidad de la microbiota vaginal [OR 4,38 (1,41-14,9) $p=0,0055$].

Con respecto a la RIV, se observó una significativa

asociación negativa entre la presencia de LE y la franja de 0 a 2 Lpc [OR 0,21 $p=0,001$].

Entre los grupos de 3 a 5 Lpc y 11 a 20 Lpc hubo una asociación neutra.

Entre 21 a 30 Lpc [OR 4,25 $p=0,0452$] y en más de 30 Lpc la asociación positiva fue manifiesta [OR 4,46 $p=0,000079$].

Tomando el nivel de 21 Lpc o más se detectó un subgrupo de 22 casos positivos de LE, lo que significó un 7,4% del total de pacientes.

En los 62 casos en que se detectaron levaduras, en 23 (38,3%) el pH fue de 4,5 o inferior. De estos, 14 (45,7%) estuvieron asociados a la franja de casos con 11 o más Lpc y 9 (31,0%) a la de 0 a 10 Lpc. Esta diferencia con un OR 1,9 (0,59/6,18), mostró una tendencia de mayor frecuencia de LE en pacientes con pH normal y mayor RIV, pero no alcanzó significación estadística ($p=0,341$).

Tricomonas

Se detectó un total de 7 casos (2,4%). Cuatro pacientes se ubicaron entre VN de 0 a 3 y RIV de más de 11 Lpc y las otras tres en el área de 7 a 10 y una RIV inferior a 10 Lpc.²⁵¹

En un caso con VN 1, el pH fue 4,5 (LE positivo y el olor a aminas negativo). En los seis restantes el pH fue superior a 4,5, el olor a aminas fue positivo y no se detectaron LE.

En el caso de VN 1 y en uno de los VN 3 se detectó, además, Mex.

El promedio de la edad biológica de las pacientes con tricomonas y las variables gestacionales no fue significativamente diferente de las del total.

Es de interés, sin embargo, mencionar que el número de parejas (promedio general 2,4) fue de 3,6 (mediana 4,00) y el inicio de las relaciones sexuales (promedio general 16,9) fue de 15,7 años, con un percentil 25% de 15 años y de 75% de 17,0 años.

EMBARAZADAS SINTOMÁTICAS EN LAS QUE BACOVA NO DETECTÓ INDICADORES DE ANORMALIDAD

Hubo 18 casos en el grupo de 0 a 2 Lpc, 24 en el grupo de 3 a 5 Lpc y 17 en el de 6 a 10 Lpc. En 59 mujeres sintomáticas (19,7%), no se evidenció ningún criterio patológico detectado por BACOVA.

En todos estos casos la determinación del pH y olor a aminas, que no integran el Manual de Procedimientos de BACOVA, también resultaron negativas.

En cuanto a los indicadores personales de edad, gestación y sexualidad, en estas pacientes no mostraron ninguna diferencia significativa o tendencia manifiesta que las diferenciara de los promedios generales de las mujeres estudiadas.

Discusión y Conclusiones

CUADRO DE SITUACIÓN

Se propone la nomenclatura de Disfunción Vaginal para englobar toda la gama de síntomas y signos vinculados a la patología vaginal y balance del contenido vaginal (BACOVA) para la solicitud del primer estudio de laboratorio.

BACOVA detectó 164 casos (54,3%) de pacientes con algún criterio positivo de patología, en base a la microscopía. Esta proporción es la que se encuentra en general en este tipo de estudios (2) (12) (13).

En este estudio, en el que se incluyó la determinación de pH, se detectaron 76 casos, en los cuales el único criterio patológico establecido fue la elevación del pH por encima de 4,5.

Esta situación, como se reanaliza más adelante, es un argumento importante para reconsiderar la necesidad de incorporar la toma del pH en el Manual de Procedimientos de BACOVA, independientemente de que haya sido determinado durante la consulta médica.

El perfil de patologías que se estableció en este trabajo es similar a prevalencias determinadas en resultados previos de este grupo, para la zona del Gran Buenos Aires (2) (12) (13) y coherente con resultados que, utilizando diferentes metodologías, se han obtenido en varias regiones de este país (14-17). Esto indica su prioridad como problema de salud reproductiva y la necesidad de la normatización de la metodología a utilizar.

Con igual o mayor dimensión, la DV, con alteraciones manifiestas del contenido vaginal, se presenta en forma asintomática (3) (22). Los autores no tienen evidencia confiable en este medio de la prevalencia de la DV en mujeres en edad fértil (embarazadas o no) asintomáticas.

Estudios previos (2) (12) (13), el desarrollo de este trabajo y la literatura internacional (1) (10) (19-21) avalan la adopción de las denominaciones DV y BACOVA para cubrir la atención de todas las mujeres (síntomáticas y asintomáticas) y reemplazar, con propiedad, la costumbrista utilización del pedido de estudio de "flujo vaginal, cultivo y antibiograma", cuyos valores predictivos y sobre todo la relación costo-beneficio son seriamente cuestionables en el estudio inicial de la DV.

Si bien la presencia de "flujo" es la que incide significativamente para que la mujer recurra a la consulta médica, más de un 50% de mujeres con DV no manifestó secreción vaginal aumentada (10) (22).

DIAGNÓSTICO DE VAGINOSIS BACTERIANA Y VAGINITIS MICROBIANA INESPECÍFICA

A lo planteado en la nomenclatura clásica (9-10), es necesario incorporar el concepto de VMI, que se define básicamente (acompañado de otros criterios secundarios) por alteración de la microbiota habitual vagi-

nal (un valor numérico superior a tres) y presencia simultánea de RIV, por lo cual adopta el grado de vaginitis, que la diferencia de vaginosis.

VMI es tan sólo el cambio de la nomenclatura preconizada por Donders (11) que llama "vaginitis aeróbica" al síndrome antes definido.

BACOVA diagnostica y diferencia con alto valor predictivo VB de VMI y permite definir el riesgo actual de la mujer y generar la mejor orientación en el manejo de la evolución y la indicación precisa de estudios adicionales especializados que la VMI requiere de inmediato, no así la VB típica (sin RIV).

La incógnita a resolver es si VB y VMI son dos patologías con etiología diferente que pueden cursar en forma simultánea o reflejan un grado distinto de evolución de una misma disfunción orgánica.

Como se infiere de los resultados presentados no hay argumento en contra con respecto a integrar los conceptos de VB y VMI, en el marco de la hipótesis de que el síndrome se inicia con un desequilibrio orgánico de la mujer, que afecta la función de la mucosa del tracto genital y que luego de la modificación del contenido vaginal que esta falencia origina, se inducen las modificaciones de la microbiota. El primer indicador concreto es la reducción de la flora lactobacilar.

VB es aún un "misterio" (22) (24) de la medicina; sin embargo, es aceptado que se inicia con un desequilibrio hipotálamo-hormonal que genera alteraciones en la funcionalidad de las mucosas que tapizan el tracto genital de la mujer en edad fértil.

VB condiciona el contenido vaginal para que sea fácilmente colonizado e invadido por microorganismos exógenos, algunos provistos por la misma paciente, como bacterias y levaduras de la microbiota intestinal y en función de su práctica sexual, por agentes transmitidos sexualmente (4).

Es muy posible, pero requiere demostración experimental, que la primera alteración que modifica el contenido vaginal sean los mecanismos que inducen la modificación del pH. En esta serie se tuvieron 76 mujeres sintomáticas, que solamente mostraron un pH elevado.

Un proceso similar al que asigna a la relación evolutiva de BV a la instalación de VMI, ha sido desarrollado para explicar la relación secuencial entre VB y enfermedad inflamatoria pélvica (5).

La base del diagnóstico de la VB es el VN, que con varias variables metodológicas se utiliza en los países centrales y en varias otras partes del mundo (1) (2) (19) (21) (25). Si bien es el *Gold Standard* reconocido para VB(1), debe ser acompañado de la RIV para asegurar el diagnóstico diferencial con VMI.

VALOR AGREGADO DE BACOVA EN LA DISFUNCION VAGINAL EN GENERAL

La determinación de RIV y el VN generan un espacio de confianza absoluta en los valores extremos de 0 a

3 y 7 a 10 para establecer la disfunción de la microbiota vaginal. Como todo desarrollo biológico, los resultados de VN de 4 a 6 aun combinados con el resultado de la RIV generan el concepto de mayor incertidumbre y se impone el estricto seguimiento de la paciente.

En todos los casos, pero de manera especial en los VN de 4 a 6, criterios morfológicos adicionales con valores predictivos propios muy variables, como la detección de CG, Mex, características de la celularidad y/o la detección de LE y/o TV, contribuyen a diferenciar el síndrome instalado y tomar decisiones clínicas.

BACOVA agrega el informe de morfotipos bacterianos extraños y perfil de las células presentes. Esta etapa de la metodología debe perfeccionarse (20) (21) y está en desarrollo un estudio sobre la posibilidad de generar un informe numérico con respecto a los Mex.

En el caso de TV positivo, independiente del resto del informe significa un tratamiento específico. Donders incluye TV en la lista de microorganismos más frecuentes aislados en casos de VMI (11). En tres de siete de los casos de TV positivos de este estudio se observó que se comparte el perfil de VMI con VN de 7 a 10.

El caso de la detección microscópica de LE diferente y se ha confirmado en este grupo de mujeres que la presencia significativa de LE (con marcada RIV) transcurre con mayor frecuencia en el ámbito de ausencia de disfunción vaginal (VN de 0 a 3) y en muchos casos con pH vaginal normal.

IMPORTANCIA PRÁCTICA DE LA DETECCIÓN DIFERENCIAL DE VAGINOSIS BACTERIANA Y VAGINOSIS MICROBIANA INESPECÍFICA

La importancia de detectar en forma diferencial a la mujer con VB y VMI se debe a que este último síndrome, con un 4,7% de frecuencia en esta serie, es indicador de un desequilibrio marcado y persistente que aumenta el riesgo gineco-obstétrico y que con frecuencia responde irregularmente al tratamiento convencional.

Requiere una inmediata estrategia diagnóstica en la que es imprescindible el apoyo especializado en microbiología y/o citología.

Romero y col (18) han analizado la situación y además de la asociación o no con factores genéticos promotores de la RIV, dan mayor importancia predictiva a VMI que a VB (típica, sin RIV), en su relación con bajo peso al nacer y parto prematuro y otros problemas del parto y la infección materno-fetal.

EL VALOR NUMÉRICO Y LA CORRECCIÓN POR CÉLULAS GUÍA

En el desarrollo planteado se trabajó con los valores numéricos absolutos sin ninguna corrección por CG.

Se demostró que controlado con todas las variables convencionales utilizadas en el diagnóstico de VB (pH, olor a aminas y células guía, BACOVA superó los

valores predictivos positivo y negativo de todas ellas (aisladas o combinadas) e inclusive superó al VN convencional de Nugent (2).

Ni la detección de enzimas (14) (15) (17) y/o enzimas en combinación con pH (27) superan los valores predictivos del VN absoluto (Nugent) determinado por microscopía y de hecho BACOVA, que aumenta el valor predictivo, ya que agrega la consideración de las CG.

La corrección propuesta en BACOVA (2) agregando dos puntos al VN (si éste es inferior a 7) cuando se detectan CG, ha sido validada por publicaciones recientes (26) y da solidez a la interpretación clínica de VB.

Donders, en la definición de "vaginitis aeróbica" menciona que la misma se presenta con frecuencia en ausencia de células guía. La zona intermedia (VN de 4 a 6) se interpreta como la transición del estado de balance vaginal normal a la pérdida de lactobacilos y aumento de la microbiota anaeróbica. En la VB típica (ausencia de RIV), aparecen células guía con una alta frecuencia de asociación.

En el área intermedia de VN (4 a 6) la presencia de células guía y ausencia de RIV, orienta a predecir un diagnóstico de VB, estacionario, en aumento o en receso y en este caso los dos puntos ayudan a la interpretación clínica.

VN de 4 a 6, sin células guía, con RIV demostrable, predice el aumento o receso de VMI típica, en el marco de la definición de Donders.

En ambos casos sólo el seguimiento puede confirmar la naturaleza real de la DV.

Se demostró en este trabajo que en la diferenciación de VB y VMI, el criterio prioritario es la detección de la RIV positiva y no la presencia o ausencia de células guía (Tabla I).

BACOVA EN RELACIÓN A CULTIVOS

El factor histórico de mayor conflicto en el diagnóstico de VB se refiere al valor predictivo de la identificación de agentes microbianos específicos. No ha sido demostrado que ninguno de los microorganismos estudiados hasta el presente, sea agente etiológico de la VB (21-24) (28) (29). La utilización única de cultivos carece de valor diagnóstico y/o como indicador de estrategias terapéuticas (10) (28) (29) para VB. Esto último debe quedar definitivamente establecido (2) (10) (28) (29).

La solicitud de cultivos, en ausencia de la información previa que genera BACOVA, tiene un costo-beneficio nulo en el diagnóstico y en el manejo terapéutico de VB (2) (10) (29). En el caso de que BACOVA detecte VMI instalada y/o RIV de 10 ó más Lpc acompañada de cualquier otro criterio positivo o aún con todas las patologías que detecta BACOVA negativas, debe discutirse de inmediato la estrategia diagnóstica a se-

guir, que requiere del laboratorio microbiológico y/o citológico especializado (2) (10) (28) (29).

En este caso esto refiere al 4,7% de casos compatibles con VMI, al 2,7% de mujeres con una alta RIV como único signo patológico demostrado por BACOVA.

DIAGNÓSTICO SINDRÓMICO, VALOR DEL PH Y OLOR A AMINAS

El método microscópico ha mostrado ser imprescindible para el inicio de la orientación diagnóstica de DV, en comparación con el diagnóstico sintomático.

Este perfil ha sido confirmado por todos los estudios realizados hasta la fecha (10) (23) (28).

Sin embargo, en el caso de carencia total de acceso a estudios de microscopía y sin la posibilidad de realizar pruebas rápidas en el consultorio de atención médica, la determinaciones de pH y OA adquieren singular importancia (10) (23) (27) (30).

Como se demostró en este trabajo las determinaciones de pH y OA fueron válidas por su valor predictivo negativo. El pH alcanzó 99% de valor predictivo negativo y el OA 96%, pero esto es en relación directa con VB y VMI. El pH normal descarta la posibilidad de una VB y/o VMI activas.

Los valores predictivos positivos fueron muy bajos, de hecho no distinguen entre VB y VMI, pero en el caso de la atención en consultorio detectan a la mujer que debe recurrir en forma inmediata al estudio de laboratorio por BACOVA.

Tilli y col. (30) llegaron a conclusiones similares comparando la determinación de pH con el diagnóstico de VB por medios convencionales. En la actualidad, en base a acuerdos logrados en el Taller BACOVA (Congreso de FASGO, Córdoba, octubre 2006) es una recomendación básica de consenso hacer estas determinaciones durante la atención clínica de las pacientes en la primera visita.

Como se demostró en este trabajo un número de 40 casos (13,4% del total), que incluyeron mujeres con diagnóstico de LE positivos (con RIV significativa), Mex positivos y pacientes solamente con una RIV elevada como único signo detectado por BACOVA, mostraron pH igual o inferior a 4,5. Esto debe ser tenido en cuenta cuando sólo la determinación del pH acompaña el estudio sintomático.

En el grupo de mujeres estudiadas se detectaron 76 casos (25,5%) con pH elevado solamente. El 86,8% (n=66) se ubicó en la zona de RIV negativa y en todos los casos en el VN de 0 a 3. En los casos (n=10) con RIV significativa, los VN fueron de 0 a 3.

Fuera de los problemas inherentes a las dificultades en la toma del pH, no hay una explicación para este tipo de disfunción. No puede excluirse que ante la disfunción de la mucosa se altere el mantenimiento del pH vaginal e inmediatamente se generen los cambios de la microbiota.

Asumiendo esta hipótesis se impone un estudio de seguimiento de pacientes en estas condiciones y en caso de confirmarse, la toma del pH vaginal (simultáneo al hisopado) se transforma en una necesidad en el manual de BACOVA.

La determinación del pH requiere un calificado control de calidad en todo su proceso. Al igual que con el OA la precisión de la determinación debe asegurarse (31) (32). Pese a su aparente simplicidad se debe normatizar la metodología y garantizar la calidad de los insumos.

VAGINITIS CONVENCIONALES

Levaduras

El diagnóstico de la vulvovaginitis por levaduras es uno de los problemas de mayor dificultad en el diagnóstico de laboratorio basado en microscopía.

Se demostró en éste y en estudios anteriores (2) (12) (13) que no existe asociación significativa con VB.

Ya se ha mencionado la tendencia de los casos LE positivos con RIV manifiesta a mantener un pH de 4,5 o inferior y asociarse a la zona de VN 0 a 3.

De este trabajo se infiere que la presencia de levaduras detectadas microscópicamente debe informarse como significativa, en caso en que se vean levaduras en el examen en fresco y/o extendidos, independientemente de la "cantidad", e inclusive de la morfología, cuando hay una reacción inflamatoria de más de 21 Lpc y un VN de 0 a 3.

La base sólida de este criterio es que en este estudio se logró una cifra "microscópica" neta de valores positivos de LE que alcanzó el 20,7%, y que es prácticamente universal. Este porcentaje supera la frecuencia de los casos reales de vulvovaginitis. Tomando el nivel de 21 Lpc o más, se detectaron 22 casos positivos de LE, lo que significó un 7,35% del total de embarazadas estudiado. Esta cifra aún elevada, guardó una relación compatible con la frecuencia real de vulvovaginitis por levaduras en la mujer embarazada.

El manejo de las cifras "inciertas" de vulvovaginitis reales en este medio, contrasta con la frecuente comunicación de datos "totales" de presencia de LE (microscopía y/o cultivos), que están alrededor del 25% en embarazadas (33-35).

Así como en el valor del diagnóstico de VB, el informe de LE (microscopía) debe asociarse al de RIV y VN para generar un resultado predictivo confiable para la toma de decisiones.

Tricomonas

El reducido número de casos limita cualquier conclusión, pero es de interés destacar que de los siete casos de TV positivos, tres se ubicaron con VN de 0 a 3 y expresaron una RIV mayor de 21 Lpc.

En los que compartieron VN de 7 a 10, tres casos, la RIV fue inferior a 10 Lpc.

El caso restante esta ubicado en VN 0 a 3, con una RIV de 6 a 10 Lpc.

Se discute en este momento la aplicación alternativa del método fijador-colorante azul de metileno, preconizado por Mendez-Costamagna (36), con el que se puede optimizar la detección microscópica de TV.

La prevalencia detectada de 2,4%, mostró una estabilización de la frecuencia de TV en la región programática del Hospital Posadas (oeste del Gran Buenos Aires) desde 1996 (2) (12) (13).

No se detectó en este estudio ninguna relación entre la presencia de Tricomonas en el contenido vaginal y la edad gestacional o el número de gestaciones previas. Sin embargo, el inicio de relaciones sexuales mostró el valor más bajo de cualquiera de los subgrupos examinados, 15,6 años y el número de parejas más alto 3,7, lo que es coherente con su carácter de ITS, situación que no ocurre con VB, VMI, Mex, ni LE.

GRUPO DE EMBARAZADAS SINTOMÁTICAS CON BACOVA SIN INDICADORES DE ANORMALIDAD

Este es evidentemente un problema pendiente, que no tiene solución aparente con BACOVA y que es perfil común en todos los trabajos de este tipo, incluyendo aquellos que utilizan diferentes cultivos (12) (13).

En esta serie fueron detectados 59 casos con este perfil, en los que no se detectó ningún criterio positivo por BACOVA, con RIV inferior a 10 Lpc. Hay que recordar, como fue mencionado antes, que en iguales condiciones a las de estas 59 mujeres, pero con el pH mayor de 4,5, se agregaron 76 casos más.

Recientemente ha tomado cuerpo la incorporación del estudio psicológico de las pacientes, en cuanto a la presunción de una influencia significativa sobre la expresión de síntomas asociados a la región vaginal, sin evidencia de patología orgánica.

OPTIMIZACIÓN DE BACOVA

Datos presentados en este trabajo y resultados de experiencias piloto en desarrollo, han permitido incorporar cambios en BACOVA (a partir de agosto de 2006), principalmente en la evaluación de la RIV.

Se han comprobado los resultados de Culhane y col. (37) que establecen que el recuento de Lpc varía según el lugar de toma de la muestra, desde el fondo de saco, aumentando hacia el exterior del conducto vaginal mientras que el VN no se modifica (datos no incorporados). Por ahora se reitera la necesidad de que la toma de muestra sea de fondo de saco, a los efectos de normatizar el informe de la RIV. Esto debe ser tenido en cuenta cuando se preconiza la toma de muestra vaginal sin espéculo (38).

Recientemente se ha desarrollado un número importante de pruebas bioquímicas para la detección de intermediarios del mecanismo de reacción inflamatoria (39) y factores genéticos asociados (40) que son realmente de gran impacto. Sin embargo, estudios comparados muestran que la determinación microscópica guarda una relación directa con este grupo de pruebas, que la hace válida con sus valores predictivos (18).

Debe darse validez a los resultados de Ramsey y col. y otros (41), que han propuesto para estimar la reacción inflamatoria vaginal, la evaluación relativa de polimorfonucleares en función de las células epiteliales por campo, demostrando que es más preciso y reproducible, ya que independiza de la óptica del equipo microscópico utilizado (20) y correlaciona con mayor valor predictivo en función de patología asociada a problemas infecciosos (42) (43). La insuficiencia del informe de células epiteliales (escasas, regular y abundante cantidad) y la falta de estándar para los recuentos de células epiteliales, ha movilizado al grupo de trabajo a establecer los siguientes lineamientos en el Manual de Procedimientos BACOVA 2006 (www.fba.org.ar/proeco).

1. A partir del examen convencional en fresco (400X) se tiene la evidencia inicial de la RIV. La línea de corte es de 10 Lpc.
2. Posterior a la determinación del VN, se efectúa un nuevo recuento de Lpc en el extendido teñido con Gram (1000X). La línea de corte para establecer RIV significativa en estas condiciones es de 5 Lpc.

Dada la importancia de la determinación de la RIV, que se demostró en este trabajo y en publicaciones recientes (42) (43) si se supera la línea de corte en cualquiera de las dos determinaciones previas, se debe realizar el estudio de Lpc/por célula epitelial por campo, sobre la coloración de Giemsa, utilizando 400X como aumento. En este último caso la línea de corte es un leucocito por célula epitelial por campo.

LA BASE DE LA OPTIMIZACIÓN EN LA ATENCIÓN PRIMARIA.

Recientemente Keane y col. (44) alertaron sobre la inaceptable situación en Inglaterra, donde existe una variedad de métodos aplicados al diagnóstico de DV.

En Alemania, Schwiertz y col. (45) ponen de manifiesto la dispersión de resultados en el diagnóstico de DV.

Esta distorsión se genera en la complejidad fisiopatológica del problema de la DV, pero en forma inmediata a la irracionalidad de la diversidad metodológica (45).

Está demostrado en todo el mundo desarrollado, que la microscopía, alta complejidad intelectual (no electrónica) es de alto valor en la atención primaria de la mujer. Lo que se requiere es una rigurosa normatiza-

ción de los algoritmos básicos predictivos, para su correcta interpretación, basada en el cumplimiento estricto de los manuales de procedimientos consensuados.

En este trabajo y en función de un proyecto de aprendizaje entre pares abierto (BACOVA) se ha podido evaluar la dispersión de metodologías y la necesidad de una actividad permanente de normatización. La disponibilidad universal de un manual de procedimientos y la oferta de talleres de actualización (no arancelados) se desarrolla en el marco del proyecto BACOVA, Programa PROECO de la Fundación Bioquímica Argentina.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido realizado con el apoyo de los subsidios otorgados por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires (UBACYT) B078 (programación 2002/2004) y B049 programación 2004/2007.

CORRESPONDENCIA

DR. RAMÓN ALBERTO DE TORRES

Unidad de estudios de clamidias y otras infecciones del tracto genital. Cátedra de Microbiología. Departamento de Microbiología, Inmunología y Biotecnología. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad de Buenos Aires.

Junín 956, 4º piso

1113 CIUDAD AUTÓNOMA DE BUENOS AIRES

Telefax: 011 4964 8255

E-mail: ramondetorres@yahoo.com.ar

Referencias bibliográficas

- Forsum U, Jakobsson T, Larsson PG, Schmidt H, Beverly A, Bjornerem A, *et al.* An international study of the interobserver variation between interpretations of vaginal smears criteria of bacterial vaginosis. *APMIS* 2002; 110 (11): 811-8.
- Di Bartolomeo S, Offner G, Ojeda M, Valle S, Leonino A, de Torres RA. Balance del Contenido Vaginal: (BACOVA) valor de la expresión numérica en el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana (VB). *Obstet Ginecol Latinoam* 2002; 60: 175-83.
- Andrews WW, Hauth JC, Cliver SP, Conner MG, Goldenberg RL, Goepfert AR. Association of asymptomatic bacterial vaginosis with endometrial microbial colonization and plasma cell endometritis in non pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2006; 195 (6): 1611-6.
- Sha BE, Zariffard MR, Wang QJ, Chen HY, Bremer J, Cohen MH, *et al.* Female genital-tract HIV load correlates inversely with *Lactobacillus* species but positively with bacterial vaginosis and *Mycoplasma hominis*. *J Infect Dis* 2005; 191 (1): 25-32.
- Ness RB, Kip KE, Hillier SL, Soper DF, Stamm CA, Sweet RL, *et al.* A cluster analysis of bacterial vaginosis-associated microflora and pelvic inflammatory disease. *Am J Epidemiol* 2005; 162 (6): 585-90.
- Goldenberg RL, Culhane JF, Johnson DC. Maternal Infection and adverse fetal and neonatal outcomes. *Clin Perinatol* 2005; 32 (3): 253-9.
- McGregor JA, French JL. Bacterial vaginosis in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 2000; 55 (5 Suppl 1): S1-19.
- Balaka B, Agbere A, Dagnra A, Baeta S, Jessie K, Assimadi K. Genital bacterial carriage during the last trimester of pregnancy and early-onset neonatal sepsis. *Arch Pediatr* 2005; 12 (5): 514-9.
- Scgwarcs R, Urtiaga A, Lomuto C, Martinez I, Galimberti D, Garcia OM, *et al.* Guía para la práctica del cuidado preconcepcional y del control prenatal. 2001. Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. Argentina. Disponible en URL: <http://www.msal.gov.ar/htm/Site/promin/UCMISALUD/publicaciones/publicaciones.htm> [accedido el 15 de julio de 2006].
- Committee on Practice Bulletins. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Clinical Management Guidelines. Vaginitis nº 72. *Obstet Gynecol* 2006; 107: 1195-206.
- Donders GG, Vereecken A, Bosman SE, Dekeersmaecker A, Salembier G, Spitz B. Definition of a type of abnormal vaginal flora that is distinct from bacterial vaginosis: aerobic vaginitis. *BJOG* 2002; 109 (1): 34-43.
- Di Bartolomeo S, Rodríguez FM, Sauka D, de Torres RA. Perfil microbiológico de secreciones genitales en embarazadas sintomáticas en el Gran Buenos Aires (Argentina). *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19: 99-102.
- Di Bartolomeo S, Rodríguez F. M, Sauka D, de Torres RA. Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina en un sector del Gran Buenos Aires (Argentina). *Rev Saude Pública* 2002; 36 (5): 545-52.
- Smayevsky J, Canigia LF, Lanza A, Bianchini H. Vaginal micromicroflora associated with bacterial vaginosis in nonpregnant women: reliability of sialidase detection. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2001; 9 (1): 17-22.
- Ombrella A, Belmonte A, Noguerras M, Ruiz Abad J, Sutich E, Duglovitzky D. Sialidase activity in women with bacterial vaginosis. *Medicina* 2006; 66: 131-4.
- Barberis LL, Pájaro MC, Godino S, Pascual L, Daniele ML. Diagnóstico microbiológico de vaginosis bacteriana. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2002; 36 (4): 541-5.
- Marguet ER, Aloisi PV, Vallejo M. Evaluación del ensayo de L-prolina iminopeptidasa para el diagnóstico de vaginosis bacteriana. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2004; 38 (3): 297-300.
- Romero R, Chaimmorapongsa T, Kuivaniemi H, Tromp G. Bacterial vaginosis, the inflammatory response and the risk of preterm birth: A role of genetic epidemiology in the prevention of pre term birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190 (6): 1509-19.
- Nugent IR, Krohn MA, Hillier M. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 297-301.

20. Larsson PG, Carlsson B, Fåhraeus L, Jakobsson T, Forsum U. Diagnosis of bacterial vaginosis: need for validation of microscopic image area used for scoring bacterial morphotypes. *Sex Transm Infect* 2004; 80: 63-7.
21. Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Van Simaey L, De Ganck C, *et al.* Comparison between Gram stain and culture for the characterization of vaginal microflora: definition of distinct grade that resembles grade I microflora and revised categorization of grade I microflora. *BMC Microbiol* 2005; 5: 61.
22. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4 (4): 485-502.
23. Landers DV, Weisemfield HC, Heine RP, Krohn MA, Hillier SL. Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190 (4): 1004-10.
24. Marrazzo JM. A persistent(ly) enigmatic ecological mystery: bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2006; 193 (11): 1475-7.
25. Ison CA, Hay PE. Validation of simplified grading of Gram stained vaginal smears for use in genitourinary medicine clinics. *Sex Transm Infect* 2002; 78: 413-5.
26. Lin DP, Pan BJ, Fuh JC, Huang TH. Improving Gram-stained reproducible result by further adding clue cells in diagnosing bacterial vaginosis. *Kaohsiung J Med Sci* 2002; 16 (4): 164-70.
27. Bradshaw CS, Morton AN, Garland SM, Horvath LB, Kudevska I, Fairley CK. Evaluation of a point-of-care test, BVBlue, and clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 1304-8.
28. Workowski KA, Berman SM. Sexually Transmitted Diseases Guidelines 2006. CDC's MMWR 2006; 55 (RR11): 1-94.
29. Sha BE, Chen HY, Wang QJ, Zariffard MR, Cohen MH, Spear GT. Utility of Amsel Criteria, Nugent score and quantitative PCR for *Gardnerella vaginalis*, *Mycoplasma hominis* and *Lactobacillus* spp. for diagnosis of bacterial vaginosis in human immunodeficiency virus-infected women. *J Clin Microbiol* 2005; 43 (9): 4607-12.
30. Tilli M, Orsini A, Alvarez MM, Almuzara M, Gallardo E, Mormandi JO. ¿La presencia del pH normal descarta el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana? *J Bras Doenças Sex Transm* 2005; 17 (2): 117-20
31. Cohrsen A, Anderson M, Merrill A, Mckee D. Reliability of the whiff tests in clinical practice. *J Am Board Fam Pract* 2005; 18 (6): 561-2.
32. Jhandalavala J, Van Greeb TA. Evaluating vaginal pH. Accuracy of a two commercial pH paper comparison to hand held digital pH meter. *J Reproduct Med* 1999; 44 (2): 76-80.
33. García Heredia M, García SD, Copolillo EF, Cora Eliseh M, Barata AD, Vay CA, *et al.* Prevalencia de Candidiasis Vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y sensibilidad a antifúngicos. *Rev Argent Microbiol* 2006; 38: 9-12.
34. Fidel Jr, Sobel JD. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9: 335-48.
35. Buscemi L, Arechabala A, Negroni R. Study of acute vulvovaginitis in sexually active adult women, with special reference to candidosis, in patients of the Francisco J. Muñiz Infectious Diseases Hospital. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21 (4): 177-81.
36. Costamagna SR, Dupin J, Vaylet S, Pellegrino P. Evaluación del fijador-colorante azul de metileno para el diagnóstico directo de *Trichomonas vaginalis*. *Acta Bioquím Clin Latinoam* 2004; 38 (3): 307-9.
37. Culhane JF, Desanto D, Goldenberg RL, Maccollun KF, King F, Guaschino S. Variation in Nugent score and leukocyte count in fluid collected from different vaginal sites. *Obstet Gynecol* 2005; 10: 120-3.
38. Audisio T, Penacino M, Cannistraci R, Bertolotto PJ. Detection of bacterial vaginosis, *Trichomonas vaginalis* infection, and vaginal *Candida* infection: a comparative study of methods of extracting exudates, with and without a speculum, during pregnancy. *J Low Genit Tract Dis* 2005; 9 (4): 213-5.
39. Goldenberg RL, Goepfert A, Ramsey PS. Biochemical markers for the prediction of preterm birth. *J Obstet Gynecol* 2005; 192 (5 Suppl): S36-46.
40. Macones GA, Parry S, Elkousy M, Clothier B, Ural SH, Strauss JF 3rd. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis, preliminary evidence of gene-environment interaction in etiology of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190 (6): 1504-8
41. Ramsey PS, Lyon MD, Goepfert AR, Cliver S, Schwebke J, Andrews WW, *et al.* Use of vaginal polymorphonuclear to epithelial cell ratios for the prediction of preterm birth. *Obstet Gynecol* 2005; 105: 139-44.
42. Yudin MH, Hillier SL, Weisenfeld HC, Krohn MA, Amortegui AA, Sweet RL. Vaginal polymorphonuclear leukocytes and bacterial vaginosis as markers for histologic endometritis among women without symptoms of pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 2003; 188: 318-23.
43. Geisler WM, Yu S, Venglarik M, Schwebke JR. Vaginal leukocyte counts in women with bacterial vaginosis: relation to vaginal and cervical infections. *Sex Transm Infect* 2004; 80: 401-5.
44. Keane FF, Maw R, Pritchard C, Ison CA. Methods employed by genitourinary medicine clinics in the United Kingdom to diagnose bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect* 2005; 81: 135-7.
45. Schwierz A, Taras D, Rusch J, Rusch V. Throwing the dice for the diagnosis of vaginal complaints? *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2006; 5: 4.

Aceptado para su publicación el 18 de mayo de 2007

