

## Evaluación de la puntuación de Nugent intermedia en la vaginosis

M. Magdalena Padilla-López, María G. Bermúdez-Salazar, Rosa G. Rodríguez-Delgado, Annia M. Mejía-Ávalos, Fernando M. Guerra-Infante  y Marcela López-Hurtado\* 

Departamento de Infectología, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Ciudad de México, México

### Resumen

**Antecedentes:** El microbiota vaginal desempeña un papel crucial en la salud de la mujer, y un desequilibrio de esta, como una infección por bacterias, virus u hongos, produce vaginosis. Su diagnóstico por laboratorio es principalmente mediante los criterios de Amsel y la puntuación de Nugent. Sin embargo, una puntuación de Nugent intermedia carece de poder diagnóstico. **Objetivo:** Determinar la utilidad de la puntuación de Nugent intermedia en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. **Método:** Se analizaron 460 muestras vaginales para la detección de *Gardnerella*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Candida* y *Trichomonas* mediante microscopía y cultivo microbiológico con medios especiales, así como por ensayos moleculares para estos y para *Chlamydia trachomatis* empleando la reacción en cadena de la polimerasa de punto final. El análisis estadístico se realizó mediante un conglomerado de K-medias. **Resultados:** El conglomerado de K-medias evidenció la formación de cuatro clústeres, en los que la puntuación intermedia de Nugent se agrupó dentro del clúster 1 que presentó mayor puntuación de vaginosis bacteriana. El clúster 4 mostró alta variabilidad de patógenos y se encontró dentro del cuadrante de la vaginosis, sugiriendo que estos desarrollan una vaginosis aeróbica. **Conclusiones:** Las pacientes con una puntuación de Nugent de 4 a 6 (intermedia) deben considerarse que tienen una vaginosis bacteriana.

**Palabras clave:** Vaginitis. Vaginosis. Amsel. Nugent.

### Evaluation of the intermediate Nugent score in vaginosis

#### Abstract

**Background:** The vaginal microbiota plays a crucial role in women's health, and an imbalance of this, such as an infection by bacteria, viruses, and fungi, causes vaginosis. Its laboratory diagnosis is mainly based on the Amsel criteria and the Nugent score. However, the intermediate Nugent score lacks diagnostic power. **Objective:** To determine the usefulness of the intermediate score in diagnosing bacterial vaginosis. **Method:** Four hundred and sixty vaginal samples were analyzed for the detection of *Gardnerella*, *Ureaplasma*, *Mycoplasma*, *Candida*, and *Trichomonas* by microscopy and microbiological culture with selective and differential media, as well as by molecular assays for these and for *Chlamydia trachomatis* using end-point polymerase chain reaction. The statistical analysis was performed using a cluster of K-means. **Results:** Statistical analysis using a K-means cluster showed the formation of four clusters where the intermediate Nugent score was grouped within cluster 1, which had the highest bacterial vaginosis score. Cluster 4 showed a high variability of pathogens within the vaginosis quadrant, suggesting they develop aerobic vaginosis. **Conclusions:** Patients who show a Nugent score of 4 to 6 (intermediate) should be considered as women who have bacterial vaginosis.

**Keywords:** Vaginitis. Vaginosis. Amsel. Nugent.

#### \*Correspondencia:

Marcela López-Hurtado

E-mail: [diaclaro2000@yahoo.com.mx](mailto:diaclaro2000@yahoo.com.mx)

0187-5337/© 2025. Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Publicado por Permanyer. Este es un artículo open access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Fecha de recepción: 11-02-2025

Fecha de aceptación: 13-05-2025

DOI: 10.24875/PER.25000001

Disponible en internet: 26-11-2025

Perinatol Reprod Hum. 2025;39(1):1-11

[www.perinatologia.mx](http://www.perinatologia.mx)

## Introducción

La vaginitis en la mujer es el trastorno clínico más frecuente de asistencia con el médico ginecólogo, pues a menudo se presenta con síntomas de ardor, olor, picazón e irritación<sup>1,2</sup>. Las afecciones más frecuentes que están asociadas con la vaginitis son la vaginosis bacteriana, la candidiasis vulvovaginal y la tricomoniasis<sup>1,2</sup>.

La vaginosis bacteriana es una disbiosis vaginal caracterizada por una disminución de las especies comensales de *Lactobacillus* y un sobrecrecimiento de bacterias anaerobias, como *Gardnerella* spp., *Fannyhessea vaginalis* (anteriormente *Atopobium vaginalis*), *Prevotella* spp., *Bacteroides* spp. y *Mobiluncus* spp., en el microbiota vaginal. La vaginosis bacteriana es la causa más común de flujo vaginal anormal en las mujeres en edad reproductiva<sup>1-3</sup>. Su prevalencia varía del 20 al 60% según el país donde se hace el diagnóstico<sup>3</sup>. Presenta una incidencia estimada del 27% en EE.UU., del 29% en Europa y del 28 al 30.6% globalmente<sup>2-4</sup>. Las especies de *Lactobacillus* desempeñan un papel importante en los mecanismos de defensa del huésped para proteger el microbioma vaginal manteniendo un ambiente ácido y equilibrado, gracias a la producción de ácido láctico, peróxido de hidrógeno y bacteriocinas que inhiben el crecimiento de otras bacterias oportunistas y mantienen el equilibrio del microbiota vaginal<sup>3</sup>.

La candidiasis vulvovaginal es una infección fúngica causada por especies de *Candida* y se ubica como la segunda causa más frecuente de infección vaginal, después de la vaginosis bacteriana. Se estima que entre el 70 y el 75% de las mujeres tendrá al menos un episodio durante su vida reproductiva<sup>5</sup>. Aunque la especie más común (90% de los casos) en la candidiasis vulvovaginal es *Candida albicans*, existen otras especies de *Candida*, como *Nakaseomyces glabrata* (*C. glabrata*), *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*), que también producen candidiasis vulvovaginal<sup>1,2,5</sup>. La prevalencia mundial es diversa: del 25% en Argentina, del 34% en Arabia Saudita, del 31% en Jamaica, del 42% en Líbano, del 44% en Brasil, del 13% en China, del 20% en Kuwait, del 42% en Kenia y del 45% en Uganda<sup>5</sup>. En México, del 12.5 al 23.3% de las vaginitis son por candidiasis vulvovaginal, siendo *C. albicans* la más prevalente (39-80%), seguida por *N. glabrata* (35.9%), *C. tropicalis* (16.2%), *P. kudriavzevii* (1.55%) y *C. parapsilosis* (0.78%). Recientemente se ha informado de altos

porcentajes de infección por *N. glabrata* (80.43%) en mujeres con candidiasis vulvovaginal recurrente<sup>6,7</sup>.

La tricomoniasis es causada por el protozoo *Trichomonas vaginalis* y es una de las infecciones más frecuentes en todo el mundo<sup>1,2,8</sup>. La Organización Mundial de la Salud (OMS) reporta que cada año hay cerca de 156 millones de nuevos casos. Es considerado como un microorganismo de transmisión sexual que se ha asociado con múltiples resultados adversos para la salud sexual y reproductiva en mujeres, hombres y recién nacidos<sup>8,9</sup>. Un metaanálisis informó una prevalencia de *T. vaginalis* del 5.5% en diversas poblaciones del Oriente Medio y del norte de África<sup>10</sup>. En Europa, las tasas son más bajas: del 0% en Alemania, del 1.6-1.9% en Inglaterra, del 2.1% en Bélgica, del 1.2-1.9% en España y del 1.7% en Francia<sup>11,12</sup>. En EE.UU. se ha documentado una prevalencia del 1.8% en promedio, pero con una amplia disparidad étnica (0.4-6.8%)<sup>8</sup>. En mujeres de América Latina en edad reproductiva se ha estimado en un 3.9%<sup>8</sup>. En México, la tricomoniasis es una enfermedad poco notable, ya que los datos epidemiológicos reportados por los servicios de salud pública no representan la magnitud real de lo que ocurre, debido a la falta de una cobertura total y porque muchas mujeres son asintomáticas. La poca información disponible en México sobre la prevalencia de tricomoniasis reporta entre un 0.5 y un 17.9%, la cual se limita a estudios locales realizados en unas cuantas ciudades<sup>2,13-15</sup>.

El diagnóstico preciso de la vaginitis sigue siendo un desafío debido a los numerosos agentes etiológicos que pueden estar involucrados. El diagnóstico clínico se basa históricamente en la evaluación clínica, el examen microscópico y el cultivo microbiológico<sup>1,3,16</sup>. El método de referencia para la detección de vaginosis bacteriana es la tinción de Gram utilizando la puntuación de Nugent<sup>1,3,16</sup>. Sin embargo, se debe tener en cuenta que la evaluación microscópica de los frotis depende de las habilidades y de la experiencia del investigador, y no siempre se obtiene una información confiable sobre los taxones bacterianos, la presencia de biopelículas o el grado de disbiosis vaginal. La puntuación de Nugent consiste en evaluar e identificar tres morfotipos de bacterias en un portaobjetos teñido por el método de Gram: *Lactobacillus*, *Gardnerella* y bastoncillos curvados<sup>3,16</sup>. Se conoce que la presencia de *Lactobacillus* previene la colonización y la infección por patógenos de transmisión sexual y de especies de *Candida*<sup>3</sup>. La puntuación de Nugent tiene tres categorías: 0-3, negativa para vaginosis bacteriana (alto contenido de lactobacilos); 4-6, intermedia (bajo contenido

**Tabla 1.** Evaluación de los morfotipos bacterianos según los criterios de Nugent

Morfotipos observados por campo			
Puntaje Nugent	Lactobacilos grampositivos	Bacilos cortos Gram variables ( <i>Gardnerella vaginalis</i> / <i>Bacteroides</i> )	Bacilos curvos Gram variables ( <i>Mobiluncus</i> spp.)
0	> 30	0	0
1	1-30	< 1	1-4
2	1-4	1-4	> 5
3	< 1	5-30	
4	0	> 30	

de lactobacilos), y > 7, positiva para vaginosis bacteriana (nulo contenido de lactobacilos)<sup>16</sup>.

Actualmente existen muy pocos estudios sobre la puntuación de Nugent intermedia y su asociación con tricomoniasis o candidiasis vulvovaginal. Estos pocos estudios se han realizado en trabajadoras sexuales y en mujeres que asisten a las clínicas de infecciones de transmisión sexual<sup>17,18</sup>, en donde la ausencia de *Lactobacillus* se asoció con un incremento de infecciones de transmisión sexual y de candidiasis vulvovaginal. Por lo tanto, el propósito de este estudio fue evaluar la puntuación de Nugent intermedia en la vaginitis de mujeres embarazadas e infértiles.

## Método

Se empleó la guía internacional STROBE (www.strobe-statement.org) para garantizar el rigor y la transparencia del presente trabajo.

## Diseño del estudio

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional de enero a julio del 2024. Todas las participantes firmaron su consentimiento informado.

## Población de estudio

La población estuvo conformada por mujeres de entre 15 y 45 años que mostraran datos clínicos de cervicitis, flujo vaginal o prurito, y que asistieron al Instituto Nacional de Perinatología para identificar las causas de su molestia. Los criterios de inclusión fueron no haber tomado antibióticos 20 días antes de la toma de la muestra y tener abstinencia sexual de al menos 72 horas en el momento de la toma de la muestra. Los

criterios de exclusión fueron tener expediente clínico incompleto.

## Obtención de la muestra

Las muestras cervicovaginales se obtuvieron mediante hisopado vaginal y endocervical. Los hisopos fueron depositados en medio de transporte (Medio UTM-RT, COPAN, Brescia, Italia) para la posterior extracción de DNA en el laboratorio de bioinmunología molecular y celular del Instituto Nacional de Perinatología.

## Análisis microscópico y cultivo microbiológico

Para el cultivo cervicovaginal se tomaron tres hisopos: el primero para cultivo en medios artificiales, el segundo para un frotis para tinción de Gram y el tercero para un examen en fresco. Para este último, la muestra se homogenizó en un tubo con solución salina y se colocó una gota entre un portaobjetos y un cubreobjetos; la observación se realizó en un microscopio Karl-Zeiss con objetivo de 40 aumentos. Se realizó la búsqueda de células clave, levaduras, pseudohifas y *T. vaginalis*. Para los criterios de Amsel se analizaron el pH (> 4.5), la presencia de flujo vaginal gris, homogéneo y adherente, la liberación de olor a pescado al adicionar hidróxido de potasio al 10% a la secreción y la presencia de células clave. La presencia de tres de los parámetros anteriores se considera como vaginosis bacteriana.

El frotis con la tinción de Gram y observación con el objetivo de 100 aumentos se empleó para evaluar los diferentes morfotipos bacterianos (criterios de Nugent), como se observa en la [tabla 1](#). Una puntuación entre 0 y 3 se interpretó como microbiota vaginal normal (predominio de *Lactobacillus*), de 4-6 como intermedia

(microbiota mixta) y de 7-10 como vaginosis bacteriana (caracterizada por el agotamiento de *Lactobacillus* spp. y la presencia abundante de *Gardnerella vaginalis* o de *Bacteroides* spp.).

El medio de cultivo artificial empleado fue agar gelosa chocolate (agar Columbia CNA suplementado con sangre de caballo o sangre humana al 5%). La muestra se sembró por la técnica de estría cruzada e incubada a 37 °C con un 5% de dióxido de carbono por 48 horas. La presencia de colonias de 1 mm de diámetro, beta-hemolíticas y de color grisáceo se consideró como posible *G. vaginalis*; para confirmar su identificación se realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes en el sistema automatizado Vitek Compat 2, usando la tarjeta NH.

### Cultivo microbiológico para especies de *Candida*

Todas las muestras vaginales se sembraron en medio de agar dextrosa Sabouraud para aislamiento de hongos. A todos los aislamientos micológicos se les realizó un estudio micromorfológico en agar harina de maíz con un 1% de Tween 80 (Corn-Mealagar, Oxoid, Reino Unido) y se sembraron en agar cromogénico para levaduras (CHROMagar™ *Candida*, París, Francia). Para la identificación de género y especie se utilizaron los patrones de asimilación de azúcares empleando las galerías API®ID32Co API®20CAUX (bioMérieux, Marcy l'Etoile, Francia). Además, se incluyeron otras pruebas bioquímicas para diferenciar *C. albicans* de *C. dubliniensis*.

### Extracción del ADN

La extracción del ADN de las muestras cervicovaginales se realizó por el método fenol-cloroformo, tal como describieron González-Mustri et al.<sup>19</sup>.

### Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la identificación de *G. vaginalis*

Se amplificó el gen ARN ribosomal 16S (ARNr 16S) específico de *G. vaginalis* usando los iniciadores *forward* 5'-TTCGATTCTGGCTCAGG y *reverse* 5'-CCATCCCAAAGGGTTAGGC. Los iniciadores fueron sintetizados según sus secuencias publicadas y descritas por Pillay et al.<sup>20</sup>. La PCR se realizó en un volumen final de 25 µl bajo las siguientes condiciones: 0.2 µM de cada iniciador, 1 µl de ADN genómico,

12.5 µl de Master Mix 2X (PCR Master Mix, Thermo Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) y el resto de agua grado biología molecular. La mezcla de reacción se sometió a 28 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 30 segundos, hibridación a 52 °C durante 45 segundos y extensión a 72 °C durante 1 minuto y 25 segundos (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Las condiciones de PCR se establecieron de acuerdo con lo publicado por Pillay et al.<sup>20</sup>. El control negativo fue agua grado biología molecular y el control positivo fue la cepa de *G. vaginalis* 14018 ATCC.

Los productos de la PCR fueron separados en gel de agarosa (UltraPure™ Agarose, Invitrogen™, Life Technologies, Carlsbad, CA, EE.UU.) al 2 % en TAE 1X a 100 V por 30 minutos (EC Apparatus Corporation, Temecula, CA, EE.UU.). En uno de los carriles se adicionaron 5 µl de marcador de tamaño molecular de 50 pb (Accuris Instruments, New Jersey, EE.UU.) para identificar el tamaño de la banda. Una vez terminado el corrimiento electroforético se pasó el gel a una solución de bromuro de etidio al 1% (para la tinción del ADN) durante 8 minutos y después se colocó el gel al chorro del agua para eliminar el excedente del bromuro de etidio. Enseguida se colocó el gel en un analizador de imágenes (transiluminador Light Cabinet Hood, Alpha Innotech, California, EE.UU.) para ver la separación de los productos de la PCR.

### PCR para la identificación de *T. vaginalis*

Se realizó una PCR anidada que reconoce al gen de la actina (GenBank: AF237734). La selección de cebadores externos (OP) e internos (IP) se realizó según lo descrito por Crucitti et al.<sup>21</sup>. Los OP utilizados fueron Tv8S (5'-TCTGGAATGGCTGAAGAAGACG-3') y Tv9R (5'-CAGGGTACATCGTATTGGTC-3'), y los IP fueron Tv10S (5'-CAGACACTCGTTATCG-3') y Tv11R (5'-CGGTGAACGATGGATG-3'). El producto de amplificación fue de 1100 pb. La amplificación por PCR se realizó utilizando un termociclador (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Hamburgo, Alemania) en dos pasos. El primer paso de la PCR estuvo compuesto por 5 µl de ADN, 12.5 µl de Master Mix y 2 µl de los OP (20 pmol de OP-F y OP-R cada uno) en 25 µl de volumen final. El segundo paso de la PCR se compuso de 5 µl de productos de la primera etapa de PCR, 25 µl de mezcla maestra y 4 µl de los IP (20 pmol de IP-F e IP-R cada uno) en 50 µl de volumen final. Se realizaron 35 ciclos en el primer paso, y cada ciclo se compuso de desnaturalización (95 °C durante 45 s), hibridación (55 °C durante 30 s) y extensión (72 °C durante 1 min). La

desnaturalización a 95 °C se realizó durante 5 minutos antes del primer ciclo y se realizó una extensión final de 10 minutos a 72 °C después del último ciclo. El segundo paso también fue de 35 ciclos. La desnaturalización y la extensión fueron las mismas que en el primer paso, pero la temperatura para la hibridación fue de 50 °C. Después de la PCR se analizaron 5 µl de producto de PCR mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% en tampón Tris-acetato-EDTA (TAE, pH 8.5), y luego se visualizó bajo luz ultravioleta en el analizador de imágenes (Alpha Innotech). El control negativo fue agua grado biología molecular y el control positivo fue la cepa de *T. vaginalis* aislada y cultivada en el medio.

### **PCR para la identificación de *Chlamydia trachomatis***

Para la detección de *C. trachomatis* se realizó una PCR dúplex que identifica dos blancos de esta bacteria: el gen ompA y el gen que amplifica una porción de la región orf 6 del plásmido. Para ello se emplearon los iniciadores reportados por Escobedo-Guerra et al.<sup>22</sup>. La mezcla de reacción para la PCR consistió en TaqPCR Master Mix Kit (Qiagen, Venlo, Países Bajos), 10 pM de cada iniciador y 5 µl de ADN. Para cada uno de los ensayos se utilizó como control positivo el ADN de cada una de las cepas de los microorganismos estudiados, y como control negativo el ADN de células HeLa. La amplificación se realizó en un termociclador PTC-100 (MJ Research Inc., Hercules, CA, EE.UU.) con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguida de 30 ciclos (95 °C por 45 s, 59 °C por 45 s y 72 °C por 1 min) y extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Los productos de la PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%.

### **Análisis estadístico**

Se llevó a cabo un análisis de conglomerados o clústeres de K-medias de casos. Se realizó un análisis factorial exploratorio (método de rotación varimax con normalización de Kaiser) para reducir la dimensionalidad de los datos empleando como variables las proporciones de bacilos grampositivos, bacilos curvos variables en la tinción de Gram, células epiteliales y células clave, y la puntuación de Nugent. Los factores obtenidos fueron considerados como vaginosis o sin vaginosis. Para la comparación de medias se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) univariada. Para los valores paramétricos se aplicó la prueba t de Student y

para las variables categóricas la prueba de  $\chi^2$ . Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ . Todos los análisis se realizaron en el programa SPSS para Windows versión 23.0 (IBM SPSS Statistics, IBM Corp.).

## **Resultados**

### **Frecuencia de los microorganismos identificados**

Se analizaron 460 muestras de pacientes con vaginitis. El rango de edad de las participantes fue de 14 a 56 años, con una media de 31.09 y una desviación estándar de 6.44. De las pacientes analizadas, 198 eran embarazadas, 251 eran infértiles y 11 estaban en la menopausia. En la **tabla 2** se muestra la frecuencia de los microorganismos identificados en las muestras endocervicales. El 43.5% de las muestras presentó infección mixta y el 56.5% infección por un solo microorganismo; con excepción de *T. vaginalis* y *C. trachomatis*, que en este estudio presentaron coinfección con otros microorganismos. La bacteria que se identificó con mayor frecuencia en las muestras vaginales en todas las pacientes fue *Ureaplasma urealyticum*, en el 78.9%, siendo las mujeres infértiles las que mostraron un porcentaje mayor de esta bacteria ( $\chi^2 = 13.74$ ;  $p = 0.001$ ). *Mycoplasma hominis* y *G. vaginalis* tuvieron prevalencias del 26.3 y del 17.8%, respectivamente, siendo mayor la proporción de ambas bacterias en las mujeres infértiles. La candidiasis vulvovaginal se presentó en el 15.6% de las pacientes, sin diferencia significativa entre embarazadas (51.4%) e infértiles (45.8%), y en coinfección de manera significativa con diversas bacterias ( $\chi^2 = 77.08$ ;  $p = 0.0001$ ). En cuanto a *Lactobacillus*, que se considera como biota normal, estuvo presente en el 14.1% de las pacientes, siendo mayor la frecuencia, pero no de manera significativa, en las mujeres infértiles.

Con menor frecuencia se identificaron *Mycoplasma genitalium* en el 3.6%, *C. trachomatis* en el 1.9% y *T. vaginalis* en el 1.5%. No hubo diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de microorganismos presentes en las muestras vaginales de mujeres embarazadas en comparación con mujeres infértiles, con excepción de *U. urealyticum*.

En cuanto a la puntuación de Nugent, el 8% de las pacientes tuvieron valores altos (7-10), siendo las mujeres infértiles (67.6%) las de mayor frecuencia en comparación con las mujeres embarazadas (32.4%); además, la infección mixta fue significativa en estas pacientes ( $\chi^2 = 55$ ;  $p = 0.0001$ ). Una puntuación

**Tabla 2.** Prevalencia de infección por diversos microorganismos en mujeres embarazadas, infértiles y con menopausia

Variables	n	Embarazadas	Infértiles	Menopausia	$\chi^2$	p	Infección mixta	Infección única	$\chi^2$	p
n		198 (43%)	251 (54.6%)	11 (2.4%)			200 (43.5%)	260 (56.5%)		
Edad promedio, años	460	29.9 ± 6.4*	32.5 ± 5.1*	49.6 ± 3.3*		0.0001*	31.6 ± 6.7	31.91 ± 6.2		NS
<i>Candida</i> spp., n (%)	72	37 (51.4)	33 (45.8)	2 (2.8)	2.63	NS	65 (32.5)	7 (2.7)	77.08	0.0001
<i>Trichomonas vaginalis</i> , n (%)	7	2 (28.6)	5 (71.4)	0 (0)	0.89	NS	7 (3.5)	0 (0)	9.24	0.003
<i>Gardnerella vaginalis</i> , n (%)	82	29 (35.4)	51 (62.2)	2 (2.4)	2.43	NS	72 (36)	10 (3.8)	79.79	0.0001
<i>Mycoplasma hominis</i> , n (%)	121	48 (39.7)	69 (57)	4 (3.3)	1.43	NS	114 (57)	7 (2.7)	169.74	0.0001
<i>Ureaplasma urealyticum</i> , n (%)	363	171 (47.1)	182 (50.1)	10 (2.8)	13.74	0.001	193 (96.5)	170 (65.4)	65.77	0.0001
<i>Mycoplasma genitalium</i> , n (%)	17	6 (35.3)	10 (58.8)	1 (5.9)	1.16	NS	16 (8)	1 (0.4)	17.05	0.0001
<i>Chlamydia trachomatis</i> , n (%)	9	6 (66.7)	3 (33.3)	0 (0)	2.16	NS	9 (4.5)	0 (0)	11.93	0.001
<i>Lactobacillus</i> , n (%)	65	20 (30.8)	44 (67.7)	1 (1.5)	1.09	NS	0 (0)	65 (25)	0.54	NS
Puntuación de Nugent, n (%)										
0	55	26 (47.3)	29 (52.7)	0	2	NS	14 (25.5)	41 (74.5)	55	0.0001
1-3	342	153 (44.7)	178 (52)	11 (3.21)	1.84	NS	139 (40.6)	203 (59.4)	4.61	0.036
4-6	26	7 (26.9)	19 (73.1)	0	3.03	NS	15 (57.7)	11 (42.3)	7.98	0.007
7-10	37	12 (32.4)	25 (67.6)	0	0.15	NS	32 (86.5)	5 (13.5)	32.95	0.0001

\*La significancia se obtuvo mediante prueba t de Student.  
NS: no significativo.

intermedia de Nugent (4-6) estuvo presente en el 5.7% de las pacientes, siendo las infértiles las de mayor frecuencia (73.1%), y al igual que para los valores altos, la infección mixta fue significativa en las mujeres con una puntuación intermedia de Nugent ( $\chi^2 = 7.98$ ;  $p = 0.007$ ). Las pacientes con valores de Nugent bajos (1-3) o con biota normal (0) fueron aquellas cuya infección no fue mixta y solo se identificó un microorganismo, siendo significativas en ambos casos ( $\chi^2 = 4.61$ ,  $p = 0.036$ , y  $\chi^2 = 55$ ,  $p \leq 0.0001$ , respectivamente).

### **Agrupación de los diferentes microorganismos en las pacientes con vaginosis**

En la [tabla 3](#) se muestran los resultados del análisis de componentes principales de las pacientes con vaginosis. Las variables que se consideraron en cada muestra fueron la proporción de bacterias totales, células epiteliales, células clave, bacilos grampositivos y bacilos cortos variables en la tinción de Gram, el puntaje total de Nugent y el nivel de Nugent (alto, medio, bajo o biota normal). De este análisis se obtuvieron dos componentes (1 y 2) que fueron utilizados para realizar la agrupación o conglomerados de los diferentes microorganismos presentes en las muestras vaginales de las pacientes con vaginosis.

El componente 1 estuvo fuertemente asociado con cargas altas de células clave (0.871), bacilos cortos variables en la tinción de Gram (0.885) y puntuación total de Nugent (0.978). En cuanto al componente 2, estuvo fuertemente asociado con la presencia de bacterias totales (0.836) y el nivel de Nugent alto (0.829). Las cargas altas de estas dos variables son indicativas de ausencia de vaginosis bacteriana y de un estado de salud vaginal aparentemente normal. El análisis de varianza (ANOVA) entre estos dos componentes (componente 1 con vaginosis y componente 2 sin vaginosis) mostró una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.0001$ ), lo que indica que las pacientes con vaginosis muestran diferentes proporciones de células clave, bacilos cortos variables en la tinción de Gram y puntuación total de Nugent, a diferencia de las pacientes sin vaginosis. El valor F fue considerablemente alto en ambos componentes (1493 y 916, respectivamente), lo que sugiere una fuerte relación entre las variables analizadas. La media cuadrática entre grupos fue mayor en el grupo con vaginosis (138.87) que en el grupo sin vaginosis (131.228), mientras que la media cuadrática dentro de los grupos fue menor en el grupo de vaginosis (0.093) que en el grupo sin vaginosis (0.143), lo que

**Tabla 3.** Análisis de componentes principales utilizando el método de rotación Varimax con normalización Kaiser

Variables	Componente*	
	1	2
Bacterias totales	-0.086	0.836
Células epiteliales	-0.687	0.202
Células clave	0.871	0.371
Bacilos grampositivos	-0.880	0.271
Puntuación de Nugent total	0.978	0.071
Nivel de los valores de Nugent	0.107	0.829
Bacilos Gram variables	0.885	0.407

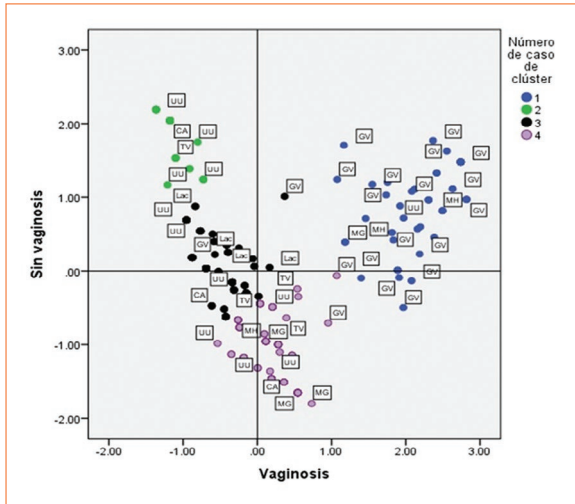
\*La rotación convergió en tres iteraciones.

**Tabla 4.** Valor del centro de cada clúster formado por los grupos con vaginosis y sin vaginosis mediante la prueba estadística K-medias

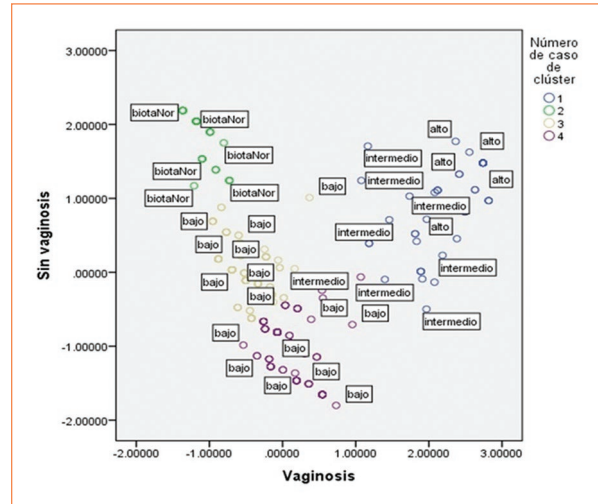
Grupo	Clústeres			
	1	2	3	4
Vaginosis	2.262	-1.118	-0.464	0.103
Sin vaginosis	0.977	1.875	-0.027	-1.018
n = 460	60	52	200	148

podría indicar una mayor variabilidad dentro del grupo sin vaginosis.

Por otro lado, se utilizaron ambos componentes para un análisis de conglomerados de K-medias, cuyos resultados se muestran en la [tabla 4](#) y la [figura 1](#). Esta figura representa un gráfico de dispersión con dos ejes: con vaginosis y sin vaginosis. Cada punto en el gráfico corresponde a más de un caso, y los clústeres fueron diferenciados por círculos en colores: azul (clúster 1), verde (clúster 2), negro (clúster 3) y morado (clúster 4). El clúster 1 estuvo formado por 60 muestras vaginales con una fuerte tendencia hacia la vaginosis bacteriana y con mayor número de muestras positivas para *G. vaginalis* y *M. hominis*, con un valor centro de 2.262 en el área de vaginosis bacteriana ([Tabla 4](#)). El clúster 2 (verde) estuvo formado por 52 muestras vaginales que se localizaron en el cuadrante superior izquierdo, con un valor de centro de -1.87 y una alta presencia de microorganismos que no causan vaginosis bacteriana, pero sí desarrollan vaginitis, tales como *Candida* spp. y *T. vaginalis*. Los miembros del clúster



**Figura 1.** Agrupamiento de muestras vaginales mediante el conglomerado de K-medias en función del microorganismo identificado. El clúster 1 estuvo formado por 60 muestras con presencia de *Gardnerella vaginalis* y *Mycoplasma hominis*. Los clústeres 2 a 4 estuvieron formados por 52, 200 y 148 muestras, respectivamente, y los microorganismos presentes en ellos fueron *Lactobacillus*, *Ureaplasma*, *Candida* y *Trichomonas*. *Mycoplasma genitalium* se observó con mayor frecuencia en el clúster 4.



**Figura 2.** Agrupamiento de muestras vaginales mediante el conglomerado de K-medias en función de la puntuación de Nugent. El clúster 1 estuvo formado por 60 muestras con puntuaciones de Nugent altas (7-10) e intermedias (4-6). El clúster 2 estuvo formado por 52 muestras con puntuación de Nugent 0, consideradas con biota normal, aunque hubo muestras con *Lactobacillus*, *Ureaplasma*, *Candida* y *Trichomonas*. El clúster 3 estuvo formado por 200 muestras con puntuaciones de Nugent bajas (1-3). El clúster 4 estuvo formado por 148 muestras con puntuaciones de Nugent bajas en mayor proporción y algunas con puntuaciones intermedias.

3, con 200 muestras vaginales, se agrupó principalmente cerca del origen y mostró microorganismos tanto causantes de vaginosis (*G. vaginalis* y *U. urealyticum*) como no causantes de vaginosis (*Lactobacillus* spp., *Candida* spp. y *T. vaginalis*), con valores de centro de  $-0.46$  y  $-0.027$ , respectivamente. El clúster 4 estuvo formado por 148 muestras vaginales que se localizaron en el cuadrante inferior derecho, con una alta presencia de bacterias causantes de vaginosis bacteriana (*G. vaginalis*, *M. hominis* y *U. urealyticum*) y una baja presencia de microorganismos no causantes de vaginosis bacteriana (*Candida* spp., *T. vaginalis* y *M. genitalium*), con valores de centro de  $0.103$  y  $-1.018$ , respectivamente (Tabla 4).

### Agrupación de Nugent en la identificación de vaginosis bacteriana

La figura 2 muestra la misma agrupación obtenida de los casos con vaginosis y sin vaginosis, pero etiquetados según los valores de Nugent en alto (7-10), intermedio (4-6), bajo (1-3) y biota normal (0). En el clúster 1 (azul), que fue definido como muestras de pacientes con vaginosis, los valores de Nugent fueron

de nivel intermedio y alto, mientras que en el clúster 2 las muestras son de biota normal y los clústeres 3 y 4 muestran valores de Nugent bajos en su mayoría. Sin embargo, cabe señalar que en el clúster 4 hay muestras de pacientes con vaginosis.

### Discusión

El microbiota vaginal desempeña un papel crucial en la salud de la mujer. Es complejo y dinámico, pero el 70% de él está formado principalmente por *Lactobacillus* spp. No obstante, su presencia puede modificarse a lo largo de la vida en función de la edad, los niveles de estrógenos, las prácticas sexuales y el medio ambiente<sup>3,23</sup>. Las infecciones vaginales por bacterias, hongos y virus pueden alterar la concentración de *Lactobacillus* y causar una inflamación vaginal, a la cual se denomina vaginitis, aunque esta también puede presentarse por cambios hormonales, irritantes químicos o incluso ciertos productos de higiene femenina<sup>3,23</sup>.

En este estudio, las causas de vaginitis fueron candidiasis vulvovaginal en el 15.7%, seguida de vaginosis

bacteriana en el 13.0% (con valores de Nugent altos e intermedios 60/460), tricomoniasis en el 1.5% y sin evidencia de infección en el 12% (*Lactobacillus* positivos y puntuación de Nugent 0). Los porcentajes de candidiasis vulvovaginal, vaginosis bacteriana y tricomoniasis encontrados en este estudio fueron similares a los reportados en otros países<sup>2-8</sup>. En cuanto a las pacientes sin evidencia de infección y que mostraron datos clínicos de vaginitis, podría deberse a una infección por bacterias que no fueron identificadas en este estudio, como *F. vaginae*, *Prevotella* spp., *Sneathia*, *Megasphaera* spp., *Mobiluncus* spp. y *Leptotrichia* spp. (solo por mencionar algunas), y que pueden desarrollar vaginosis bacteriana<sup>19,23</sup>, lo que sería una debilidad de este trabajo. Sin embargo, también podría deberse a otras causas como cambios hormonales o el uso de productos de higiene femeninos, como se mencionó anteriormente, y ser la causa principal del padecimiento, ya que estas pacientes tuvieron una microbiota principal de *Lactobacillus* y sin alteración en la puntuación de Nugent.

Para el diagnóstico de vaginosis bacteriana se utilizan dos estrategias de laboratorio: los criterios de Amsel y la puntuación de Nugent<sup>1,16,18</sup>. La OMS ha considerado a la puntuación de Nugent como el método de referencia para la identificación de vaginosis bacteriana<sup>1,3</sup>. A pesar de lo anterior, la escala de Nugent tiene algunas desventajas. La identificación de los morfotipos es subjetiva y depende del técnico, por lo que el diagnóstico puede verse influenciado por las habilidades y la experiencia del profesional que hace la revisión del frotis con la tinción de Gram<sup>24-26</sup>.

Una puntuación de Nugent entre 7 y 10 (alta) corresponde a una progresión de la disbiosis vaginal y a una disminución de la población de *Lactobacillus*<sup>16,27</sup>. Una puntuación intermedia, entre 4 y 6, indica propensión a progresar hacia la etapa de vaginosis bacteriana positiva, pero no se considera disbiosis vaginal ni una susceptibilidad mayor para adquirir infecciones de transmisión sexual<sup>16,26</sup>. De hecho, la biota intermedia es hasta ahora una categoría no caracterizada y representa un desafío en el diagnóstico de vaginosis bacteriana. En algunos estudios internacionales se menciona una proporción de muestras con categoría intermedia de Nugent entre el 5 y el 34%<sup>26,28-31</sup>. En esta investigación, el 5.7% (26/460) de las muestras tuvo una categoría intermedia, por lo que es un porcentaje similar a lo reportado por otros autores.

Para dilucidar la importancia que puede tener la puntuación de Nugent intermedia se llevó a cabo un análisis de componentes principales y un agrupamiento por el método K-medias. El análisis de componentes principales consistió en evaluar las observaciones microscópicas del frotis teñido con Gram y del frotis en fresco, mostrando que las variables más significativas fueron las proporciones de bacilos cortos variables en la tinción de Gram y de células clave para hacer un diagnóstico de vaginosis bacteriana, mientras que una alta proporción de bacterias totales y una puntuación de Nugent de 0 indican la no presencia de vaginosis y una microbiota saludable.

En cuanto a la agrupación de las poblaciones mediante el análisis de conglomerados de K-medias, aportó una visión detallada de las diferencias entre las condiciones con vaginosis bacteriana y sin vaginosis bacteriana. De este análisis se obtuvieron cuatro grupos distintos cuyos centros de clúster mostraron diferentes patrones para cada condición, y es interesante ver que en el clúster 1 se agruparon las muestras con una puntuación alta e intermedia de Nugent, y se identificaron las muestras positivas a *G. vaginalis* y *M. hominis*, sugiriendo que es la población con vaginosis bacteriana. También es importante señalar que el clúster 4 mostró una distribución de pacientes tanto en el cuadrante de vaginosis como en el cuadrante sin vaginosis. Los microorganismos identificados en el clúster 4 fueron *Trichomonas*, *Candida*, *Ureaplasma*, *M. hominis*, *M. genitalium* y *Gardnerella*, lo que sugiere que estos microorganismos no influyeron en la puntuación de Nugent, pero que al parecer se está iniciando el desarrollo de una vaginosis bacteriana o que una población de microorganismos diferente de la analizada en este estudio, como *F. vaginae* o *Prevotella* spp., está desarrollando una vaginosis bacteriana.

Se considera que un microbiota intermedio implica un microbiota heterogéneo que incluye tanto vaginosis bacteriana como microbiota normal<sup>16,27</sup>. Se ha reportado que las pacientes que muestran un microbiota intermedio tienen un perfil similar a vaginosis bacteriana cuando son evaluadas mediante PCR de tiempo real<sup>23,27</sup>. Otra propuesta es que el microbiota intermedio se debe a una vaginosis aeróbica causada por especies de *Escherichia*, *Enterococcus*, *Staphylococcus* y *Streptococcus*, además de microorganismos causantes de infecciones de transmisión sexual como *T. vaginalis* y *U. urealyticum*<sup>27</sup>. En esta investigación no se evidenció la presencia de microorganismos

causantes de vaginosis aeróbica, a excepción de *U. urealyticum* y *T. vaginalis*. En el 65.2% (15/23) de las muestras con biota intermedia se encontró *U. urealyticum*, bacteria que podría ser la causante de esta puntuación de Nugent. El análisis estadístico mostró que el 57.7% de las pacientes con una puntuación intermedia de Nugent presentó infección mixta, y solo el 42.3% presentó infección por un solo patógeno.

En el clúster 4 se observa la participación de microorganismos asociados a vaginosis aeróbica, como *Trichomonas*, *Candida*, *Ureaplasma*, *M. hominis* y *M. genitalium*, tal como han descrito otros autores<sup>16,24,27</sup>.

Finalmente, en este estudio se muestra la importancia de considerar la heterogeneidad de los datos al evaluar la vaginosis bacteriana, y se sugiere que puede haber subtipos de la condición que requieran un enfoque más específico.

## Conclusiones

En las pacientes con una puntuación de Nugent de 4 a 6 (intermedia) debe considerarse que tienen una vaginosis bacteriana.

## Financiamiento

El estudio fue realizado con el financiamiento de los protocolos con ID número 2022-1-16 y 2022-1-19 del INPerIER.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Consideraciones éticas

**Protección de personas y animales.** Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki. Los procedimientos fueron autorizados por el Comité de Ética de la institución.

**Confidencialidad, consentimiento informado y aprobación ética.** Los autores han seguido los protocolos de confidencialidad de su institución, han obtenido el consentimiento informado de las pacientes, y cuentan con la aprobación del Comité de Ética. Se han

seguido las recomendaciones de las guías SAGER, según la naturaleza del estudio.

**Declaración sobre el uso de inteligencia artificial.** Los autores declaran que no utilizaron algún tipo de inteligencia artificial generativa para la redacción de este manuscrito.

## Referencias

1. Elvy J, Carter K, Paterson J, Smith M, Parslow G, Ussher JE. Clinical laboratory evaluation of the Hologic Panther Aptima BV and CV/TV assays for the diagnosis of vaginitis in Dunedin, Aotearoa New Zealand. *Microbiol Spectr*. 2025;13:e0127424.
2. García AL, Jesús de la Calle I, Román EM, Aznar MP, Rodríguez IM. Diagnóstico de vaginitis-vaginosis mediante hibridación con sondas de ADN. *Ginecol Obstet Mex*. 2013;81:195-200.
3. Abou CL, Fenollar F, Diop K. Bacterial vaginosis: what do we currently know? *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;11:672429.
4. Kenyon CR, Osbak K. Recent progress in understanding the epidemiology of bacterial vaginosis. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2014;26:448545.
5. Mohamed AO, Mohamed MS, Mallhi TH, Hussain HA, Jalloh MA, Omar KA, et al. Prevalence of vulvovaginal candidiasis among pregnant women in Africa: a systematic review and meta-analysis. *J Infect Dev Ctries*. 2022;16:1243-51.
6. Rivera SR, Flores PR, Arriaga AM. Identificación de especies de *Candida* causantes de vaginitis en la población mexicana. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2006;24:634-6.
7. Pineda DJ, Gómez MY, Xoconostle CB, García MJ. Detección de *Candida glabrata* en mujeres mexicanas sanas y con candidiasis vulvovaginal recurrente. *Ginecol Obstet Mex*. 2017;85:71-9.
8. Van Gerwen OT, Opsteen SA, Graves KJ, Muzny CA. Trichomoniasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2023;37:245-65.
9. Organización Mundial de la Salud. Infecciones de transmisión sexual (ITS). OMS; 2024. (Consultado el 22-11-2025.) Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)).
10. Harfouche M, Gherbi WS, Alareeki A, Alaama AS, Hermez JG, Smolak A, et al. Epidemiology of *Trichomonas vaginalis* infection in the Middle East and North Africa: systematic review, meta-analyses, and meta-regressions. *EBioMedicine*. 2024;106:105250.
11. Perry MD, Jones S, Bertram A, de Salazar A, Barrientos DA, Schietekatte G, et al. The prevalence of *Mycoplasma genitalium* (MG) and *Trichomonas vaginalis* (TV) at testing centers in Belgium, Germany, Spain, and the UK using the cobas TV/MG molecular assay. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2023;42:43-52.
12. Pereyre S, Laurier NC, Bébéar C. *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* in France: a point prevalence study in people screened for sexually transmitted diseases. *Clin Microbiol Infect*. 2017;23:122.e121-7.
13. Hernández RF, Rey BM, Conejo SU, Orozco HE, Maza SL, Navarro VE, et al. Monitoring sexually transmitted infections in cervicovaginal exfoliative samples in Mexican women. *Pathogens*. 2021;10:1618.
14. Casillas VN, Morfín OR, García S, Llaca DJ, Rodríguez NE, Camacho OA, et al. Sexually transmitted pathogens, coinfections and risk factors in patients attending obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico. *Salud Publica Mex*. 2016;58:437-45.
15. López Hurtado M, Guerra Infante FM, Cerano Fuentes JL. Detección molecular de doce patógenos de transmisión sexual en un hospital de tercer nivel en la Ciudad de México. *Enferm Infecc Microbiol*. 2025;45:7-17.
16. Savicheva AM. Molecular testing for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Int J Mol Sci*. 2023;25:449.
17. Uma S, Balakrishnan P, Murugavel KG, Srikrishnan AK, Kumarasamy N, Cecelia JA, et al. Bacterial vaginosis in female sex workers in Chennai, India. *Sex Health*. 2005;2:261-2.
18. Sethi S, Kanaujia R, Yadav R, Sharma N, Dadwal R, Chaudary H, et al. Association of intermediate Nugent Score and bacterial vaginosis with sexually transmitted infections and vulvovaginal candidiasis. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2024;90:296-301.
19. González-Mustri KV, Guerra-Infante FM, Villeda-Rangel G, López-Hurtado M. Frecuencia y detección molecular de *Gardnerella vaginalis* en una institución de tercer nivel. *Perinatol Reprod Hum*. 2023;37:91-8.
20. Pillay K, Nzimande S, Naicker M, Ramsuran V, Tinarwo P, Abbai N. Prevalence of genotypes and subtypes of *Gardnerella vaginalis* in South African pregnant women. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2020;2020:3176407.

21. Crucitti T, Abdellati S, Van DE, Buvé A. Molecular typing of the actin gene of *Trichomonas vaginalis* isolates by PCR-restriction fragment length polymorphism. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14:844-52.
22. Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Gutiérrez-Trujillo R, Bustos-López AD, Guerra-Infante FM. PCR múltiplex para el diagnóstico de microorganismos atípicos transmitidos sexualmente. *Perinatol Reprod Hum.* 2023;37:108-14.
23. Deng T, Shang A, Zheng Y, Zhang L, Sun H, Wang W. Log (*Lactobacillus crispatus*/*Gardnerella vaginalis*): a new indicator of diagnosing bacterial vaginosis. *Bioengineered.* 2022;13:2981-91.
24. Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult D. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis.* 2008;47:33-43.
25. Antonucci F, Miranda W, Fontana C, Fontana C. Comparison between Nugent's and Hay/Ison scoring criteria for the diagnosis of bacterial vaginosis in WASP prepared vaginal samples. *Clin Investig (Lond.).* 2017;7:89-93.
26. Mohanty S, Sood S, Kapil A, Mittal S. Interobserver variation in the interpretation of Nugent scoring method for diagnosis of bacterial vaginosis. *Indian J Med Res.* 2010;131:88-91.
27. Campisciano G, Zanotta N, Petix V, Giangreco M, Ricci G, Maso G, et al. Vaginal dysbiosis and partial bacterial vaginosis: the interpretation of the "grey zones" of clinical practice. *Diagnostics.* 2021; 11:191.
28. Obata YM, Ba TW, Hamada H, Hayashi H. A multiplex polymerase chain reaction-based diagnostic method for bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 2002;100:759-64.
29. Madhivanan P, Krupp K, Chandrasekaran V, Karat C, Arun A, Cohen CR, et al. Prevalence and correlates of bacterial vaginosis among young women of reproductive age in Mysore, India. *Indian J Med Microbiol.* 2008;26:132-7.
30. Bansal R, Garg P, Garg A. Comparison of Amsel's criteria and Nugent's criteria for diagnosis of bacterial vaginosis in tertiary care centre. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol.* 2019;8: 637-40.
31. Mala R, Malhotra S, Singh N, Gupta S, Upadhyay DA, Kapil A, et al. Deciphering intermediate Nugent scores: utility of real-time PCR for bacterial vaginosis diagnosis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024; 108:116152.