

CONSIDERACIONES SOBRE EL AISLAMIENTO EN EXUDADOS VAGINALES DE *STREPTOCOCCUS MORBILLORUM*

J.M. Egado, J.R. Maestre y M.Y. Peña Izquierdo

De el estudio de 195 exudados vaginales enviados por el Servicio de Ginecología de este hospital, durante el periodo 1988-1990, hemos seleccionado aquellos en los que el cultivo fue positivo para estreptococos, 58 (30%) de los cuales 26 (44.8%) correspondían a *Streptococcus morbillorum*, 9 (15.5%) a *Gardnerella vaginalis*, 5 (8.6%) a *Enterococcus faecalis-durans*, y a *Streptococcus agalactiae*, 3 (5.1%) a *Streptococcus mitis* y *Streptococcus milleri*, 2 (3.4%) a *Streptococcus bovis* y *Streptococcus cremoris* y 1 (1.7%) a *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus equinus* y *Streptococcus sanguis* II respectivamente. En todos los casos se observó antecedentes de actuación médico-quirúrgica en el tracto genital, y en el 52.8% de los casos fue concomitante con el diagnóstico clínico-micológico de candidiasis vaginal. La identificación bacteriológica se realizó mediante el sistema API 20 STREP (sistema api bioMérieux GmbH, Nütingen, Alemania) dando un patrón típico ("excelente identificación") para el *Streptococcus morbillorum*.

Palabras-claves: *Streptococcus morbillorum*. Exudados vaginales. Candidiasis vaginal.

El *Streptococcus morbillorum* es un coco Gram positivo en cadenas o pares, no móvil, no esporulado, catalasa negativo y anaerobio facultativo, pertenece al grupo de estreptococos viridans. Inicialmente fue descrito por Prevot como *Diplococcus morbillorum* en 1933¹⁵, aunque Colman y Williams (1972) no lo identificó entre sus especies de estreptococos viridans orales³, Facklan (1977) lo reconoció entre las especies asociadas con infecciones en humanos junto con el *Streptococcus uberis* y *acidominus*⁸.

En los estudios publicados sobre flora estreptocócica del grupo viridans en exudados vaginales, encontramos que en 1977 Levison et al. aisló un 52% de flora estreptocócica alfa o gamma hemolítica, de un total de 25 pacientes 11, en 1980 Sauter y Brown aisló solo un 10% de un total de 65 pacientes estudiados 18, en 1984 Brum et al. aislaron un 14% en un screening realizado a 270 mujeres 1, y últimamente en 1988 Lorna K. Rabe et al. aisló flora estreptocócica del grupo viridans en un

41% de un total de 90 pacientes con vaginitis bacteriana¹⁶.

El papel de los estreptococos grupo viridans y en especial del *Streptococcus morbillorum* en el tracto genital femenino no ha sido aclarado. En el trabajo, mencionado anteriormente, de Lorna K. Rabe mostrò que el *Streptococcus acidominimus* y el *Streptococcus morbillorum* fueron encontrados con una prevalencia significativa, en mujeres con vaginitis bacteriana.

El objeto del presente estudio es determinar las características en el aislamiento, la incidencia en los cultivos de exudados vaginales y su relación con otras alteraciones del *Streptococcus morbillorum*.

MATERIALES Y METODOS

Población a estudio: El total de muestras fueron 195 y correspondieron a mujeres entre los 18 y 45 años de edad que fueron consultadas y tratadas por el Servicio de Ginecología por presentar síntomas de vaginitis infecciosa. Para el presente estudio las muestras se dividieron en dos grupos, uno en el que la flora predominante era estreptocócica, otro con el resto de los aislamientos.

Recolección de las muestras: Las muestras recibidas fueron recogidas mediante torundas

Departamento de Microbiología Clínica. Hospital de la Marina del Ferrol. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.

Endereço para correspondencia: Dr. Jesus M. Egado. Hospital de la Marina del Ferrol., Apartado de Correos 8121, 28080 Madrid (España); Telf: (91) 6 66 15 30.

Recebido para publicação em 14/04/94.

estériles por frotamiento de las paredes del conducto vaginal, y posteriormente eran introducidas en viales con medio de transporte Amies (Amies Transport Medium -DIFCO-) y remitidas a nuestro servicio para su manipulación y estudio bacteriológico.

Condiciones de cultivo

- 1) Examen microscópico en fresco: la torunda eran extraídas de su medio de transporte y se hacía una extensión sobre un porta flameado con un poco de solución salina fisiológica estéril, se ponía un cubre y se visualizaba al microscopio óptico con objetivo seco de 40X informando de: a) presencia de células epiteliales descamativas (nº de cels. epitls. por campo de 40X); b) presencia de leucocitos polimorfonucleares (nº de P.M.Ns. por campo de 40X); c) relación células/leucocitos polimorfonucleares; d) presencia de formas móviles (*Trichomonas*); e) presencia de formas levaduriformes con o sin filamentos; f) presencia de flora microbiana acompañante; g) presencia de células clave (clue-cels).
- 2) Gram: se retiraba el cubre y se hacía una tinción Gram observando principalmente el tipo de flora existente.
- 3) Cultivos: se empleaban los siguientes medios: a). agar sangre de cordero al 5%, incubando 18-24h a 37°C en una atmósfera con un 5% de CO₂; b). agar chocolate con IsoVitalex incubando 18-24h a 37°C en una atmósfera con un 5% de CO₂; c). agar Gardnerella (BioMerieux) incubando 18h a 37°C en una atmósfera de 2-5% de CO₂; d). agar Gardnerella (BioMerieux) incubando 18h a 37°C en una atmósfera de 2-5% de CO₂; e). medio de Roiron para el estudio de *Trichomonas vaginalis*; f). agar Mycosel (BBL) para el estudio de levaduras

En escobillados del cervix se realizaban cultivos para *Ureaplasma urealyticum* y estudios de I.F. para Chlamydeas.

Caracterización bacteriana: Una vez aislado el microorganismo, se prepara una suspensión en solución salina fisiológica estéril hasta conseguir una turbidez de 4 en la escala de McFarland, con esta suspensión se inocula en galerías de identificación API 20 STREP. Para la fermentación de azúcares, la suspensión se realizaba en un medio con rojo fenol como indicador.

Se incubaban las tiras de identificación durante 18 horas a 37°C y se realiza una lectura colorimétrica después de dejar actuar los reactivos durante 10 minutos.

Cada reacción se cataloga de positiva o negativa de acuerdo con un patrón colorimétrico y se le asigna un valor arbitrario, así obtenemos un código numérico que introducido en un catálogo nos da la identificación con un porcentaje de incertidumbre⁵⁷.

RESULTADOS

De un total de 195 muestras de exudados vaginales estudiados, en 58 (30.3%) muestras se aisló flora estreptocócica como germen principal. De estas el *Streptococcus morbillorum* se aisló en 26 (44.8%) casos, *Gardnerella vaginalis* en 9 (15.5%) casos y *Enterococcus sp.* y *Streptococcus agalactiae* en 5 (8.6%) casos, respectivamente en menor cuantía está el *Streptococcus mitis*, *milleri*, *cremoris* y *bovis* (17%) (Figura 1).

En más de la mitad de los casos (52.8%) el aislamiento de *Streptococcus morbillorum* fue acompañado con el diagnóstico clínico-micológico de candidiasis vaginal, en un 35 % con la toma de anovulatorios, en un 17.5% hubo maniobras de legrado uterino; clínica de metrorragias (abortos espontáneos?) y litiasis vesical en el 11.5% de los casos respectivamente. Siempre hemos encontrado algún factor clínico-quirúrgico que acompaña al aislamiento (Figura 1).

El examen en fresco de los exudados vaginales mostró una relación células vaginales/leucocitos polimorfonucleares elevada (predominio celular), en un 25% de la muestra se observó la presencia de células epiteliales con abundante flora microbiana adherida a su superficie (clue-cels). La tinción Gram mostró abundante flora microbiana con predominio de bacilos gram + tipo Döderlein (lactobacilos).

Las citologías (tinción de Papanicolau) no revelaron alteración alguna, salvo la presencia de formas levaduriformes con pseudohifas (corroboradas por nuestros exámenes en fresco) en la misma proporción que nosotros obtuvimos cultivos positivos para candidas.

El *Streptococcus morbillorum* crece bien en agar sangre de cordero tanto en condiciones aeróbicas como microaerófilas, mostrando una

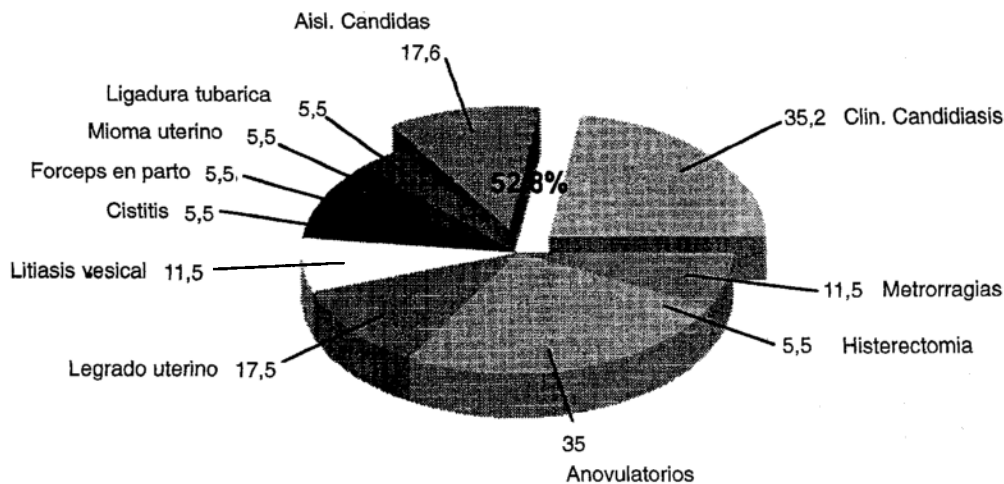


Figura 1 - Factores en el Aislamiento del *Streptococcus morbillorum*.

hemólisis alfa. Forma colonias, después de 18h de incubación a 37°C, convexas de 0.5 a 1mm de diametro. En agar Gardnerella crece bien pudiendo dar el mismo tipo de hemólisis que en el agar sangre de cordero o no mostrar ninguna hemólisis (hemólisis gamma) tras 18h de incubación a 37°C. en una atmósfera del 2 al 5% de CO₂ las colonias son ligeramenete mas pequeñas que en agar sangre de cordero.

Bioquímicamente es una bacteria catalasa y oxidasa negativo, no hidroliza el hipurato y no utiliza el almidón ni la esculina. Algunas cepas fueron V.P. positivas (7.6%) y mostraron la presencia de beta-galactosidasa (2.7%).

En cuanto a la fermentación de azucares (virando el medio a acido sin producción de gas) solo fue positiva en algunas cepas para el manitol (2.7%), para la lactosa, rafinosa y glucógeno fueron negativos (Tabla 1). Todas

las cepas aisladas por nosotros mostraron la presencia de leucil arilaminasa (L.A.P.) puesta en evidencia por la utilización del sustrato L-leucin-2- naftilamida que se hacía patente por medio de un reactivo conteniendo ClH al 37%, lauril sulfato sodico y colorante Fast blue BB (la reacción positiva era de un color naranja y la negativa incolora).

Ninguna de las cepas fue posible su seroagrupación.

DISCUSION

Del estudio de los exudados vaginales, seleccionando aquellos con predominio de flora estreptococica, correspondieron al 30% de todas los recibidos. Al realizar el estudio de los mismos encontramos un germen poco habitual en la patologia humana como es el *Streptococcus morbillorum*.

Esta organismo esta clasificado dentro de los estreptococos grupo viridans 4 y es considerado como un estreptococo anaerobio aerotolerante, productor de endocarditis e infecciones supurativas en el hombre y habitante como flora normal del intestino y tracto urogenital. Lorma K. Rabe, encontró al *Streptococcus morbillorum* junto con el *Streptococcus acidominimus* como flora comensal en tracto genital femenino¹⁶.

En una revision realizada por el Hospital de New York desde 1976 a 1982 de aislamientos en humanos de estreptococos del grupo

Tabla 1 - Características bioquímicas de las 58 cepas de *Streptococcus morbillorum*.

Determinaciones	Reaccion	Porcentaje
Catalasa	-	100.0
Oxidasa	-	100.0
Hemólisis agar sangre	+alfa	100.0
Hipurato	-	100.0
Almidón	-	100.0
Esculina	-	100.0
Leucin-2-naftilamida (L.A.P.)	+	100.0
Voges-Prostaguer (V.P.)	+	7.6
alfa-galactosidasa	+	100.0
beta-galactosidasa	+	2.7
Manitol	+	2.7
Lactosa	-	100.0
Rafinosa	-	100.0
Glucógeno	-	100.0

viridans extrarrespiratorios, encontraron solo 19 casos de *Streptococcus morbillorum* de un total de 1391 aislamientos, de los cuales ocho lo fueron por bacteriemias, cinco de origen intestinal cuatro de origen urogenital y dos artritis septicás¹⁷. Facklam de un estudio de 1227 muestras clínicas de las que aisló estreptococos del grupo viridans, encontró 5 *Streptococcus acidominimus*, 4 de origen urogenital y aisló 46 *Streptococcus morbillorum*³.

Nosotros lo hemos aislado en 26 (45%) casos de las 58 muestras vaginales con cultivo positivo para estreptococos, su aislamiento se ha asociado en un 50% con clínica y/o cultivo de candidas albicans, y siempre hemos constatado la presencia de actuación medicoquirúrgica en region genital (miomas, legrados, histerectomia, anobulatorios, etc.) (Figura 1).

En un 25% de los casos, el examen microscopico y la tincion de Gram, nos daba unos resultados que hacia pensar en un cuadro de vaginitis por *Gardnerella vaginalis*, 6 con relacion células escamativas/leucocitos polimorfonucleares alto y la presencia de células clave (clue cels). Tambien observamos en los Gram la presencia de cocobacilos gram + con parecido a los lactobacilos, que seguramente correspondian a formas alargadas descritas en el crecimiento del *Streptococcus morbillorum* 11 lo que daría lugar a un factor de error en la evaluacion de los Gram de los

exudados vaginales por el método de Spiegel et al¹⁹.

En cuanto a las cepas aisladas todas fueron alfa-hemolíticas en agar sangre de cordero y no hemolíticas o debilmente en agar sangre humana (para el aislamiento de Gardnerellas). Los aislamiento siempre fueron realizados en aerobiosis y los pases en microaerobiosis (5% CO₂), no se utilizó ningun medio selectivo específico, creciendo bien en agar sangre de cordero, agar chocolate suplementado con IsoVitalex y sin antibioticos y en agar Gardnerella en 2% de CO₂.

Hemos aislado *Streptococcus morbillorum* de exudados uretrales en una proporción mas baja que en vaginales y no hemos tenido constancia de la transmision sexual del mismo (Figura 2).

Bioquímicamente nuestras cepas han sido bastante homogéneas, todas fueron aerotolerantes, alfa-hemolíticas en agar sangre de cordero y la unica prueba común en todas fue la presencia de leucil arilaminasa (L.A.P.), cuya demostración iba incorporada en las tiras de identificación API 20 STREP (bioMérieux), siendo una característica que le diferencia del genero Gemella (Tabla 2).

De acuerdo con lo expuesto podemos deducir que: a). de las muestras recibidas de exudados vaginales en los que se encontró flora hemolítica (estreptococica), el principal germen aislado fue el *Streptococcus*

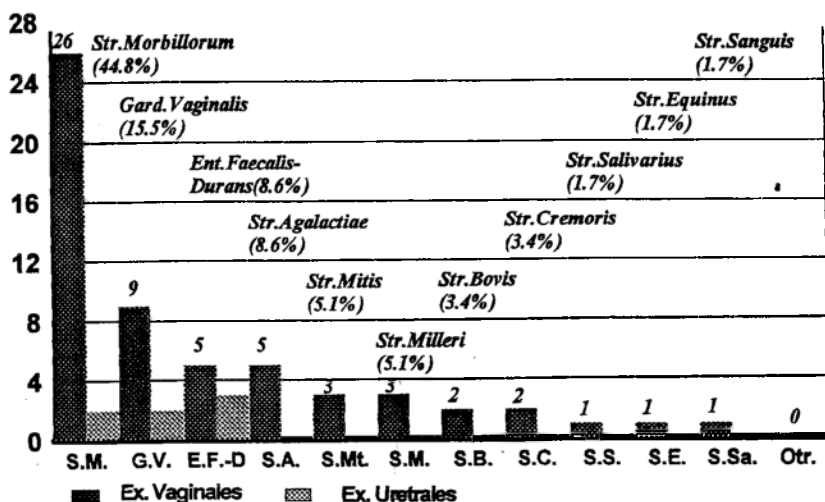


Figura 2 - Estreptococos. Aislamientos de exudados vaginales.

Tabla 2 - Características bioquímicas del *Streptococcus morbillorum* y *Gemella haemolysans*.

	A	B	C	D	E
Catalasa	-	-	-	-	-
Oxidasa	-	-	-	-	-
Hemólisis	+1	+4	+4	-	+7
Hidrólisis de:					
hipurato	-	+5	-	-	+
esculina	-	-	-	-	-
Acido de:					
almidón	-	-	-	-	+
manitol	+3	-	-	+	-
lactosa	-	-	-	-	-
rafinosa	-	-	-	-	-
glucógeno	-	-	-	-	+
sacarosa	-	+	-	+6	-
sorbitól	-	-	-	-	+
L.A.P.	+	-	-	-	-
V.P.	+2	-	-	-	-
Alfa-galactosidasa	-	-	-	-	-
Beta-galactosidasa	+3	-	-	-	-
CINa 6.5%	-	-	-	-	-
Bilis-esculina	-	-	-	-	-
Acrotolerancia	+	-	-	+	+
Acetil metil carbinol	-	-	-	-	-

A = Características de las cepas expuestas en este artículo (*Str. Morbillorum*); B = Facklam RR (1982), Lennette EH 6; C = Hardie JM (1986) 8; D = Kaufhold A (1989) 10; E = Perez MAB (1986) 13.

1 - hemólisis alfa en el 100% de los casos; 2 = positivo en el 7.6% de los casos; 3 = positivo en el 2.7% de los casos respectivamente; 4 = hemólisis alfa y gamma; 5 = excepcional; 6 = debil; 7 = hemólisis beta en agar sangre humana al 5%.

L.A.P. = Leucil-2-naftilamida. V.P. = Voges-Prostauer.

CINa 6.5% = crecimiento en cloruro sodico al 6.5%.

Hemólisis = hemólisis en agar sangre.

morbillorum; b). en mas de la mitad de los casos (52%) el aislamiento de candidas con significacion clinica, fue acompañado con el aislamiento de *Streptococcus morbillorum*; c). en todos los casos se encontró una actuacion medico-quirurgica sobre la region genital que podia originar alteraciones en la flora saprofitica vaginal; d). la asociacion estreptococo-candida nos sugiere que el *Streptococcus morbillorum* puede formar parte de la flora saprofitica vaginal y ante variaciones de su nicho ecologico da lugar a las condiciones óptimas para su proliferación y consiguiente accion patogena; e). en un 25 % de los casos las muestras dieron una fenomenologia igual que los aislamientos de *Gardnerellas*, con aparición de "clue cels", una relación células/PMNs. alta y crecimiento similar en medios especificos. Sólo una completa identificación bacteriana puede evitar posibles confusiones; f). no hay constancia de algun caso por transmision sexual, aunque hemos tenido aislamientos en exudados uretrales en pacientes sintomaticos siendo en una proporcion mucho mas pequeña que en los vaginales (Figura 2); g). el comportamiento bioquimico de nuestras cepas difieren en cierto grado con otros aislamientos de *Streptococcus morbillorum*⁸. Posteriores estudios taxonómicos pueden

demonstrar la posibilidad de incluirlo en el genero *Gardnerella* o *Gemella* como han apuntado otros autores¹⁰.

SUMMARY

We have tested 195 vaginal secretions sent by Gynecology Service of this hospital between the years 1988 - 1990. We achieved positive culture for streptococci in 58 (30%) of these cultures, 26 (44.8%) corresponding to *Streptococcus morbillorum* 9 (15.5%), to *Gardnerella vaginalis* 5 (8.6%), to *Enterococcus faecalis-durans* and to *Streptococcus agalactiae*, 3 (5.1%) to *Streptococcus mitis* and *Streptococcus milleri* 2 (3.4%), to *Streptococcus bovis* and *cremoris*, and 1 (1.7%) to *Streptococcus salivarius*, *equinus* and *sanguis* II respectively. We previously found that 52.8% of these patients were positive for vaginal candidiasis. The bacteriological identification done by the API 20 STREP System (bioMerieux GmbH, Nütingen, Germany) provides a typical pattern ("good identification") for the *Streptococcus morbillorum*.

Key-words: *Streptococcus morbillorum*, Vaginal secretions, Vaginal candidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Brump, RC, Zuspan FP, Buesching WJ, Ayers LW, Stephens TJ. The prevalence, six month

- persistence, and predictive values of laboratory indicators of bacterial vaginosis (nonspecific vaginitis) in asymptomatic women. *American Journal of Obstetric and Gynecology* 150:917-924, 1984.
2. Colman G, Ball LC. Identification of Streptococci in a Medical Laboratory, *Journal of Applied Bacteriology* 57:1-14, 1984.
 3. Colman G, Williams RED. Taxonomy of Some Human Streptococci and Streptococcal Disease. In: Wannamaker LW, Matsen JM (eds) *Streptococci and Streptococcal Disease*, Acad. Press, New-York and London p. 77-116, 1982.
 4. Facklam RR. The Major Differences in the American British Streptococcus Taxonomy Schemes with Special Reference to *Streptococcus milleri*. *European Journal of Microbiology* 3:91-93, 1984.
 5. Facklam RR. Physiological differentiations of viridans streptococci. *Journal of Clinical Microbiology* 5:184-188, 1977.
 6. Facklam RR. Estreptococos y aerococos. In: Lennette EH (ed) *Microbiología Clínica*, 4th edition, Panamericana, Buenos Aires p. 119-151, 1982.
 7. Facklam RR, Rhoden DL, Smith PB. Evaluation of the Rapyd Strp System for the Identification of Clinical Isolates of Streptococcus Species. *Journal of Clinical Microbiology* 20:894-898, 1984.
 8. Hardie JM. Genus *Streptococcus*. In: Sneath P (ed) *Bergey's manual of systematic bacteriology*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore vol 2 p. 1068, 1986.
 9. Holdeman LV. More WEC. New genus, Coprococos, twelve new species, and emended descriptions of four previously described species of bacteria from human feces. *International Journal of Systematic Bacteriology* 24:260-277, 1974.
 10. Kaufhold A, Francen D, Lutticken R. Endocarditis caused by *Gemella haemolysans*. *Infection* 17:385-387, 1989.
 11. Levison ME, Corman LC, Carrington ER, Kage D. Quantitative microflora of the vagina. *American Journal of Obstetric and Gynecology* 127:80-85, 1977.
 12. Maxwell S. Endocarditis due to *Streptococcus morbillorum*. *Journal of Infectology* 18: 67-72, 1989.
 13. Perez MAB, Diaz JMM, Domingo AO, Ortiz de Lejarazu R, Torres AR. Consideraciones sobre el aislamiento e identificación de *Gardnerella vaginalis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 4:174-178, 1986.
 14. Piot P. Taxonomi Studies of *Gardnerella vaginalis*. *Journal of General Microbiology* 119:373-397, 1980.
 15. Prevot AR. Etudes de systematique bacterieme I. Lois generales II Cocci anaerobies. *Annuaire de Sciences Natureles* 15:23-260, 1933.
 16. Rabe LK, Winterscheid KK, Hillier SL. Association of Viridans Group Streptococci from Pregnant Women with Bacterial Vaginosis and upper Genital Tract Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 13:1156-1160, 1988.
 17. Roberts RB. Viridans and beta hemolytic (non group A, B, and D) streptococci. In: Mandell G, Douglas RG, Bennett JE (eds) *Principles and practice of infectious disease*, 2nd edition, John Wiley & Sons, New-York p. 1162-1171, 1985.
 18. Sautter RL, Brown WJ. Sequential vaginal cultures from normal young women. *Journal of Clinical Microbiology* 11:479-484, 1980.
 19. Spiegel CA, Amsel R, Eschenbach D, Schoenknecht F, Holmes KK. *New England Journal of Medicine* 303:601-606, 1980.