

Bioquímia

Volumen 27
Volume

Número 3
Number

Septiembre 2002
September

Artículo:

Detección de *Actinomyces spp* de muestras cérvico-vaginales de mujeres con y sin dispositivo intrauterino

Derechos reservados, Copyright © 2002:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Edigraphic.com

BACTERIOLOGÍA

Detección de *Actinomyces spp* de muestras cérvico-vaginales de mujeres con y sin dispositivo intrauterino

Elsa García-Cano Ramos^{1*}, Adela Camargo-Velasco¹, Armando Carrera-Terrazas¹, Norma Adriana Galán-Gutiérrez¹, Víctor Núñez Rasilla², Ma. Luisa Rojas Castañeda³

¹ Dpto. de Microbiología, ENCB-IPN. Carpio y Plan de Ayala s/n. Col. Sto. Tomás. México, D.F. 11340. (¹ Becario de COFAA).

² Laboratorios Clínicos de Puebla, Puebla, Pue., ³ Laboratorio de la Unidad de Medicina Familiar No. 61, Estado de México.

*Sobretiros: Privada de Tihuatlán No. 2, San Jerónimo Aculco, 10400 México, D.F. Tel. 5729 63 00

Recibido: 10/06/2002 Aceptado: 29/08/2002

Resumen

Introducción: Las alteraciones al ecosistema vaginal pueden ser ocasionadas por el uso de anticonceptivos, pero sobre todo por los anticonceptivos de barrera: diafragma y dispositivo intrauterino (DIU) en particular éste, porque favorece las infecciones ascendentes.

Se aislaron e identificaron *Actinomyces spp.* y otros microorganismos de la secreción cérvico-vaginal de mujeres que usan dispositivo intrauterino y se correlacionaron con lo observado en los extendidos teñidos por el método de Papanicolaou.

Material y métodos: Las mujeres con DIU fueron 106 y 94 no lo usaron. La secreción para buscar *Actinomyces spp* y otros anaerobios obligados se sembró de inmediato en los medios respectivos. Se tomaron muestras endocervicales, para el estudio de *Neisseria*, *Chlamydia*, *Trichomonas*, *Mycoplasma*, y *Ureaplasma*. Se exfoliaron células del cuello uterino y realizaron Papanicolaou y Gram.

Resultados: *Actinomyces israelii* se aisló en el 9.7% de las pacientes con DIU, éstas refirieron infecciones recientes y otras crónicas. *A. naeslundii* cuatro casos y *A. odontolyticus* uno. Los granos de *Actinomyces* en los extendidos teñidos por Papanicolaou y su correlación con el cultivo fue de 50%. La flora bacteriana asociada fue diversa y muy compleja. No se aisló *Neisseria gonorrhoeae*.

Conclusiones: En las 94 mujeres sin DIU no se encontró *Actinomyces spp.* y los anaerobios obligados predominaron en las que usaron el DIU.

Palabras clave: detección de *Actinomyces spp.*, dispositivo intrauterino, correlación cultivo/Papanicolaou.

Abstract

Introduction: Alteration of the vaginal ecosystem can be provoked by the use of barrier contraceptives. Diaphragm and intrauterine device (IUD) can worsen this condition. The latter in particular, contributes to an increase in infections. To isolate and identify *Actinomyces spp* and other microorganisms from cervico-vaginal secretions of women who have been using IUD and correlating the findings of *Actinomyces* with the Papanicolaou stain.

Material and methods: One-hundred and six women were using an IUD and 94 were not. The sample in which *Actinomyces spp* and other obligated anaerobes were looked for was immediately cultured in appropriate media. Endocervical samples were taken in order to perform a microbiological study of *Neisseria*, *Chlamydia*, *Trichomonas*, *Mycoplasma* and *Ureaplasma*. Cells from the uterine cervix were exfoliated in order to have Pap and Gram steins made.

Results: *Actinomyces israelii* was isolated in 9.7% of all the studied patients who had IUD. Moreover, *A. naeslundii* was isolated in four cases and *A. odontolyticus* in one. The microbiological studies and the discovery of actinomycotic granules by the Pap stain produced a correlation culture/Pap stain of 50%. Associated bacterial flora was diverse; *Neisseria gonorrhoeae* culture was negative.

Conclusions: *Actinomyces* was not isolated in any of the samples from the 94 IUD non-user women. Anaerobic bacteria colonization was superior in women who were using the IUD as their contraceptive method of choice.

Key wods: *Actinomyces spp.* detection, intrauterine device, culture/Pap stain correlation.

Introducción

La presencia de numerosas bacterias saprofítas en la vagina, puede explicarse por mecanismos espontáneos procedentes del periné y márgenes del ano o por traumatismos locales que alteran con mayor facilidad el hábitat "normal" (embarazos, partos, cambios hormonales, etc.). La selección de las especies microbianas que pueden estar albergadas en este sitio está condicionada por diversos factores; entre éstos destacan las características anatómicas y

funcionales en la especie humana en particular la posición erecta, (que favorece el drenaje) la ausencia de estro, la actividad sexual y el ciclo menstrual.^{1, 2}

Otra causa de alteraciones a este ecosistema puede ser determinada por el uso de anticonceptivos sobre todo por los anticonceptivos de barrera: diafragma y dispositivo intrauterino (DIU) en particular éste, porque favorece las infecciones ascendentes; también los tratamientos de larga duración con antibióticos de amplio espectro que alteran la acción protectora de los lactobacilos,

favoreciendo el crecimiento de otras bacterias y de *Candida albicans*. La diabetes puede modificar la flora de esta región y predisponer a la candidiasis, además el empleo de tampones endovaginales durante la menstruación puede provocar la producción de ulceraciones vaginales y del síndrome de choque tóxico, debido a toxinas elaboradas por cepas de *Staphylococcus aureus* que colonizan el tampón, que ha sido insertado a través de la mucosa vaginal intacta o con microulceraciones hacia el canal endocervical. Por último el uso de espermicidas, lavados con soluciones desinfectantes y de ropa íntima muy ceñida o poco permeable pueden inducir alteraciones del ecosistema vaginal.^{1,3,4}

Las infecciones del aparato genital femenino son la causa principal de consulta ginecológica que tienen como sintomatología prurito, dolor abdominal y signos entre los que destacan flujo abundante, sangrado irregular entre otros. Estas infecciones son causadas por diversos agentes etiológicos: bacterias, hongos, virus y parásitos.^{4,5,6} Muchas especies de bacterias anaerobias son capaces de producir enfermedad en el hombre, entre ellas se incluyen a los actinomicetos; la mayoría de ellos forman parte de la flora "normal" de la cavidad bucal y de las criptas amigdalinas, también se aíslan del aparato genital femenino. Es probable que no causen enfermedad a menos que se acompañen de algún traumatismo del tejido o infección polimicrobiana en donde participen en forma sinérgica otras bacterias, encontrándose *Bacteroides Fusobacterium*, *Peptostreptococcus*, *Mobiluncus*, *Prevotella*, *Clostridium*, etc. Existen informes sobre la frecuencia de una nueva forma de actinomicosis causada por el género *Actinomyces* en regiones poco usuales, como la actinomicosis pélvico-uterina relacionada con el dispositivo intrauterino; Luff y col.(1978)⁷ reportaron la presencia de actinomicetos en frotis cervico-vaginales. Así mismo lo hicieron Gupta y col (1976) ⁸y Gupta (1982),⁹ de la misma forma, Fiorino AS (1996)¹⁰ resume los casos clínicos y el tratamiento de los abscesos pélvicos actinomicóticos que ocurrieron en mujeres usuarias del DIU. Además revisa la detección de *Actinomyces* de frotos cérvico-vaginales

Es controvertido el mecanismo de entrada en la cavidad endometrial de *Actinomyces*, se considera que predispone a la instalación de esta bacteria el contacto bucogenital y se acepta como probable la vía ascendente y el coito. La presencia de *Actinomyces spp.* en el endometrio se asocia a abundante flora polimicrobiana que incluye diferentes géneros entre ellos: *Bacteroides*, *Arachnia* (actualmente *Propionibacterium*), *Fusobacterium*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacterias*, *Gardnerella vaginalis*, etc.^{1,4,6,9,11-15}

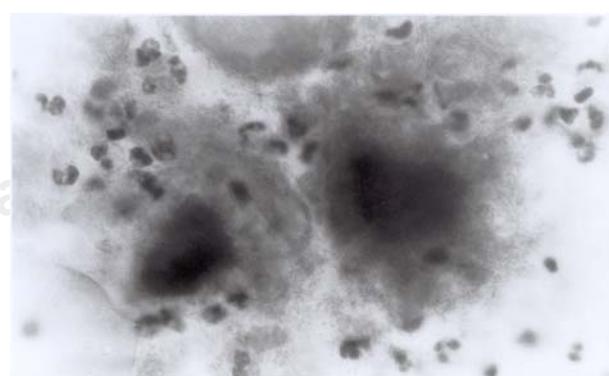
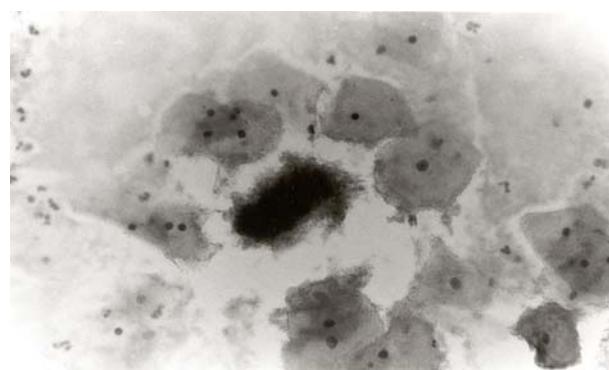
Cuando en un extendido cérvico-vaginal teñido con Gram o Papanicolaou se observan estructuras semejantes a *Actinomyces spp.*, es difícil asegurar que se trata de esta bacteria ya que otros

microorganismos pueden presentar agrupaciones similares, por ello se recomienda hacer el cultivo para demostrar su presencia.

Los actinomicetos se parecen a los hongos porque presentan filamentos en los tejidos y en los cultivos; cuando se tiñen con el Gram se observan como si fueran bacilos difteroides, miden de 0.5 a 0.8 micras con ramificaciones dicotómicas, frecuentemente presentan formas en T, Y y V. Figura A.



Sus agrupaciones forman clavas que se incluyen en un grano llamado comúnmente "grano de azufre" éste es pequeño, lobulado, blanco o blanco amarillento, sus medidas varían entre tres y 30 micras y cuando se unen se pueden observar macroscópicamente.¹⁶ Figuras. B y C.



El objetivo de este trabajo fue aislar e identificar *Actinomyces spp.* y otros microorganismos de la secreción cérvico-vaginal de mujeres que usan dispositivo intrauterino así mismo, correlacionar esos hallazgos con lo observado en los extendidos teñidos con el método de Papanicolaou.

Material y métodos

Cepas de anaerobios utilizadas para el control de calidad de los medios de cultivo y de las bacterias identificadas.

Actinomyces israelii CDC W 388

Prevotella intermedia ATCC 25611

Porphyromonas endodontalis ATCC 35046

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277

Bacteroides fragilis WTCC 9343

Bacteroides vulgatus 19461

Candida albicans ATCC 10232 (cepa testigo para el estudio de *Candida spp.*).

Se estudiaron un total de 200 mujeres, de éstas 125 acudieron a la "Clínica Churubusco de Especialidades y Cirugía Simplificada" del ISSSTE, para su prueba de detección oportuna de cáncer (se les pidió su consentimiento para participar en el estudio que aquí se presenta). Algunas Tenían diagnóstico clínico de vaginosis bacteriana y otras no refirieron datos al respecto. Las 75 restantes procedieron de la clínica 61 del IMSS, de Naucalpan, Estado de México.

Las mujeres con dispositivo intrauterino fueron 106 y 94 no lo usaban. Se excluyeron a las que estaban menstruando al momento de la toma, a las que no habían tenido abstinencia sexual de 72 horas y aquellas que se habían practicado ducha vaginal o tratamiento antimicrobiano en los últimos siete días.

Para la toma de secreción se insertó el espejo (estéril), de preferencia desechable, no se aplicó lubricante. Localizado el cuello uterino se determinaron las características físico-químicas de la secreción y ésta se tomó del fondo del saco posterior con hisopo estéril y se determinó el pH, se realizó examen en fresco, tinción de Gram, prueba de aminas (KOH al 10%) y cultivos aeróbico y microaerofílico.^{3,17} La secreción para la búsqueda de *Actinomyces spp.* y otros anaerobios obligados se sembró de inmediato en los medios respectivos, e incubaron a 35-37°C de 48 a 72h en el sistema generador de anaerobiosis (GasPak). En algunas ocasiones la incubación se prolongó a siete días. Además se tomaron las muestras endocervicales, para el estudio microbiológico de *Neisseria*

gonorrhoeae, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*.^{7,18,19,20,21,22,23}

Para detectar *Actinomyces* se exfoliaron células del cuello uterino y se realizaron las tinciones de Papanicolaou, Gram (flora cocoide, bacilar o mixta) en algunos casos Gram modificado (Kopeloff) para la observación de bacilos curvos Gram negativos asociados con vaginosis bacteriana (VB).^{19,24-26}

Ya confirmado que las cepas eran anaerobias obligadas se precedió a identificarlas en forma presuntiva (discos con antimicrobianos) y confirmatoria.^{19,20} Esta se llevó a cabo con el sistema API20A, (bioMérieux);³⁴ así mismo, se confirmó la identificación microbiana anterior con la metodología convencional, que utiliza pruebas diferenciales de fermentación de carbohidratos en tubo.^{17,29,30} Además de otras pruebas enzimáticas. (nitrato reductasa, hidrólisis de la esculina etc). A las levaduras se les hicieron varias determinaciones: morfología colonial, aspecto, forma textura, color, emisión de tubo germinativo, producción de cladioconidios, todas éstas se corrieron simultáneamente con la cepa tipo de *C. albicans*. La identificación de las cepas se realizó en el sistema API20C, (bioMérieux) que contiene las pruebas de asimilación de carbohidratos.^{7,28,33} Para *Chlamydia trachomatis* la observación de cuerpos elementales en el epitelio columnar de transición se llevó a cabo a partir del extendido de la secreción del canal endocervical, fijado inmediatamente con acetona y teñido con el reactivo Syva Microtrack (Behring diagnostic).^{6,12}

Mycoplasma hominis y *Ureaplasma urealyticum*, se hizo limpieza cuidadosa del exocuello para evitar contaminaciones y la muestra se tomó con un hisopo de dacrón o un "citobrush" del canal endocervical, rápidamente se colocó en el tubo que contenía caldo urea arginina (Kit Mycoplasma-Lyo® bio Mérieux) y se continuó como lo indica el instructivo.^{17,31}

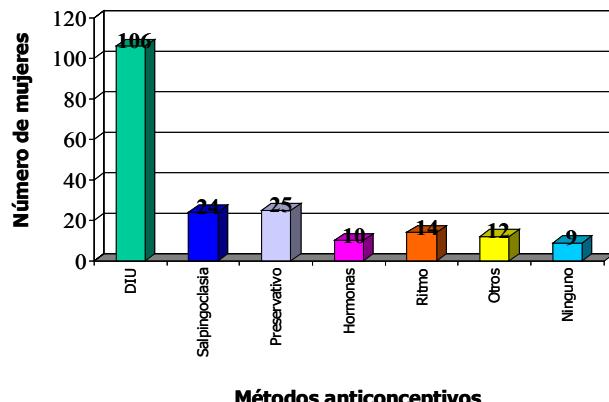
Resultados

De las 200 pacientes estudiadas, 15 de ellas tenían diagnóstico ginecológico de vaginosis bacteriana, 160 presentaron sintomatología pero sin diagnóstico específico y el resto no refirieron síntomas.

Del total de mujeres, 106 emplearon dispositivo intrauterino como método anticonceptivo y 94 usaron otros métodos. Figura 1.

Con respecto a los hallazgos microbiológicos, se aislaron e identificaron un total de 525 cepas en ambos grupos de mujeres. De éstas, 220 correspondieron a microorganismos anaerobios facultativos y/o microaerofílicos, 305 bacterias anaerobias

obligadas, 39 presentaron levaduras del género *Candida*, *Mycoplasma hominis* se encontró en 18 casos, *Ureaplasma urealyticum* 17, *Trichomonas vaginalis* cuatro y *Chlamydia trachomatis* se detectó en 18 mujeres. Figura 2.



Métodos anticonceptivos

Figura 1. Diferentes métodos anticonceptivos que emplearon las 200 mujeres estudiadas.

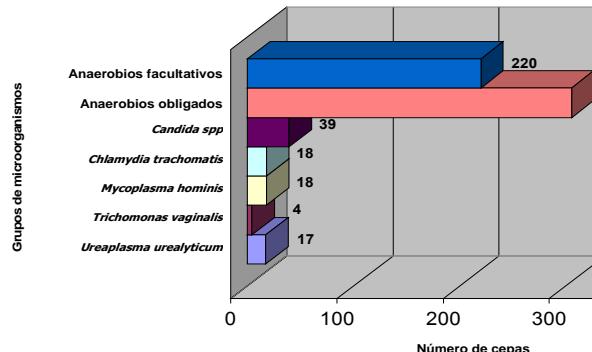


Figura 2. Hallazgos microbiológicos encontrados en las secreciones cervico-vaginales en las 200 mujeres estudiadas.

Las bacterias Gram positivas anaerobias facultativas se encontraron en el 41.0% de mujeres con DIU y en menor proporción (16.7%) en las no usuarias de DIU. Se identificaron: *Lactobacillus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* y *Enterococcus spp.*

En cuanto a las bacterias anaerobias Gram positivas (41.4%) los géneros involucrados fueron: *Actinomyces spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Sarcina spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, (se aisló con mayor frecuencia) *Peptococcus spp* y *Lactobacillus spp.*. Figura 3.

Las bacterias Gram negativas facultativas, se presentaron en menor proporción y se identificaron cuatro géneros de la familia *Enterobacteriaceae*, que correspondieron a 25 cepas y las bacterias anaerobias obligadas más frecuentemente aisladas fueron: *Bacteroides fragilis*, *B. vulgaris*, *B. spp.*, *Prevotella melaninogenica*, *Fusobacterium nucleatum*, *Mobiluncus spp.* y *Veillonella parvula*. Figura 4.

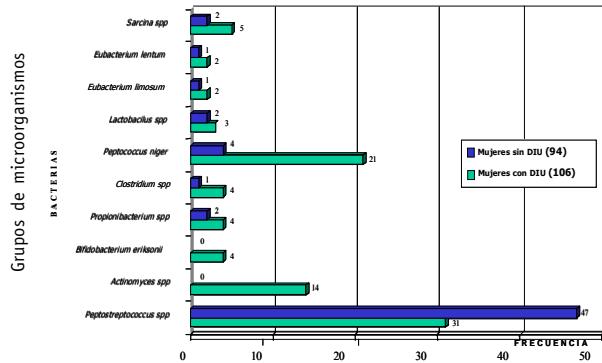


Figura 3. Bacterias gram positivas anaerobias obligadas en 200 mujeres.

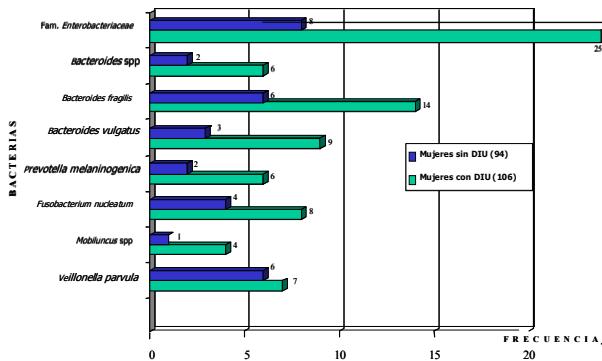


Figura 4. Frecuencia de bacterias gram negativas anaerobias facultativas y obligadas en 200 mujeres.

La edad de las pacientes estuvo comprendida entre 25 y 50 años, el pH de las secreciones cérvico-vaginales de estas mujeres fue entre 5-9 y en determinadas ocasiones hubo desprendimiento de aminas cuando se agregaron unas gotas de KOH al 10%. En el frote teñido por Gram se observaron células epiteliales con abundantes cocobacilos conocidas como "células clave", flora cocoide principalmente ausencia de morfotipos relacionados con lactobacilos, además hubo carencia de células inflamatorias (excepto en un caso donde simultáneamente se aisló *Gardnerella vaginalis* y *Chlamydia trachomatis*).

En los casos de VB se presentó un incremento notable de los microorganismos anaerobios obligados, en comparación con los microorganismos anaerobios facultativos y/o microaerofílicos. Las bacterias anaerobias presentes en el síndrome anterior fueron: *Peptostreptococcus spp.*, *Peptococcus niger*, *Bifidobacterium eriksonii*, *Clostridium spp.*, *Actinomyces israelii*, (en un sólo caso) *Prevotella melaninogenica*, *Mobiluncus spp.* y *Veillonella parvula*. En menor proporción se encontró *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Mycoplasma hominis* y en ningún caso se encontró el género *Candida*.

Lactobacillus spp. se aisló en II3 (56.5%), mujeres con y sin DIU y la flora bacteriana asociada fue diversa y muy compleja, inclusive el pH de las secreciones cérvico-vaginales varió entre 4 y 9.

Cuadro 1. Datos de las 106 mujeres con dispositivo intrauterino en las que se encontró *Actinomyces* y flora asociada.

Cepa	Edad Años	Sintomatología e infecciones recurrentes	Microorganismos asociados	Tiempo de uso del DIU
<i>Actinomyces israelii</i>	30	Dismenorrea. Metrorragia Dolor al coito. Prurito	<i>Peptococcus niger</i> <i>Bacteroides fragilis</i> No se aisló <i>Lactobacillus</i>	8 años
<i>Actinomyces israelii</i>	25	Dismenorrea Flujo con sangre	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Peptococcus niger</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Propionibacterium acnes</i> No se aisló <i>Lactobacillus</i>	8 años
<i>Actinomyces israelii</i>	34	Dismenorrea Flujo con sangre	<i>Candida albicans</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	3 años
<i>Actinomyces israelii</i>	47	Dismenorrea. Metrorragia Flujo con sangre. Dolor y sangrado al coito	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Peptostreptococcus intermedius</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	10 años
<i>Actinomyces israelii</i>	29	Prurito intenso Dolor al coito	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Staphylococcus agalactiae</i> <i>Peptostreptococcus intermedius</i> No se aisló <i>Lactobacillus</i>	5 años
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	45	Ninguna	<i>Enterococcus spp.</i> <i>Staphylococcus coag. Neg.</i> <i>Lactobacillus spp.</i>	9 años
<i>Actinomyces israelii</i>	43	Dismenorrea. Prurito	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Peptococcus niger</i>	7 años
<i>Actinomyces israelii</i>	38	Dolor al coito Flujo con sangre	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> <i>Bacteroides fragilis</i>	6 años
<i>Actinomyces israelii</i>	35	Dismenorrea. Abundante flujo Sangrado irregular	<i>Peptococcus niger</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Streptococcus agalactiae</i>	9 años
<i>Actinomyces israelii</i>	40	Dolor al coito Prurito	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus agalactiae</i>	5 años
<i>Actinomyces naeslundii</i>	50	Abundante flujo. Prurito	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> <i>P. prevotti</i> <i>Escherichia coli</i>	10 años
<i>Actinomyces naeslundii</i>	41	Dismenorrea. Prurito.	<i>Bacteroides fragilis</i> <i>Clostridium perfringens</i> <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	9 años
<i>Actinomyces naeslundii</i>	39	Ninguna	<i>Lactobacillus spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides spp.</i>	5 años
<i>Actinomyces naeslundii</i>	42	Dolor sangrado al coito	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Peptococcus niger</i>	7 años

Las levaduras identificadas correspondieron en mayor proporción a *Candida albicans* (14 casos) *Candida spp.* (ocho casos) de estas 22 mujeres, 12 usaron DIU. Se observó en la tinción de Gram levaduras con micelio en cuatro ocasiones y en el resto de los casos, únicamente levaduras gemantes. También se recuperó *Lactobacillus spp.* y, en general los anaerobios obligados fueron poco frecuentes.

La tinción de inmunofluorescencia para detectar *Chlamydia trachomatis* fue positiva en 18 casos (9.0%), en diez de estas mujeres se aisló *Lactobacillus spp.* y el pH de la secreción cérvico-vaginal varió entre 4 y 8. Las bacterias anaerobias obligadas asociadas a otros géneros, se recuperaron en siete mujeres.

La presencia de *Trichomonas vaginalis* (cuatro casos) presentó igual frecuencia en ambas poblaciones. El cultivo para la investigación de *Neisseria gonorrhoeae* fue negativo.

En el cuadro 1, se pueden observar algunos síntomas clínicos que refirieron las pacientes que usaban DIU, en éstas se aisló *Actinomyces* y flora asociada. Además se muestra la edad y el tiempo de uso del dispositivo intrauterino *Actinomyces israelii*. Se aisló en el 9.7%, en las mujeres que presentaron este microorganismo algunas presentaron infecciones recientes y otras crónicas. Así mismo *A. naeslundii* se encontró en cuatro casos y *A. odontolyticus* en uno.

Cuadro 2. Correlación entre los 14 aislamientos de *Actinomyces* y la observación de granos actinomicóticos del exudado teñido por Papanicolaou.

Cultivo e identificación	Papanicolaou	Correlación Cultivo/ Papanicolaou
<i>Actinomyces israelii</i>	+	SI
<i>Actinomyces israelii</i>	—	NO
<i>Actinomyces israelii</i>	+	SI
<i>Actinomyces israelii</i>	+	SI
<i>Actinomyces israelii</i>	—	NO
<i>Actinomyces israelii</i>	+	SI
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	—	NO
<i>Actinomyces naeslundii</i>	—	NO
<i>Actinomyces naeslundii</i>	—	NO
<i>Actinomyces naeslundii</i>	—	NO

Los resultados de los estudios microbiológicos con el hallazgo de granos actinomicóticos por la tinción de Papanicolaou y su correlación cultivo / Papanicolaou fue de 50.0%. Cuadro 2.

Cabe mencionar que un número considerable de anaerobios obligados no se llegó a identificar, porque en las resiembras ya no crecieron.

Discusión

La edad en el 92% de las mujeres fue de menos de cuarenta y cinco años y en el 8% más de 45 años; esto concuerda con la Secretaría de Salud Pública con los datos que se tienen en relación al período reproductivo que es el más afectado por infecciones genitales.³² La Norma Oficial Mexicana otorga el derecho de recibir atención adecuada si se presenta algún efecto colateral imputable al uso del método anticonceptivo, así como la responsabilidad por el buen uso de ellos. Por lo anterior, el desarrollo y aplicación de investigaciones al respecto de la salud reproductora particularmente en mujeres de edad fértil contribuye al conocimiento del estado de salud de las mujeres mexicanas.^{32,33}

De los casos estudiados con y sin DIU, el 80% de las mujeres refirió padecer infecciones cérvico-vaginales desde el inicio de la vida sexual (promedio de 20 años) y la administración de medicamentos sin prescripción médica fue la solución más común aplicada al problema, sin llegar a saber cual era la causa real de la sintomatología; por tal motivo el 32% de las mujeres afirmaron no sentir mejoría a la fecha de la toma, inclusive las que tuvieron tratamiento sugerido por el médico.

Se tomaron en cuenta los criterios de Spiegel, CA (1991)²⁵ para unificar la forma de informar la tinción de Gram, para ello se determinó la flora bacteriana existente, la cantidad de ésta y la presencia o ausencia de morfotipos relacionados con *Lactobacillus spp.*; así como de la observación de las "células clave" y las estructuras levaduriformes y/o pseudohifas. Se incluyeron las características físico-químicas de la secreción cérvico-vaginal (cantidad, color, consistencia y pH) y si había una intensa reacción inflamatoria. La tinción de Gram modificado (Kopeloff) fue de gran utilidad cuando hubo evidencia de vaginosis bacteriana asociada a *Mobiluncus spp.*^{5,17,34,35} a diferencia de los resultados de Flores-Sombrero¹⁸ cuya frecuencia fue alta (35%), en cinco casos, en uno de ellos se aisló conjuntamente *Gardenella vaginalis* y otros anaerobios obligados.

La secreción acumulada en fondo de saco que se observó en fresco (con solución salina isotónica) también aportó datos importantes, entre ellos: presencia de leucocitos, eritrocitos, "células

clave", formación de micelio y la movilidad de *Trichomonas vaginalis* ayudó a determinar la presencia de este protozoario, además se hizo cultivo (caldo tricocel) para recuperar las *Trichomonas*. Este fue positivo en dos ocasiones y la viabilidad de las cepas fue de dos días. Los inconvenientes para mantener las condiciones de cultivo hacen que el examen en fresco y la característica del cuello "en forma de fresa" siguen siendo un buen método de diagnóstico práctico, fácil de realizar, dejando el cultivo sólo para confirmar cuando existe sospecha de cervicitis originada por *Trichomonas* o cuando no se observan estas en una preparación en fresco. Los signos y síntomas que refirieron estas pacientes fueron: inflamación abdominal, flujo verde-amarillento en abundancia y comezón. Los lactobacilos siempre estuvieron presentes en estos cuatro casos.

Las infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* a nivel de genitales, no son informadas a la Secretaría de Salud (a excepción del linfogranuloma venéreo), debido a que no están consideradas como enfermedades de notificación obligatoria, por ello es difícil conocer la prevalencia de estas infecciones en México, Hernández-Méndez y col. (2000).¹² Existen en la literatura mexicana algunos estudios relacionados con la presencia de *C. trachomatis*; por ejemplo, Echaniz G y col. (1992),³⁶ en 2407 mujeres en edad fértil sexualmente activas aparentemente sanas; aislaron en 97 de ellas *C. trachomatis*, con una prevalencia de 4.2%, la leucorrea fue la manifestación más frecuente en 47 de las mujeres infectadas. Por otro lado; Deleón Rodríguez I y Hernández-Méndez JT.³⁷ encontraron *C. trachomatis* en mujeres aparentemente sanas entre el 8-17%; el porcentaje de identificación del trabajo que presentamos fue de 9.0% debido a las características de la población que se estudió. Es importante señalar que esta bacteria desencadena una reacción inflamatoria neutrófila aguda e inespecífica, que tiene potencialidad para originar en determinadas ocasiones supuración crónica y persistente, atacando cuando se instala principalmente a los ganglios pélvicos y perirrectales³⁸ (causando inflamación pélvica o linfogranuloma venéreo). Para este microorganismo intracelular, el diagnóstico ideal es el cultivo celular en líneas McCoy o por la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa^{6,39} (PCR). En nuestro estudio por limitaciones en el presupuesto del proyecto y para los fines de esta investigación, se empleó la detección de cuerpos elementales teñidos por inmunofluorescencia⁴⁰ (en la secreción). Los datos más importantes que se tomaron en cuenta en esta tinción fueron la intensa reacción inflamatoria, presente en 12 casos y en algunas ocasiones los cuerpos en forma de "tiro de arco" (cuerpos de inclusión).

Cuando se compara la sensibilidad de la inmunofluorescencia con la tinción de Papanicolaou la primera es más precisa.²⁸ En este trabajo sólo se detectaron seis pacientes con sospecha de *Chlamydia* por la presencia de cuerpos de inclusión. El porcentaje de identificación obtenida, coincide con los datos de Clyde y col.⁶

Sin embargo, Bañuelos Pánuco CA et al (2000)³⁹ mencionan que actualmente la PCR es la técnica más confiable para el diagnóstico de *C. trachomatis* en muestras endocervicales.

La flora bacteriana que se identificó fue compleja pero en ella estuvo presente el género *Lactobacillus*, en donde 71 de éstos fueron productores de peróxido de hidrógeno.⁴¹ La caracterización de las cepas aisladas de *Lactobacillus* de este grupo de mujeres, se encuentra en el trabajo realizado por Angeles López M y col.⁴² Las bacterias anaerobias obligadas en general estuvieron presentes.

Mobiluncus spp. se aisló del medio de cultivo en cinco casos en uno de ellos estuvo asociado con *Gardnerella vaginalis*; también se observaron en la tinción de Gram y en la de Gram modificado, pero no se llegó a identificar la especie, porque es un microorganismo muy exigente en lo que respecta a nutrientes, además es sumamente sensible al oxígeno.^{35,43,44} *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* se recuperaron en mujeres con vaginosis bacteriana datos que coinciden con lo informado por otros autores.³¹ Sin embargo, no se puede afirmar que el DIU predispone a la colonización de estos microorganismos.

Por otro lado vale la pena señalar los datos que informa el jefe del Departamento de planificación familiar del Instituto Nacional de Perinatología (INPER) de la Secretaría de Salud, en relación al uso del DIU como método anticonceptivo, menciona que es el más usado entre las mexicanas, ya que a nivel nacional tiene entre 20 y 30 por ciento de aceptación.⁴⁵

En cuanto a la detección de *Actinomyces spp.* en la secreción cérvico-vaginal se puede hacer en los extendidos teñidos con la técnica de Papanicolaou, aunque lo más importante es que el personal que trabaja en las lecturas (generalmente citotecnólogos y citólogos) esté familiarizado con las estructuras actinomicóticas, para poder identificarlas y reportarlas. Además se debe tomar en cuenta que, previo a la inserción del DIU se sugiere una tinción de Papanicolaou y repetirla, por lo menos cada seis o 12 meses como lo sugieren Alonso y Chatwani.^{33,46} No fue posible establecer con seguridad si el modelo de dispositivo estaba involucrado en la colonización por *Actinomyces spp.*, porque la mayoría de las mujeres ignoraba esta información, lo que no permitió establecer esta asociación como lo realizaron Chatwani y col.⁴⁶ Esta correlación era importante debido a que en su trabajo, un número de casos positivos se encontraban en mujeres que usaban modelo T-Cu (6.7%) y éste en México se emplea con frecuencia.³²

Existen otros métodos para identificar *Actinomyces spp.* como: la inmunofluorescencia o la Cromatografía de gases, el primero no se usó por carecer del reactivo y con el segundo no se llega a identificar plenamente la especie, como se demostró en un estudio previo.^{47,48}

En las 94 mujeres sin DIU no se encontró *Actinomyces spp.* y la colonización de las bacterias anaerobias obligadas predominó en las mujeres con dispositivo intrauterino.

Agradecimientos

A las siguientes personas de la Clínica de Especialidades de Churubusco (Calzada de Tlalpan No. 1983, Col. Parque San Andrés, Coyoacán), se agradece su colaboración:

Dr. Emilio G. Sanders de la Fuente, Citotecnóloga Georgina Caballero Linares, Trabajadora Social Teresa Martínez y Enfermera Verónica Torres; sin ellos, no hubiera sido posible la realización del mismo.

Referencias

1. De Palo G. Colposcopia y patología del tracto genital inferior femenino 2a. ed.: Editorial Médica Panamericana; 1996.
2. Hansen SL, Stewart BJ. A reliable test for differentiation and presumptive identification of certain clinically significant anaerobes. *J Clin Pathol* 1978; 69 (1): 36-40.
3. Amsel RMD. Nonspecific vaginitis diagnosis criteria and microbial and epidemiologic association. *Am J Med* 1983; 74: 14-21.
4. Blauster A. Pathology of the female genital tract. 2nd ed.: Editor's Pringer Verlag; 1986.
5. Chen KCS, Amsel RMD, Eschenbach DA, Holmes KK. Diagnóstico Bioquímico de la Vaginitis. *Infec* 1983; 3(6): 285-297.
6. Clyde WA, Kenny GE, Schachter J. Laboratory diagnosis of chlamydial and *Mycoplasma* Infections. Washington DC: Cumitech 19 AMS; 1984.
7. Luff RD, Gupta PK, Spencer MR. Pelvic Actinomycosis and the intrauterine contraceptive device. *Am J Clin Pathol* 1978; 69(6): 581-586.
8. Gupta K, Holander DH, Frost JK. Actinomycetes in cervico vaginal smears: an association with IUD usage. *Acta Cytol* 1976; 20 (4): 295-297.
9. Gupta PK. Intrauterine contraceptive Devices vaginal cytology Pathologic changes and Clinical Implications. *Acta Cytol* 1982; 26(5): 571-613.
10. Fiorino AS. Intrauterine contraceptive device-associated Actinomycotic abscess and *Actinomyces* detection on cervical smear. *Obstet Gynecol* 1996; 87(1): 142-149.
11. Gupta PK, Shurbaji MS, Neuman MM. Hepatic Actinomycosis diagnosed by fine needle aspiration a case report. *Acta Cytol* 1987; 31(6): 751-551.
12. Hernández-Méndez JT, Alonso Rojo H, Escamilla Avilés E, Aquino Santiago C. Microorganismos asociados con *Chlamydia trachomatis* aislados de pacientes con leucorrea. *An Esc Nac Cienc Biol* 2000; 46 (1): 53-61.
13. Koss LG. Diagnostic cytology and it's histopathologic bases. 4 th ed.: Lippincott Company; 1992.
14. Novak ER, Jones HW. Gynecologic Cytopathology Novak's textbook of Gynecology. 11 th ed.: William & Wilkins; 1988.
15. Rodríguez CJ, Lacruz PC. Diagnóstico de *Actinomyces* en frotis cérvico-vaginales de mujeres portadoras de DIU. *Cytol* 1982; 1 (7): 14-17.
16. Slack JM & Gerencser M. *Actinomyces*, Filamentous Bacteria, Biology an Pathogenicity. West Virginia: Burgess Publishing Co; 1993.
17. Koneman EW, Allen SD, Janda WN, Schreckenberges PC, Winn WC. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. Philadelphia: J.B. Lippincott Co; 1992.
18. Flores-Sombrero JI. Estudio del género *Mobiluncus* como probable patógeno en la vaginosis. Tesis de Licenciatura. Universidad de Puebla. Escuela de Ciencias Químicas; 1984.
19. García-Ramos E, Hernández-Méndez JT. Manual para el aislamiento e identificación de bacterias anaerobias. México DF: IPN, ENCB; 1988.
20. García-Ramos E, Giono CS, Aparicio Ozores G, Hernández-Méndez JT. Bacteriología Médica. México DF: ENCB, IPN; 2001.
21. Gil-Juárez C, Calderón BA, Montero J, Yañez A, Cedillo L. Detección de *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* en mujeres con o sin actividad sexual. *Rev Lat Amer Microbiol* 1996; 38 (2): 81-58.
22. Guido Funke, Graevenitz A, Claridge III JE, Bernard KA. Clinical Microbiology of Coryneform bacteria. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10(1): 125-159.
23. Lewis R, McKenzie D, Baggs, Dickie A. Experience with a novel selective Medium for isolation of *Actinomyces spp.* from medical and dental specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (6): 1613-1616.
24. Roberts M, Baron E, Finegold S, Kenn G. Antigenic distinctive of *Mobiluncus curtisi* and *Mobiluncus mulieris*. *J Clin Microbiol* 1985; 21 (6): 891-893.
25. Spiegel CA. Bacterial vaginosis. *Clin Microbiol Rev* 1991; 4(4): 485-502.
26. Tryanor RM, Parrat D, Duguid HL, Duncan ID. Isolation of *Actinomycetes* from cervical specimens. *J Clin Pathol* 1991; 34: 914-916.
27. Miller PH, Wiggs LS, J Miller M. Evaluation of API, An-IDENT and Rap ID ANA II. Sistems for Identification of *Actinomyces* species from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (2): 329-330.
28. Murray PR, Baron EJ, Ptaller M, Tenover FC, Yolken RH. Manual de Clínical Microbiology. 6 th ed. Washington DC: ASM Press; 1999.
29. Bonifaz A. Micología Médica. México DF: Ed. Méndez Cervantes; 1991.
30. Maldonado Arellano Marisela C. Aislamiento e identificación de hongos oportunistas causantes de infección en pacientes del Hospital de Oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI. IMSS. Tesis de Licenciatura, ENCB, IPN. México DF.
31. González-Pedraza, Ortiz Zaragoza HC, Inzunza Montiel AE, Ponce Rosas RE. Frecuencia de aislamiento *Ureaplasma urealyticum* en una población abierta del Sur de la Ciudad de México. *Rev Lat Amer Microbiol* 1995; 37 (2): 79-86.
32. Norma Oficial Mexicana de los Servicios de Planificación Familiar. Secretaría de Salud. México DF; 1994.
33. Alonso Ruiz P, Larios N, Serrano-Espinoza A, Lorenzana R. Compendio de Citolología Ginecológica. Monografía No.5. Sociedad Médica del Hospital General de México. SSA. 1981.
34. Nugent RP, Krhon MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis improve by standardized method of Gram stain interpretation. 1991. *J Clin Microbiol*; 29 (2): 297-301.
35. Smith HJ, Moore HB. Isolation of *Mobiluncus* species from colonial specimens by using cold enrichment and selective media. *J Clin Microbiol* 1988; 26 (6): 1134-1137.
36. Echaniz Avilés G, Calderón Jaimes E, Carnalla Barajas N, Soto Noguerón A, Cruz Valdez A, Gatica Marquina R. Prevalencia de infección cérvico-vaginal por *Chlamydia trachomatis* en población femenina de la ciudad de Cuernavaca, Morelos. *Sal Pub Mex* 1992; 34 (3): 301-307.
37. Deleón Rodríguez I, Hernández-Méndez JT. *Chlamydia Trachomatis*: ¿Un Problema de Salud Pública en México? IPN. México DF: Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 2000.
38. Narciso-Reyes MLE. Infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis*. *Infectol* 1987; 7 (5): 205-218.
39. Bañuelos Pánuco CA, Delón Rodríguez I, Hernández-Méndez JT, Martínez Guzmán LA, Fierro DA, Miranda Murillo J, et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* in pregnant women by the Papanocolau technique, Enzyme Immunoassay and Polimerase Chain Reaction. *Acta Cytol* 2000; 44 (2): 114-123.
40. Baron EJO, Casell GH, Duffy LB, Eschenbach DA, Greenwood JR, Harvey SM, et al. Laboratory diagnosis of female genital Tract infections. Washington, DC: Cumitech 17A ASM Press; 1993.
41. Hillier SL, Krohn MA, Rabe LK, Klebanoff SJ, Eschenbach DA. The normal vaginal flora H_2O_2 -Producing Lactobacilli, and bacterial vaginosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 1993; 16 (4): 273-281.
42. Angeles-López M, García-Cano Ramos E, Aquino Santiago C. Hydrogen peroxide production and resistance to nonoxinol-9 in *Lactobacillus spp* isolated from the vagina of reproductive age women. *Rev Lat Amer Microbiol* 2001; 43 (4): 171-176.

43. Roberts M, Hillier S, Schoerknecht F, Holmes J. Filter blots for species identification of *Mobiluncus curtisi* and *Mobiluncus mulieris*. *J Clin Microbiol* 1984; 20 (6): 826-827.
44. Rodloff A, Appelbaum PC, Zabransky RS. Practical Anaerobic Bacteriology. Washington DC: Cumitech 5 ASM Press; 1991.
45. Ridríguez G. Sexualidad y pragmatismo en las nuevas generaciones. Conciencia Latinoamericana. México DF: Afluentes SC; 2001.
46. Chatwani A, Amin-Hanjani S. Incidence of Actinomycosis Associated with Intrauterine Contraceptive devices. *J Reproduct Med* 1994; 39 (8): 585-587.
47. Cauich Sánchez P, Alatriste Mondragón F, García-Cano Ramos E, Aquino Santiago. Identification of anaerobic nonsporoforming Gram Positive bacilli by biochemical tests and Gas Liquid Chromatography. *Rev Lat Amer Microbiol* 2001; 43 (1): 27-35
48. Leslie DE, & SM Garland. Comparison of immunofluorescence and culture for the detection of *Actinomyces israelii* in wears of intrauterine contraceptive devices. *J Med Microbiol* 1991; 35: 224-228.