

Morfotipos bacilares alargados en la tinción de Gram de una población gineco-obstétrica: Factores de riesgo y cuadro clínico

Jesús Reyna Figueroa*, Martha Valdés Ramírez*, Gerardo Casanova Román*, Federico Javier Ortiz-Ibarra**, Graciela Villeda Gabriel***, Magdalena Beltrán Zuñiga***

*Médico adscrito
 **Jefe del departamento
 ***Química

Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal. Clínica de Infecciones de Transmisión Sexual Montes Urales 800, Colonia Lomas Virreyes, Delegación Miguel Hidalgo. México DF, CP 11000. Tel 55209900 Ext 334. Correo electrónico: jesusreynaf@prodigy.net.mx

Fecha de aceptación: noviembre 2005

RESUMEN	ABSTRAC
Objetivo. Identificar los factores de riesgo y las características clínicas de un grupo de pacientes gineco-obstétricas, en las que se encontraron morfotipos bacilares largos vaginales observados en la tinción de Gram. Material y métodos. Mediante un estudio de casos y controles se tomaron en cuenta pacientes gineco-obstétricas de acuerdo a los siguientes criterios a) Casos: pacientes sin evidencia microbiológica de proceso infeccioso (cultivos negativos, examen en fresco sin presencia de levaduras o Trichomonas y criterios de Amsel negativos), pero con presencia de morfotipos bacilares largos (mayores de 40 µm) y sinuosos, gram positivos. b) Controles: pacientes sin evidencia microbiológica de proceso infeccioso (cultivos negativos, examen en fresco sin presencia de levaduras o Trichomonas y criterios de Amsel negativos), pero con morfotipos bacilares cortos, gram positivos. Resultados: se estudiaron un total de 600 pacientes, 300 para cada grupo. Los factores de riesgo significativos fueron: ser una paciente ginecológica, el uso previo de antimicóticos o de antibacterianos y el uso de hormonales anticonceptivos; mientras que los datos clínicos significativos fueron: la presencia de flujo vaginal y ardor vulvar. La búsqueda intencionada de bacilos grampositivos en pacientes sin mejoría o con persistencia de la sintomatología vulvo vaginal debe ser un procedimiento que se debe realizar. Palabras Clave: Flora vaginal, lactobacilos, Tinción de Gram, Cuadro clínico	Objectives: Our purpose was to study the risk factors and clinical features from obstetrics and gynecology patients with gram positive long rods in vaginal smears. Study design: Three hundred patients and 300 controls were study retrospectively. Patients without positive bacterial cultures, and microscopic examination of the discharge but with gram positive long rods (>40µm) in vaginal smears, were cases and patients without both positive bacterial cultures and microscopic examination of the discharge, without gram positive long rods in vaginal smears were controls. Results: To be a gynecology patients, used of antimicrobials and oral anticonceptives were significant risk factors. The vaginal discharge and vulvar burning were significant clinical features. Conclusions. Emphasis in given to vaginal wet smear analysis in patients without clinical improvement or persistent symptomatology is a necessity. Key words: Vaginal flora, Lactobacilli, Gram stain, clinical features.

Introducción

Algunas pacientes manifiestan una serie de síntomas vaginales que hacen sospechar en infecciones por microorganismos, clásicamente conocidos por el incremento en el flujo vaginal, como son tricomoniasis, vaginosis bacteriana y con mayor frecuencia candidosis. Sin embargo, los cultivos y la investigación microbiológica son negativos, y el tratamiento específico contra estos agentes produce poca mejoría en la sintomatología. 1 En las mujeres sanas, los Lactobacillus son los microorganismos predominantes en cervix y en vagina, mantienen el pH ácido por producción de ácido láctico con lo que protegen a la vagina en contra de infecciones. 2

La microflora vaginal se ha descrito usando frecuencias de los microbios más comunes, y los Lactobacillus son la flora dominante. Como se ha definido en las tinciones de Gram, 3 pueden encontrarse otros bacilos como enterobacterias o Bacillus sp, pero se ha demostrado que la frecuencia de éstos en comparación a Lactobacillus es mínima, por lo que observar un bacilo grampositivo en la tinción se acepta que se trata de Lactobacillus sp. No es necesario identificar al microorganismo a nivel especie, porque en general tiene escasa significación clínica. 4-6 Según algunos autores la alteración fenotípica de estos bacilos (largos y sinuosos) puede ser la explicación del porcentaje de pacientes que posterior al tratamiento antimicrobiano, casi siempre antimicótico, con reporte de cultivos cervicovaginales negativos, y con identificación de flora vaginal habitual, persisten con sintomatología vaginal infecciosa. 1, 2 La causa de esta alteración se desconoce hasta la fecha.

El objetivo del presente trabajo es identificar los factores de riesgo y las características clínicas de un grupo de pacientes gineco-obstétricas, en las que se encontraron morfotipos bacilares largos vaginales grampositivos, sin ningún otro microorganismo que pudiera explicar la presencia de sintomatología infecciosa vaginal en caso de presentarla.

Material y métodos

Mediante un estudio de casos y controles se estudiaron pacientes gineco-obstétricas, a quienes se les tomaron muestras de exudado vaginal para realizar examen en fresco con solución salina al 0.9%, tinción de Gram y cultivos microbiológicos en los medios Papa Dextrosa Agar (PDA), Agar sangre de carnero, Agar chocolate y Agar sangre humana, además para evaluar los criterios de Amsel por sospecha de vulvo-vaginitis infecciosa.

Del total de las pacientes estudiadas, se seleccionaron grupos de acuerdo a los siguientes criterios que sirvieron para definir los casos y los controles.

De todas las pacientes se obtuvieron características demográficas y la presencia de manifestaciones clínicas.

Análisis estadístico

La comparación entre grupos de variables continuas se realizó a través de la prueba T de student. En el caso de las variables categóricas, la comparación se realizó a través de la prueba Ji cuadrada o prueba exacta de Fisher, dependiendo de los valores esperados en las tablas 2x2. Para estimar la fuerza de asociación se obtuvo el riesgo relativo con intervalos de confianza al 95% Ji cuadrada con corrección de Yates.

Resultados

Se estudiaron un total de 600 pacientes, 300 para cada grupo. La media de edad fue de 30 años, con un intervalo de 16 a 45 años: 15% refirieron ser nulíparas, 50% tenían de 1 a 4 gestas y 34.4% más de 4 gestas; 61.1% pacientes estaban siendo valoradas por embarazo, y 31.3% no estaban embarazadas al momento de la evaluación, de éstas últimas 47.6% estaban siendo atendidas por esterilidad.

Evaluando el número de parejas, 81.3% habían tenido al menos dos parejas sexuales y 18.7% tres o más parejas; 50% de las pacientes fueron valoradas posteriormente al manejo de algún tratamiento antimicrobiano.

Los factores de riesgo significativos fueron: ser una paciente ginecológica, el uso previo de antimicóticos o de antibacterianos y el uso de hormonales anticonceptivos. (cuadro 1); mientras que los datos clínicos significativos fueron la presencia de flujo vaginal y ardor vulvar (cuadro 2).

Discusión

La flora vaginal habitual es reconocida como la principal reguladora del ecosistema vaginal de mujeres en edad reproductiva, en particular la flora bacilar, en la que *Lactobacillus* sp juega un papel predominante. Se ha estudiado en los últimos años como posible causante de sintomatología infecciosa en pacientes sin aislamiento o evidencia de enfermedad causada por los patógenos reconocidos comúnmente, ejemplo de ello es la responsabilidad de *Lactobacillus* como patógeno en sepsis en pacientes inmuno-comprometidos, en la vaginosis citolítica y en lactobacilosis.^{7,8,9}

La mayoría de los estudios que investigan las características de los bacilos grampositivos reportan la disminución en el número de ellos como la piedra angular en la fisiopatología de algunas enfermedades infecciosas vaginales, como la vaginosis bacteriana.^{7,10}

- a. Casos: pacientes sin evidencia microbiológica de proceso infeccioso (cultivos negativos, examen en fresco sin presencia de levaduras o *Trichomonas* y criterios de Amsel negativos), pero con presencia de morfotipos bacilares largos (mayores de 40 μ m) y sinuosos, gram positivos.
- b. Controles: pacientes sin evidencia microbiológica de proceso infeccioso (cultivos negativos, examen en fresco sin presencia de levaduras o *Trichomonas* y criterios de Amsel negativos) con morfotipos bacilares cortos, gram positivos.

Se excluyeron a las pacientes que estuvieran bajo tratamiento antimicrobiano local o sistémico para cualquier proceso infeccioso.

A pesar de que no identificamos como tal en este estudio a *Lactobacilos*, la intención de este primer acercamiento es reconocer si existe sintomatología infecciosa en pacientes, en quienes como único hallazgo se encuentran bacilos grampositivos largos y sinuosos, que en algunos reportes se los consideran como "bacilos enfermos"; esto es, a pesar de encontrarse en número normal, sus características fenotípicas y la funcionalidad están alteradas.

De acuerdo a nuestros resultados, el flujo vaginal y el ardor vulvar corresponden a la sintomatología significativa, que concuerda con lo señalado en reportes de otros autores que investigan lactobacilosis vaginal. Misma situación de lo encontrado en cuanto a factores de riesgo, las pacientes ginecológicas en comparación con las obstétricas presentan con mayor frecuencia alteraciones morfológicas de los bacilos gramnegativos, sobre todo posterior a la menstruación, mientras que el uso de hormonales orales y el uso de antimicóticos se han identificado como factores de riesgo importantes para los cambios morfológicos y la presentación de datos clínicos.^{11,12}

Obviamente el principal problema de nuestro estudio es que faltó la identificación microbiológica como tal de los lactobacilos, sin embargo, este se considera un primer paso para realizar un estudio posterior con mayor número de pacientes, en el cual se identifique la especie del bacilo grampositivo

observado en la tinción,y sobre todo para tratar de definir a la lactobacilosis vaginal como una entidad a buscar intencionadamente en pacientes con tratamiento antimicobiano previo,con estudios microbiológicos considerados negativos,pero sin mejoría o con persistencia de la sintomatología vulvo vaginal.

Cuadro 1.
Factores de riesgo encontrados en asociación con morfotipos alargados de bacilos grampositivos en la tinción

Característica	Grupo I	Grupo IV	OR	IC 95%	p
Edad > 35 años					
No	210 (70%)	113(75%)	1.3	1-1.5	0.2
Si	90 (30%)	37 (25%)			
Paciente Ginecológica					
Si	65 (43.3%)	39 (26%)	2.18	1.3-3.6	<0.05
No	85(56.6%)	111 (74%)			
Tratamiento previo					
Antimicótico	75 (50%)	24 (16%)	5.2	2.9-9.3	<0.05
Antibacteriano	45 (30%)	93 (62%)	0.2	0.1-0.4	<0.05
Ninguno	30 (20%)	33 (22%)			
Parejas sexuales > 3					
No	122 (81%)	128 (85%)	1.3	0.7-2.5	0.35
Si	28 (19%)	22 (15%)			
Método anticonceptivo*					
Hormonales	26 (40%)	27 (70%)	0.3	0.1-0.7	<0.05
DIU	23 (35%)	8 (20%)	2.12	0.7-5.9	0.1
Preservativo	13 (20%)	3 (8%)	3.0	0.7-14	0.09
Otros	3 (5%)	1 (2%)			

Cuadro 2.
Manifestaciones clínicas encontradas en pacientes con bacilos grampositivos alargados en la tinción.

Característica clínica	Lactobacilosis n (%)	Negativos n (%)	OR	IC 95%	p
Flujo	57 (38)	36 (24)	1.9	1.1-3.3	<0.05
Ardor	66 (44)	8 (5)	13.9	6-33	<0.05
Prurito	8 (05)	6 (4)	1.3	0.4-4.5	0.5
Fetidez	16 (11)	12 (8)	1.3	0.5-3.2	0.4
Edema	3 (02)	0 (0)	2.0	1.8-2.2	0.08
Eritema	3 (02)	0 (0)	2	1.8-2.2	0.08
Disuria	0 (0)	0 (0)	-----	-----	-----
Dispareunia	3 (2)	2 (1)	1.5	0.2-1.3	0.6

Bibliografía

1. Horowitz JB, Mardh AP, Nagry E, Rank LE. Vaginal lactobacillosis. *Am J Obstet Gynecol* 1994;170: 857-861
2. Cerikcioglu N, Beksac S. Cytolytic vaginosis: misdiagnosed as candidal vaginitis. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2004;12:13-16
3. Hillier SL. The normal vaginal flora. H2O2-producing lactobacilli, and bacterial vaginosis in pregnant women. *Clin Infect Dis* 1993;16 (Suppl 4):S 273-281
4. Galask RP, Larsen B, Ohm MJ. Vaginal flora and its role in diseases entities. *Clin Obstet Gynecol* 1976;19:61-81
5. Mardh PA. The vaginal ecosystem. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1163-1168
6. Koneman WE. Bacterios grampositivos aerobios. En Koneman WE, Allen S, Dowell RV, Janda MW, Sommers MH, Winn CW. *Diagnóstico microbiológico*. Ed Panamericana, México DF, 1998 pp 453-487.
7. Spiegel CA, Amsell J, Holmes KK. Diagnosis of bacterial vaginosis by direct Gram stain of vaginal fluid. *J clin microbiol* 1983;18:170-177.
8. Shopova. *Lactobacillus* spp as part of the normal microflora and as pathogens in humans. *Akush Ginekol.* 2001;42:22-5
9. Warner EJ, Ross RA, Delaney LM, Dubois MA, Onderdonk BA. Genetic diversity of vaginal *Lactobacillus* spp. Determined by pulsed-field gel electrophoresis in women at 20 and 30 weeks of gestation. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2003;12:13-16.
10. Casanova RG. Vaginosis bacteriana. En: Casanova RG, Ortiz IFJ, Reyna FJ. *Infecciones de Transmisión Sexual*. Ed Alfil México DF 2004 pp 163-180.
11. Korenek P, Britt R, Hawkins C. Differentiation of the vaginal bacterial vaginosis, lactobacillosis, and cytolytic vaginosis. *The Internet Journal of Advanced Nursing Practice*. 2003. Volume 6, Number 1: (61 screens). Available from: URL: <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijanp/vol6n1/vaginosis.xml>
12. Alvarez OMI, Barousse MM, Rajan Latta, Van del Pol JB, Fortenberry D, Orr D, Fidel LP. Vaginal Lactobacilli in Adolescents. *Sexually Transmitted Diseases*. 2004;31:383-400.