

11217 19  
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

COMPARAR LA UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICION POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES

INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGIA

DR. J. ROBERTO ANTON ANTON  
DIRECTOR GENERAL  
PROFESOR TITULAR

*Gerardo Casanova Roman*

DIRECCION DE ENSEÑANZA

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:  
ESPECIALISTA EN GINECOLOGIA Y  
O B S T E T R I C I A  
P R E S E N T A  
DRA. VERONICA GAMEZ SANTIAGO

0279200

TUTOR: DR. GERARDO CASANOVA ROMAN

MEXICO, D. F.

1999.



TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

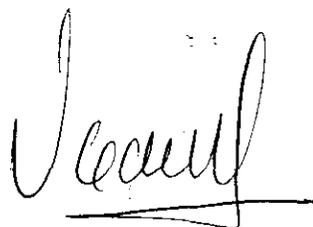
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

---

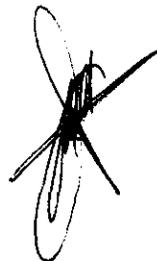
DRA VERONICA GAMEZ SANTIAGO  
AUTOR DE TESIS



DR. GERARDO CASANOVA ROMAN  
TUTOR DE TESIS



M.V.Z. GABRIEL ARTEAGA TRONCOSO  
ASESOR DE TESIS



# INDICE

Agradecimientos.....	1
Introducción.....	4
Historia .....	7
Anatomía y fisiología de la vagina.....	10
Microflora vaginal en la etapa prepuberal y postmenopáusicade la mujer.....	16
Flora normal de la vagina.....	19
Efectos de los métodos de planificación en la vagina.....	24
Efectos de los antibióticos en el tratamiento de infecciones vaginales.....	25
Flora vaginal normal en el embarazo.....	29
Técnicas diagnósticas.....	30
Metodología:	
Objetivo e Hipótesis.....	34
Diseño y definición de variables.....	35
Procedimiento.....	36
Análisis de Datos.....	39
Resultados.....	41
Conclusiones.....	53
Comentario.....	55
Bibliografía.....	56

UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS  
DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

**AGRADECIMIENTOS**

A Dios por darme la fuerza e iluminación para seguir adelante.

A mis padres por su constante apoyo y enorme amor demostrado para todo lo que he realizado.

A Memo por todo su amor y apoyo que me da día con día para seguir adelante

A mis abuelitas Ana y Soledad por su gran amor y sus constantes oraciones para mi bien.

A mis tías Tere y Romy gracias a su amor y su preocupación por mi bienestar, guiaron mi camino durante mi estancia en el INPER.

A mis hermanos Marisol y su esposo Saul, Annie, Guillermo por su apoyo para seguir adelante.

A mis tios July y Mike por su incondicional apoyo durante mi preparación.

UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS  
DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Al Dr. Gerardo Casanova por su enorme ayuda y apoyo para la realización de esta tesis.

A la Dra. Izayana Carrasco y su familia por su apoyo incondicional y orientación para la realización de esta tesis.

A todos mis profesores del INper por haberme transmitido de manera incondicional sus conocimientos y experiencia sobre la Ginecoobstetricia.

Al Dr. Tlapanco por ser una persona que no solo me enseñó lo bello de la cirugía sino la filosofía que esta encierra.

A todos mis compañeros y amigos del Instituto en especial al Dr. Eduardo Villarreal, Samuel Guerrero, Roberto Silvestri, Guillermo Tovar, y la Dra. Esthela Arroyo por su enorme apoyo y cariño durante la residencia.

**UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS  
DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.**

A mis amigos Mauricio Rodriguez , Jerry Sepulveda y el Ing. Romeo Grajales Corzo por su constante apoyo y confianza para todos los proyectos que realizaba.

A todas las Sritas. Enfermeras, trabajadoras sociales y todo el personal en general del Instituto por ser parte de mi formación académica.

A las pacientes del Instituto por su confianza depositada y todo el conocimiento que me aportaron para mi formación como Ginecoobstetra.

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

### INTRODUCCION

Para conocer la utilidad de la tinción de Gram Vs examen en fresco en cervicovaginitis de repetición por morfotipos lactobacilares. Se realizó un estudio transversal, prospectivo, comparativo y observacional en las pacientes con cervicovaginitis de repetición derivadas de la consulta externa de la clínica de enfermedades de transmisión sexual del Instituto Nacional de Perinatología.

La leucorrea es un signo clínico que representa uno de los motivos más comunes de consulta ginecológica; en sí misma no constituye una enfermedad, sin embargo, su presencia puede ser derivada a la expresión de cambios endocrinos, inflamatorios, infecciosos o la mezcla de los tres <sup>(1)</sup>.

En las mujeres sanas, el flujo vaginal está constituido por agua, células epiteliales, electrolitos, proteínas, carbohidratos, ácidos grasos y microorganismos <sup>(2)</sup>. Este trasudado proviene de secreciones de la vulva a partir de glándulas sebáceas de Bartholin, de Skene, de la pared de la vagina, cérvix, cavidad endometrial y trompas de Falopio. El volumen y tipo de

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

células que se desprenden están influidos por procesos bioquímicos dependientes de esteroides sexuales <sup>(3)</sup>.

Se ha calculado que existe una concentración de microorganismo de  $10^9$  UFC/ml, que constituyen la flora bacteriana normal de la vagina, siendo cinco veces mayor la concentración de anaerobios <sup>(2)</sup>.

La flora bacteriana normal puede modificarse por diversos factores como la edad, costumbres sexuales, hábitos higiénicos y del vestido, lesiones y alteraciones en la estructura del aparato genital debido al uso de antisépticos e irrigaciones vaginales con diversos productos, uso de toallas sanitarias y tampones, consumo de anticonceptivos hormonales o de barrera y por la administración de antibióticos sistémicos <sup>(3)</sup>.

Los cambios hormonales, metabólicos y en la respuesta inmune que se producen en la mujer embarazada modifican la flora microbiana cervicovaginal y la convierten en un huésped más vulnerable para la adquisición de algunas infecciones a ese nivel. Estos procesos tienen una particular importancia ya que pueden favorecer problemas de infertilidad,

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

embarazo ectópico y una amplia gama de riesgos en la etapa perinatal y puerperal <sup>(3)</sup>.

El diagnóstico oportuno permite la administrar el tratamiento específico para evitar las consecuencias y mencionadas <sup>(3)</sup>.

Con el empleo de nuevas técnicas de diagnóstico microbiológico, se ha logrado identificar microorganismos que anteriormente no habían sido reconocidos como causantes de infecciones; solo existe un reporte previo en la bibliografía mundial realizado en Hungría por el Dr. Horowitz y colaboradores dónde observaron lactobacilos largos en pacientes con vaginitis de repetición y la remisión del cuadro sintomático y bacilos largos con el tratamiento de amoxicilina y ácido clavulónico <sup>(4)</sup>. En nuestro estudio el objetivo fue comparar las técnicas de tinción de Gram e identificación en fresco respecto a su utilidad para detectar morfotipos lactobacilares en vaginitis de repetición. Además se estudiaron cuáles factores clínicos y de laboratorio pudieran estar asociados al morfotipo específico de lactobacilos largos. Por último se examinó la tasa de éxito de la utilización de amoxicilina y ácido clavulónico.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

### HISTORIA

En 1887, Gönner describió por primera vez la asepticidad de la vagina y Döderlein en 1892 con su descripción de los bacilos saprófitos y sus estudios sobre la acidez vaginal, fue quien dió cuerpo al concepto que perdura hasta la actualidad <sup>(5,6,7,8,9,10,11)</sup>.

En 1899 Menge y Kronig realizaron las pruebas de inocular gérmenes piógenos en una vagina normal demostraron que a las veinticuatro horas habían desaparecido totalmente en este medio <sup>(5,8,11)</sup>.

A principios de siglo los bacilos de Döderlein se consideraron como parte de la flora normal, más tarde fueron identificados como *lactobacillus* <sup>(8)</sup>.

De los estudios realizados a principios de siglo se identificó que la flora vaginal normal estaba compuesta por una mezcla de microorganismos y que los *Lactobacillus* era la especie que predominaba <sup>(11)</sup>.

La leucorrea esa descarga blanca de la vagina, ha sido foco de múltiples estudios desde principios de siglo pensándose que su origen era

UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

uterino, por lo que se iniciaron investigaciones donde se realizó un curetage de endometrio. En 1913 Curtis demostró que el origen de la leucorrea era de la vagina y no del endometrio como se pensaba<sup>(6)</sup>.

Curtis fue el primero en relacionar los siguientes puntos:

- 1).- Que la leucorrea se origina de la vagina y no del útero.
- 2).- Que las mujeres que tiene leucorrea blanca tienen una disminución de los bacilos de Döderlein.
- 3).- Que la presencia de bacterias anaerobias en la vagina, se correlaciona con la leucorrea.

Las investigaciones continuaron y a principios de los años 20's Schroder reportó 3 diferentes tipos de flora en la vagina normal con relación a la "limpieza de la vagina", en un estudio que realizó en 288 mujeres no embarazadas, donde el grado I el 40% de los casos sólo había bacilos vaginales grampositivos (primer grupo y menos patógeno era los *Lactobacillus [acido-productores]* que predominaban), el grado II 19% de los

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

casos, una mezcla de lactobacillus en minoría con respecto a otros organismos<sup>(12)</sup>

El grado III o tercer grupo predominaban microorganismos patógenos, como *micrococcus diptheroides* y streptococos con una descarga alcalina y muchas células de pus<sup>(5,8,11)</sup>.

En los años 30's se describió la importancia de los estrógenos para la estimulación de glucógeno en el epitelio tisular y el efecto de la colonización de lactobacilos en la vagina<sup>(11)</sup>.

En 1950 Weaver reportó la relación entre la disminución de lactobacillus y la presencia de bacteroides (vaginitis no específica)<sup>(5)</sup>.

En estudios recientes sobre la evolución de la citobacteriología vaginal en el curso del ciclo menstrual, en diferentes mujeres, nos permiten afirmar la constancia en la forma y las variaciones en la proporción de los bacilos vaginales en condiciones normales<sup>(8,11,12)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

### ANATOMIA Y FISILOGIA DE LA VAGINA

La vagina es un conducto musculomembranoso medio, que une la vulva con el útero, desempeña un papel importante en la copulación de la mujer y es paso de las secreciones cervicouterinas y tubáricas, así como el paso del feto durante el trabajo de parto y en la estática pélvica <sup>(3)</sup>.

Además es un receptor sensible a las secreciones estrogénicas <sup>(3,8)</sup>.

La vagina es un órgano impar, medio. Esta situada entre la uretra y la vejiga por delante y el recto por detrás. Hacia arriba, está fijada al cuello uterino. La frontera con la región vulvar, hacia abajo, esta marcada por el himen <sup>(3,8)</sup>.

La vagina es aplanada de delante atrás. Su longitud media es de 8 cm las paredes anterior y posterior están adosadas y la anterior es más corta que la posterior. Estas paredes son extensibles y elásticas, particularidad que se aprovecha en la cupulación y en el parto <sup>(3)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Su estructura esta constituida por tres tunicas:

- La túnica externa, fascia vaginalis, dependiente de la fascia pélvica, espesa, blanca, constituida por tejido conjuntivo elástico<sup>(8)</sup>.

- La túnica media, muscular, repartida en 2 planos, plano superficial, constituido por fibras longitudinales y plano profundo, compuesto por fibras circulares<sup>(8)</sup>.

- La túnica interna, formada por un epitelio pavimentoso estratificado no queratinizado que consta de 3 capas mal delimitadas. La capa basal, rica en mitosis en la parte interna, constituye la zona de crecimiento. La parte externa o zona parabasal, esta compuesta por varias hileras de células redondeadas con citoplasma basófilo, unidas entre sí en muchos puntos. La capa intermedia es la zona de unión, está constituida por varias hileras de grandes células aplanadas con citoplasma basófilo<sup>(5)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

La capa superficial es la zona de maduración. La porción intraepitelial consta de grandes células con citoplasma ligeramente eosinófilo. La porción más superficial forma la zona cornificada de Papanicolaou, que es descamativa. Las capas intermedia y profunda contienen abundante glucógeno, por lo que se tiñen con lugol<sup>(3,5,7,10)</sup>.

La lubricación de la vagina esta garantizada por la secreción de moco de las glándulas endocervicales, la secreción endometrial y el aporte de exudados que provienen de la circulación venosa y linfática de la pared vaginal<sup>(5)</sup>.

Aparte de su función principal de cupulación ya descrita, y su misión auxiliar en el parto, la vagina tiene asignada una labor depuradora o de defensa muy importante contra la infección y la mucosa de la vagina forma parte del sistema inmune, por estar sujeta dicha cavidad, en la mujer de actividad sexual regular, a una constante contaminación<sup>(5,8,11)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

### **MOCO: FACTOR PROTECTOR**

El moco está constituido por glycoproteinas, se secretan hacia la superficie del epitelio, y lo proveen de una gran cantidad de funciones, la más importante es la de lubricar y actuar como barrera selectora de macromoléculas exógenas. Tanto el semen como las secreciones vaginales son ricas en moco. En la mujer el moco deriva del cérvix. Está claramente demostrado que el moco cervical esta bajo influencia absoluta de los estrógenos y se corrobora durante el ciclo menstrual. También juega un papel importante en el proceso de concepción, así como un protector de patógenos. <sup>(13)</sup>

Cuando la flora se ve alterada e incrementa la inflamación puede asociarse a una vaginitis atrófica y es cuando se aprecia la importancia de esta secreción. <sup>(14)</sup>

El moco es rico en carbohidratos y juega un papel de manera indirecta para la defensa antibacterial. <sup>(13)</sup>

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Se han aislado otros factores antimicrobiales de las secreciones vaginales como son la lisozoma y lactoferrina.

La 1,4beta lisozoma hidroxilasa se encarga de inhibir la adherencia bacterial; no tiene efecto protector contra la *Chlamidya Trachomatis*.<sup>(13)</sup>

Lactoferrina tiene un papel importante en la defensa de *gonococo*, las mujeres que reciben anticonceptivos orales persisten con niveles bajos de lactoferrina<sup>(13,14)</sup>

Otro elemento que juega un papel importante en la defensa del moco es el Zinc. Se ha encontrado principalmente en secreciones prostaticas y en la mujer interactua con la protección de la *chlamydia* (13)

En realidad esta actividad es una consecuencia inmediata de la función sexual, pues para su realización es condición primordial una secreción estrogénica regular, que es normal en el lapso de actividad sexual y menor en la infancia y en la vejez, épocas en la cuales, por esta razón la función depuradora de la vagina se halla disminuida<sup>(12)</sup>

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

La forma como dicha función estrogénica actúa sobre la vagina, hasta el punto de determinar un ciclo vaginal, es de fácil demostración mediante el estudio citológico <sup>(6)</sup>.

De acuerdo a varios estudios realizados se ha podido comprobar que las infecciones del tracto genital femenino ocurren durante etapas críticas del ciclo menstrual como la *Candida albican* se presenta principalmente etapa premenstrual así como en el embarazo, las *trichomonas vaginalis* durante la menstruación, y el *Herpes tipo 2* durante la fase lutea <sup>(15)</sup>.

## **MICROFLORA VAGINAL EN LA ETAPA PREPUBERAL Y POSTMENOPAUSICA DE LA MUJER.**

Los Lactobacilos forman parte de la flora normal de la vagina y *juegan un papel importante en la defensa por agentes patógenos del tracto genital* <sup>(13)</sup>.

Los lactobacilos producen ácido láctico de la glucosa, y esto mantienen el pH ácido de la vagina. En la etapa prepuberal las niñas tienen poca cantidad (aproximadamente 100,000 colonias de lactobacilos) necesario para la conversión de glucógeno en ácido láctico <sup>(11,12)</sup>. Después de la pubertad el glucógeno está en el epitelio vaginal bajo control estrogénico <sup>(12)</sup>.

La microflora vaginal en la mujer esta directamente proporcional al nivel estrogénico <sup>(11)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Aparentemente la recién nacida femenina recibe de su madre el aporte de estrogénico necesario, pero con niveles muy bajos para encontrar predominio de lactobacilos básicamente se encuentran anaerobios gram-negativos, con un pH menor a 5 <sup>(16)</sup>.

En las mujeres postmenopáusicas que no reciben terapia de reemplazo hormonal, su pH cambia, favoreciendo la presencia de patógenos <sup>(17)</sup>.

En la paciente menopáusica el pH vaginal es un marcador importante de susceptibilidad a la presencia de agentes patógenos <sup>(8,17)</sup>.

La deficiencia de glucógeno durante la menopausia no se atribuye a los bajos niveles de lactobacilos; a nivel experimental se ha observado que los estrógenos tienen un efecto directo sobre número y composición de los microorganismos de la flora normal de la vagina <sup>(13,17)</sup>.

El contenido vaginal que mantiene húmedo el conducto copulador es una masa blanquecina, finamente granulada, a menudo pastosa, cuya cantidad

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

y calidad varía en las diferentes mujeres. Su componente principal son grandes masas de bacterias (bacilos vaginales), epitelios descamados de la mucosa, algunos leucocitos y líquido trasudado por los tejidos subepiteliales de la vagina, muy vascularizados <sup>(11,12,17)</sup>.

## FLORA NORMAL DE LA VAGINA

La vagina es rica en glucógeno, necesario para el lactobacilo para la fermentación y producción de ácido láctico y mantener la acidez de la vagina entre un pH 3.3-4.5 inhibiendo así el crecimiento de organismos no acidofilos<sup>(7)</sup>. Los lactobacilos se encargan de inhibir el crecimiento de la *Escherichia coli*, *Candida Albicans*, *Gardnerrella vaginalis*, y *sp Mobiluncus* ya sea por disminución del pH, por producción de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y otros metabolitos inhibitorios<sup>(15,18)</sup>.

Lactobacillus es grampositivo, pleomórfico, o anaeróbico facultativo, existen más de 80 especies diferentes conocidas, estas se encuentran en la secreción normal de la vagina. En la mujer sana los *lactobacilos sp* miden entre 5 y 15 *um* de longitud<sup>(4,18)</sup>.

Los *lactobacillus sp* o bacilos vaginales de *Döderlein* son bacterias que en la época sexualmente activa habitan en la vagina en cantidad variable

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

despliegan una acción acidificante, demostrable en los medios de cultivo. En la vagina su acción fermentativa sobre la glucosa ocasiona el desdoblamiento de esta última en ácido láctico. <sup>(18)</sup>

Los epitelios descamados son la causa de la presencia de numerosas células pavimentosas de las diferentes capas. Aunque se suponía que todas ellas eran ricas en glucógeno, Botella y Nogales demostraron que solo la capa intermedia era rica en glucógeno. La más superficiales, cariopinóticas poseen en cambio un mucopolisacárido, posiblemente producto de transformación del glucógeno <sup>(8,9,10,11)</sup>.

Este glucógeno celular se desdobla por la acción de unos fermentos. La glucogénolisis produce maltosa y esta a su vez por acción de una enzima, se convierte en glucosa y la fermentación de esta por los lactobacillus produce ácido láctico. De esta manera el contenido vaginal adquiere el pH característico, el cual es variable de acuerdo al momento del ciclo ovárico y el sector vaginal que se considere <sup>(5)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

La flora vaginal normal es compleja y dinámica, ya que presenta fluctuaciones del ecosistema microbial diario. La antibiosis entre los lactobacilos y las bacterias en la vagina se debe a la producción de  $H_2O_2$  bacteriocin, y el factor de adherencia a células epiteliales estos son algunos de los factores responsables de mantener el balance ecológico de la vagina <sup>(19)</sup>. Los autores sugieren que estas alteraciones en la microflora vaginal alrededor de tiempo premenstrual pueden deberse a factores exógenos que inclinan la balanza hacia una vaginosis bacteriana <sup>(12,19)</sup>.

El incremento del pH se presenta en dos momentos de ciclo principalmente con la menstruación y con el semen durante la relación sexual <sup>(12,20)</sup>.

La acción combinada de la descamación celular intermedia, depósito de glucógeno, acción acidificante del bacilo vaginal, glucogénolisis y el pH genuino son lo que permite a la mujer adulta conservar el poder defensivo vaginal y establecer una autodepuración bacteriana. <sup>(20,21)</sup>

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

La producción de peróxido de Hidrógeno ( $H_2O_2$ ) por los lactobacilos representa uno de los mecanismos de defensa antimicrobial de ecosistema normal de la vagina <sup>(9,11,12,18)</sup>.

Los lactobacilos utilizan las flavoproteínas, las cuales generalmente convierten el oxígeno en  $H_2O_2$  la disminución de estos microorganismos, se relaciona a un aumento importante de otros microorganismos anaerobios como *bacteroides spp*, *Mobiluncos spp*, así como la *Gardnerrella vaginalis* y *Mycoplasma Hominis*. Este una vez formado inhibe o mata patógenos <sup>(8,11,21)</sup> los lactobacilos son especies que predominan en la flora normal de la vagina y regulan el crecimiento de otros tipos de flora <sup>(9,12)</sup> por lo tanto se postula que la ausencia de lactobacilos productores de  $H_2O_2$  favorece el crecimiento de organismos catalasa negativos los cuales se encuentran en pacientes con vaginosis bacteriana <sup>(9,19)</sup>.

En un estudio realizado por la Dra. Hillier en cuanto la relación entre la producción de  $H_2O_2$  por los lactobacilos en pacientes embarazadas con vaginosis bacteriana y la microflora genital. Se encontró que en el embarazo la presencia de lactobacilos productores de  $H_2O_2$  era inversamente <sup>(14)</sup>

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

proporcional a infección vaginal que cursara la paciente embarazada, esto es pacientes con presencia de estos lactobacillus tenían menor probabilidad de desarrollar crecimiento de *Chlamidia trachomatis*, *enterococos*, y *staphylococcus negativos* <sup>(9,21,22)</sup>. El H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es una molécula tóxica que juega un papel importante en la modulación de la flora vaginal <sup>(9,10,12,13,21)</sup>.

Existen investigaciones donde se descarta el efecto benéfico de la colocación de lactobacilos exógenos promocionados por marcas comerciales de Yoghurt para la recolonización de la flora vaginal ya que los lactobacilos contenidos en el yoghurt no se adhieren a las paredes vaginales <sup>(14,23)</sup>.

## **EFFECTOS DEL NONOXINOL –9 Y OTROS METODOS DE PLANIFICACION EN LA FLORA VAGINAL**

Muchas mujeres jóvenes, acostumbran utilizar lubricantes, jaleas, anticonceptivos, antimicóticos y duchas vaginales. Estos productos alteran el ecosistema normal de la flora vaginal, alterando principalmente el pH ácido vaginal. El uso de 9-nonoxinol en jaleas, anticonceptivos, duchas, se ha observado en estudios *in vitro* que disminuye la colonización de lactobacilos, pero en estudios realizados en pacientes se encontró que un lapso de 6 semanas de estar usando este medicamento no hubo alteración de la flora vaginal sin crecimiento de otros patógenos<sup>(12,23)</sup>.

Uno de los efectos adversos bien conocido posterior al uso de las duchas vaginales es que altera el epitelio vaginal y pH teniendo mayor propensión a infecciones vaginales, promoviendo el ascenso de las infecciones al tracto reproductivo alto<sup>(12,23)</sup>.

## **EFFECTOS DE LOS ANTIBIOTICOS EN EL TRATAMIENTO DE INFECCIONES VAGINALES.**

Los agentes antimicrobianos usados en el tratamiento de infecciones no genitales también alteran el ecosistema vaginal, como es el caso de los beta lactámicos como la amoxicilina y las cefalosporinas, que son medicamentos frecuentemente utilizados<sup>(12,13,14,24)</sup>.

En el caso del metronidazol ya sea vaginal u oral, esto no tiene una actividad negativa contra los lactobacilos, al contrario tienen una ventaja de aumentar la colonización de estos organismos<sup>(12,15,24)</sup>.

La clindamicina ya sea oral o vaginal, para la vaginosis al inicio no afecta la colonización de lactobacilos pero después disminuye su producción y al igual que la ampicilina la recolonización de lactobacilos ocurre un mes después de haber acabado la terapia<sup>(11,13,25)</sup>.

## UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Los efectos de las quinolonas a corto plazo al parecer no parecen alterar a los lactobacilos<sup>(16,17,25)</sup>.

Los antimicóticos para el tratamiento de vaginitis por levaduras, no tiene efectos adversos aparentes sobre la colonización por lactobacilos<sup>(11,13,15,16,24)</sup>.

Existen reportes de crecimientos anormales de otras bacterias, como la *E. Coli* ante la cinoxacina, por desarrollo de mutantes resistente de la bacteria, esto fue medido por calorímetro (método usado para la medición de la bacteria expuesta a antibióticos)<sup>(18,25)</sup>.

En Suiza en 1981 se realizó un estudio donde se observó que los antibióticos betaláctámicos a ciertos niveles de concentración puede causar elongación de la bacteria. En este estudio se observó elongación de los *bacteroides Fragilis* en presencia de metronidazol y tinidazol. Efecto similar se ha demostrado que sucede en la *E. coli* ante la presencia de otros antimicrobianos como ácido nalidixico y la cinoxacina ya que interfieren con

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

el metabolismo del DNA. No se encontró elongación de la *G vaginalis* en presencia de metronidazol y tinidazol <sup>(23,25)</sup>.

La asociación de ácido clavulánico con la amoxicilina ha creado un antibiótico de amplio espectro de microorganismos como gram-positivos: aerobios: *Staphylococcus epidermideis*, *bacillus*, *Streptococcus pneumonie*, *enterococcus virridians*, *crynebacterium sp*, *listeria monocytogenes*, Anaerobios, *Clostridium sp*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, Gram-negativos aerobios *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *E coli*, *Proteus Mirabilis*, *Vulgaris*, *Klebsiella sp*, *Salmonella*, *Shigella*, *bordetella*, *brucellasp*, *neisseria menngitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, anaerobios: *bacterioides* incluyendo *B. Fragilis*<sup>(26)</sup>

Una de las principales ventajas de la asociación del ácido clavulánico con la amoxicilina es que el ácido clavulánico bloquea las enzimas betalactámicas, sometiendo a los microorganismos sensibles al rápido efecto bactericida de la amoxicilina en concentraciones fácilmente alcanzables en el organismo. El ácido clavulónico de por sí tiene baja actividad antimicrobiana, sin embargo en combinación con la amoxicilina su acción se amplió con un

**UTILIDAD DE LA TINCION DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS  
DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.**

mayor rango contra los microorganismos, con cepas resistentes a otros antibióticos. Ya que los niveles séricos de los dos permanecen libres en suero hasta en un 70% <sup>(26)</sup>.

## **FLORA VAGINAL NORMAL EN EL EMBARAZO**

Se ha observado que durante el embarazo los lactobacilos realizan un efecto agonista protector contra los patógenos más comunes del tracto genital y con esto las complicaciones del embarazo como el parto pretérmino. El predominio de lactobacilos y la humedad de la vagina mantienen una producción constante de  $H_2O_2$  y esto a su vez la protege<sup>(11,12)</sup>.

En 1988 Martius y colaboradores reportaron que las mujeres embarazadas y con predominio de lactobacilos vaginales, tenían menos probabilidades de desencadenar un trabajo de parto prematuro, y un producto con bajo peso<sup>(12)</sup>.

La vaginosis citolítica, es una entidad que se reportó en 1991, posterior a un estudio realizado en Boston, por el Dr. Cibley<sup>(7)</sup> en el cual pacientes con sintomatología (leucorrea blanca grumosa, prurito, dispareunia y disuria, los cuales incrementaban en la fase lútea) recurrentes y resistente a tratamiento y denominadas como “infecciones micóticas crónicas” el diagnóstico se realizó por un estudio bacteriológico en el que se

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

encontraban ausentes *candida albicans*, *trichomonas vaginalis* y *gardnerella vaginalis*; se observó un aumento en el tamaño de los lactobacilos y que presentaban una franca mejoría al incrementar el pH de la vagina con duchas vaginal de bicarbonato de Sodio <sup>(7)</sup>.

Los lactobacilos por lo general no son considerados como agentes patógenos a excepción de las caries dentales <sup>(21)</sup>.

## TECNICAS DIAGNOSTICAS:

### ➤ EXAMEN EN FRESCO

Es una prueba confiable y rápida que complementa el diagnóstico clínico y que puede ser más sencilla de efectuar de manera rutinaria en el consultorio del médico general o ginecoobstetra. <sup>(27)</sup>

Se realiza utilizando 1 ml de solución salina al 0.9% y se mezcló con el fluido obtenido del raspado de paredes vaginales.

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

Posteriormente, se colocan unas gotas de esta solución en un portaobjetos y se observa al microscopio de luz a 40X en busca de levaduras, leucocitos, seudomicelios, *Trichomonas vaginales*, eritrocitos, células clave y morfotipos lactobacilares.<sup>(28)</sup>

Para cumplir con la efectividad de esta prueba es condición indispensable que el observador esté adecuadamente, capacitado, ya que puede haber confusión con elementos del fluido vaginal, desechos celulares, filamentos del algodón del hisopo e incluso artefactos que estén presentes en el examen en fresco, como gránulos del talco o polvo.<sup>(27,28)</sup>

Existen trabajos realizados que demuestran que el examen en fresco es una prueba confiable para establecer diagnóstico definitivo de candidiasis vaginal en pacientes que presenten datos clínicos.<sup>(27)</sup>

### ➤ TINCIÓN DE GRAM

Representa una de las técnicas más importantes aplicadas a bacterias ; En teoría se puede dividir en 2 grupos los grampositivos y los gramnegativos

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

En la práctica esto es variable. Numerosas modificaciones ha tenido desde que se desarrollo por primera vez en 1884 por Christian Gram.<sup>(29)</sup>

En esencia las células son teñidas con cristal violeta, luego tratadas con solución de yodine, mordant y luego lavadas con ethanol. Las grampositivas retienen la tinción y las gramnegativas no. <sup>(28,29)</sup>

Para que la diferencia en la tinción sea más obvia entre los 2 resultados las gram positivas se tiñen de tinte rojo y las gramnegativa son más faciles de ver.<sup>(29)</sup>

La reacción de Gram está determinada por la interacción del cristal violeta y yodine y por la integridad y la estructura de la pared celular, más particularmente la arquitectura molecular de los peptidoglucanos <sup>(28,29)</sup>

Las paredes de las células grampositivas no permiten la salida de cristal violeta del citoplasma. En caso de romperse la pared celular por autólisis, o exposición antibióticos ( ej.penicilina) la salida del complejo de tinción convierte a la bacteria en gramnegativa. Por otro lado las bacterias grampositivas pueden verse gramnegativas cuando existe una descoloración

## UTILIDAD DE LA TINCIÓN DE GRAM VS EXAMEN EN FRESCO EN CERVICOVAGINITIS DE REPETICIÓN POR MORFOTIPOS LACTOBACILARES.

en la misma, y dar un falso-positivo. Esto se presenta en la fase máxima estacionaria del crecimiento.<sup>(29)</sup>

Es importante estandarizar la procedimiento tinción de Gram y los dos métodos que dan resultados equivalentes a los de Hucker y Burke.<sup>(29)</sup>

Es importante siempre contar siempre con controles de las medidas de grampositivos y gramnegativos conocidos para evitar menor rango de error.<sup>(29)</sup>

### **Objetivo:**

El presente estudio tuvo por objeto comparar las técnicas de tinción de Gram e identificación en fresco respecto a su utilidad para detectar morfotipos lactobacilares en cervicovaginitis de repetición. Además se estudiaron cuáles factores clínicos y de laboratorio pudieran estar asociados al morfotipo específico de lactobacilos largos. Por último se examinó la tasa de éxito de la utilización de amoxicilina en combinación con ácido clavulónico, como tratamiento para cervicovaginitis de repetición.

### **Hipótesis:**

Las técnicas en fresco y de tinción de Gram de diagnóstico de morfotipos lactobacilares largos tienen concordancia.

Existen factores clínicos o de laboratorio que diferencian al cuadro de lactobacilos largos del de lactobacilos cortos.

La cantidad y longitud de los lactobacilos largos está asociada a alguna o algunas variables clínicas o condiciones de tratamientos previos en los 2 grupos.

La amoxicilina en conjunción con ácido clavulónico es un tratamiento eficaz de la cervicovaginitis recurrente.

### ***Diseño:***

Para la primera parte, se correlacionó el diagnóstico de presencia de morfotipos lactobacilares largos hecho en fresco con el estudio con tinción de Gram.

Para la segunda parte, se examinaron las diferencias entre el grupo con morfotipos lactobacilares largos, con los morfotipos normales (cortos) en cada una de las variables medidas, así como el grado de asociación entre cada una de ellas, tanto en total, como dentro de cada grupo.

El grupo de morfotipos lactobacilares largos no se asoció a la presencia de levaduras, seudomicelios, células clave ni *trichomonas*.

En el caso de la medición de éxito del tratamiento de amoxicilina con ácido clavulónico, se revisó la cantidad de éxitos en los casos de morfotipos largos.

### **Definición de variables:**

Para la primera parte, la variable independiente fue el método de diagnóstico de los morfotipos (en fresco o Gram), y la variable dependiente fue la clasificación como con presencia de morfotipos largos o cortos.

Para la segunda parte, la variable dependiente fue el morfotipo detectado (largo o corto) y las dependientes fueron:

- La edad.
- El tipo de tratamiento recibido antes de la recurrencia, clasificado como micótico, antimicrobiano o mixto.
- La acidez vaginal (ph) en el momento de tomar las muestras.
- Los síntomas, clasificados como *prurito, leucorrea o mixto*.
- El promedio de longitud de los lactobacilos detectados por campo.
- El número de lactobacilos de morfotipo largo encontrados por campo.
- El éxito del tratamiento.

### **Procedimiento:**

En la Clínica de enfermedades de transmisión sexual del departamento de Infectología del Inper , durante el periodo de 01 febrero al 31 de agosto de 1999, se llevó a cabo un trabajo prospectivo, en donde se incluyeron 90 pacientes bajo los criterios de inclusión mencionados, a todas se les realizó una historia clínica, exploración ginecológica con espejo vaginal esterilizado sin lubricante y se tomaron muestras del tercio medio de las paredes laterales de vagina .Se efectuó examen en fresco utilizando 1 ml de solución salina al

0.9% y se mezcló el fluido obtenido del raspado de paredes laterales de vagina.

Posteriormente se colocaron unas gotas de esta solución en un portaobjetos y se observó con el microscopio óptico a 40X en busca de levaduras, leucocitos, seudomicelios, *trichomonas vaginalis*, eritrocitos, células clave y morfotipos bacilares. En el examen en fresco se buscaba un leucocito cercano al morfotipo lactobacilar, ya que un leucocito mide de 8-10µm, y si el morfotipo lactobacilar era 3 o 4 veces mayor al leucocito se incluía en el estudio. Además se realizó un frotis para tinción de gram a partir de espécimen obtenido de las paredes laterales de vagina. Tanto los morfotipos lactobacilares largos como cortos fueron medidos con una reglilla micrométrica (de planimetría) Marca Zeiss. De cada campo se midieron 10 bacilos largos un por cada campo y el número de bacilos encontrados por campo.

La metodología que se utilizó fue la misma basada en las normas de que establece la American Society of Microbiology.

En ese mismo momento se realizó medición del PH por medio de una tira reactiva, así como prueba de KOH (reportándose positiva si se percibía el olor



FOTO. 1 Examen en fresco donde se observan el morfotipo lactobacilar largo contrastando con el tamaño (10um) del lactobacilo de la flora normal (microscopio de luz a 40x).

característico de “pescado podrido”) y en ese momento eran incluidas o excluidas del estudio de acuerdo a

De acuerdo a los hallazgos encontrados, y alas pacientes con sintomatología y presencia de morfotipos lactobacilares largos se les prescribió amoxicilina con ácido clavulónico a dosis de 500mgs Vía Oral cada 8hrs por 7 días.

Posteriormente se citaron y la paciente refería persistencia o remisión del cuadro sintomático y se corroboraba con un examen en fresco la ausencia de morfotipos lactobacilares largos y otros agentes etiológicos. De acuerdo a esto se reportaba a la paciente como sana.

### **Análisis de datos.**

Las comparaciones entre el grupo de bacilos largos con el de cortos se llevó a cabo por medio de la prueba t de Student no pareada en los casos de variables en escala intervalar (edad, ph) y con la prueba  $\chi^2$  de bondad de ajuste en los casos de variables en escala nominal (tratamiento anterior, síntomas).

En los casos de variables en escala intervalar, la correlación entre variables se midió con la r de Pearson con la transformación de r a z de Fisher para calcular la significancia estadística.

En el caso de la correlación de la variable de promedio de longitud por campo con otras, se utilizó la rho de Spearman, dado que al no ser datos crudos, no se puede calcular la varianza, por lo que el uso de esta prueba no paramétrica es lo adecuado.

En todos los casos de análisis, tanto comparaciones como correlaciones, se utilizó un nivel de significancia de  $p < 0.05$ .

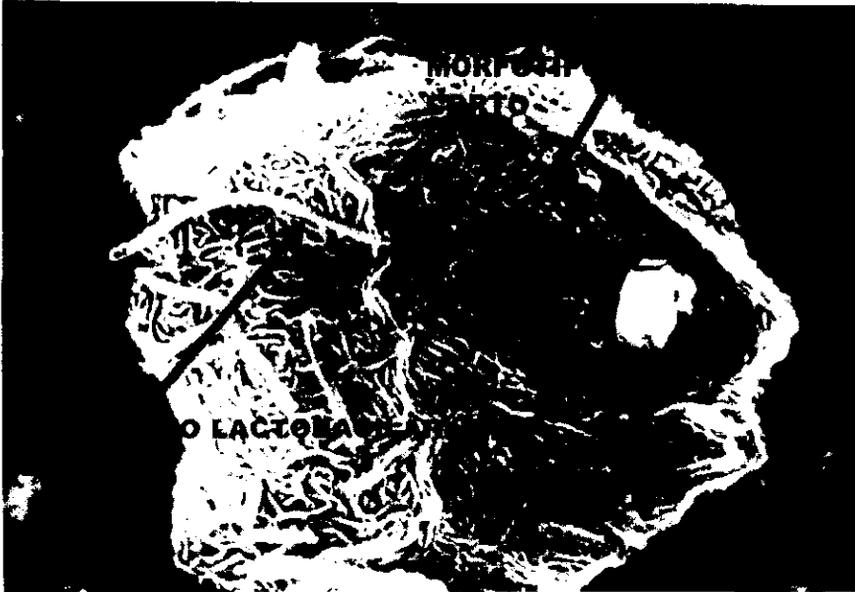


FOTO 2 Se observa el contraste de tamaños de los morfotipos lactobacilares en esta imagen obtenida por microscopía electrónica.



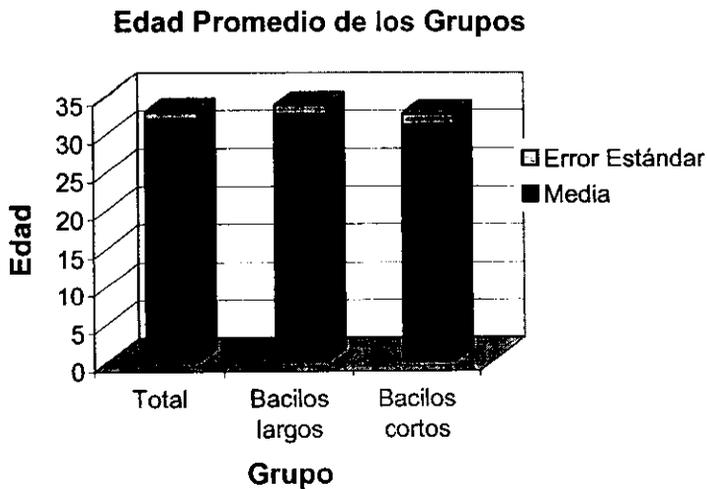
FOTO 3 Tinción de Gram donde se corrobora la presencia de morfotipos lactobacilares largos Gram positivos.

### **Resultados:**

Los resultados de la comparación entre el diagnóstico de morfotipos largos medido en fresco y por tinción de Gram mostraron que en todos los casos hubo concordancia. Por ello no fue posible realizar un análisis estadístico (la varianza fue cero), pero el tamaño de la muestra ( $n=53$ ) es razonablemente grande para poderlo considerar significativo. Por ello se

considera que se encontró un grado muy alto de concordancia entre ambas técnicas

Los grupos con bacilos largos y con bacilos cortos no mostraron diferencias notables ni en la edad (Figura 1), el ph vaginal (Figura 2) ni los síntomas reportados (Figura 3). Los valores descriptivos de estas variables se presentan en las Tablas I, II y III, respectivamente. Las pruebas t de Student no revelaron ninguna diferencia estadísticamente significativa.

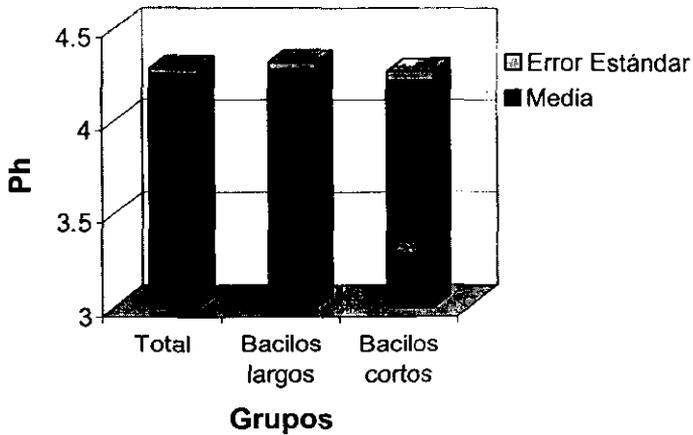


**Figura 1.** Edad promedio y error estándar de la media del total de pacientes estudiadas (n=90), de estas las que presentaron un cuadro de bacilos largos (n=53) y las que presentaron bacilos cortos (n=37).

**Tabla I.** Estadísticas descriptivas de los valores de edad entre los dos grupos medidos.

Grupo	Media	Desviación estándar	Varianza	Mediana
Bacilos largos	32.623	8.233	1.131	31.000
Bacilos cortos	31.162	8.703	1.431	30.000

**Ph promedio de los grupos.**

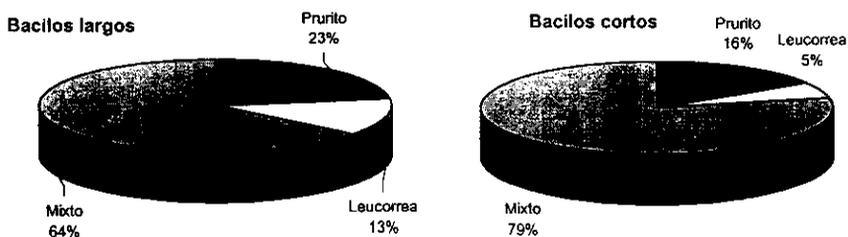


**Figura 2.** Ph vaginal promedio y error estándar de la media del total de pacientes estudiadas (n=90), de estas las que presentaron un cuadro de bacilos largos (n=53) y las que presentaron bacilos cortos (n=37).

**Tabla II.** Estadísticas descriptivas de los valores de ph vaginal entre los dos grupos medidos.

Grupo	Media	Desviación estándar	Varianza	Mediana
Bacilos largos	4.281	.285	.039	4.500
Bacilos cortos	4.216	.344	.057	4.000

**Síntomas reportados en cada condición.**



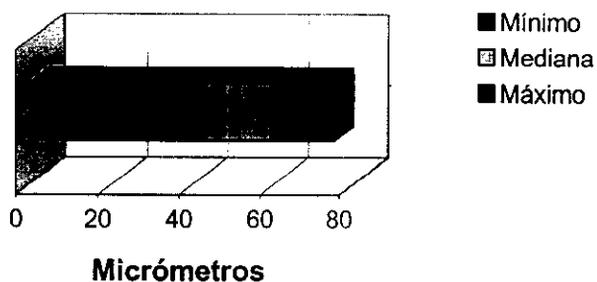
**Figura 3:** Frecuencias relativas de los síntomas reportados por las pacientes al llegar a consulta. Se muestran los valores tanto para el grupo con cuadro de bacilos largos, como el de bacilos cortos.

**Tabla III.** Frecuencias de síntomas entre los dos grupos medidos.

Grupo:	Total		Bacilos largos		Bacilos cortos	
	Cuenta	Porcentaje	Cuenta	Porcentaje	Cuenta	Porcentaje
Prurito	18	20.000	12	22.642	6	16.216
Leucorrea	9	10.000	7	13.208	2	5.405
Mixto	63	70.000	34	64.151	29	78.378

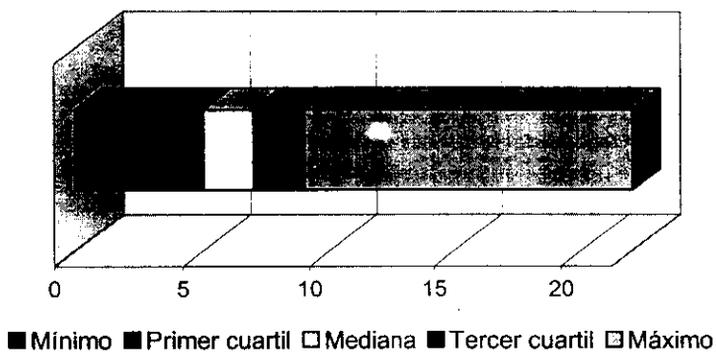
Dentro de las características de los bacilos largos encontrados, se calculó que tuvieron una mediana de longitud de 53 micras (ver Figura 4), y en promedio se encontraron 7.79 bacilos largos por campo, con una desviación estándar de 3.38 (ver Figura 5). Es de notar que algunos bacilos llegaron a medir más de 70 micras, por lo que no se puede suponer que los bacilos largos sean una subpoblación estable con una longitud más alta, sino que parecen ser una serie de organismos anómalos.

### Tamaño de los bacilos largos



**Figura 4.** Longitud y variaciones del promedio de los bacilos observados por campo.

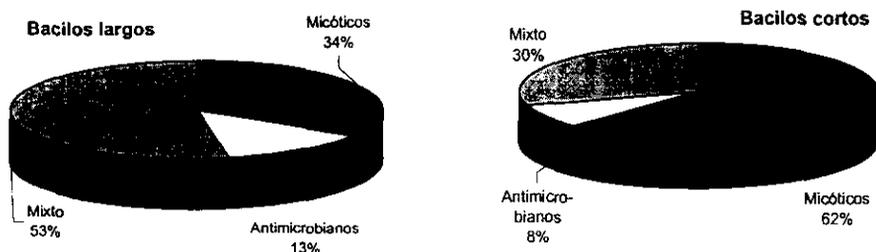
### Número de bacilos largos encontrados por campo.



**Figura 5.** Número total y distribución de bacilos por campo que cumplieron el criterio de largos.

Dentro de las diferencias entre el grupo con morfotipos de lactobacilos largos y el de bacilos cortos, sólo se encontraron estas en el uso de antimicrobianos previos, siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $\chi^2_{(2)} = 6.997$ ;  $p < 0.05$ ). En la Figura 6 se representan gráficamente los datos obtenidos en la Tabla IV para esta variable. Como se puede observar, la diferencia se debe principalmente a que el grupo con bacilos largos recibió primordialmente un tratamiento mixto, mientras que el de bacilos cortos recibió tratamiento mayoritariamente con antimicóticos. En la Figura 7 se representan estas diferencias, corrigiendo para la frecuencia esperada, la cual se calcula tomando al número total de casos que recibieron cada tratamiento particular como 100%. Este procedimiento permite que todos los tratamientos se comparen independientemente de los otros.

**Antibióticos usados en tratamientos previos.**

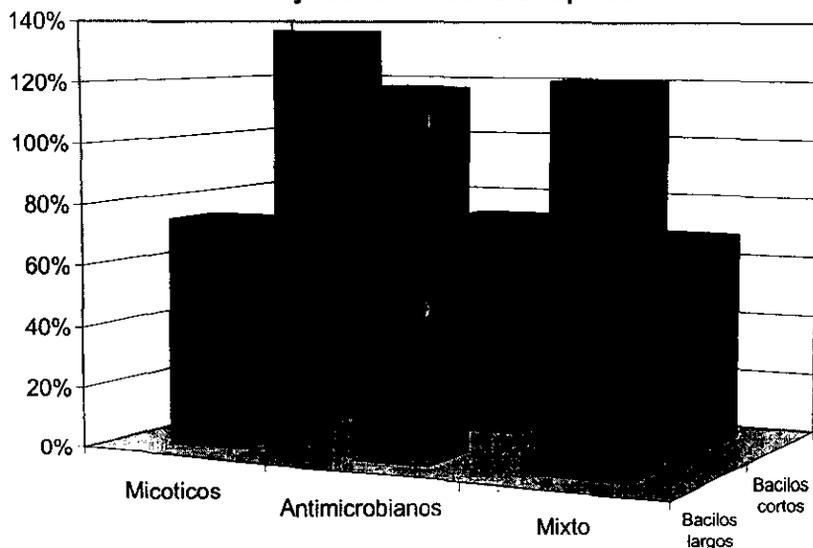


**Figura 6.** Frecuencias relativas de los tratamientos recibidos por las pacientes antes de llegar a consulta por recurrencia. Se muestran los valores tanto para el grupo con cuadro de bacilos largos, como el de bacilos cortos.

**Tabla IV.** Frecuencias de uso de tratamiento a condiciones previas entre los dos grupos medidos. La distribución de frecuencias entre los dos grupos tuvo diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

Grupo:	Total		Bacilos largos		Bacilos cortos	
	Cuenta	Porcentaje	Cuenta	Porcentaje	Cuenta	Porcentaje
Micóticos	41	45.556	18	33.962	23	62.162
Antimicrobianos	10	11.111	7	13.208	3	8.108
Mixto	39	43.333	28	52.830	11	29.730

Uso de antibióticos en tratamientos previos.  
 Porcentaje de la frecuencia esperada.

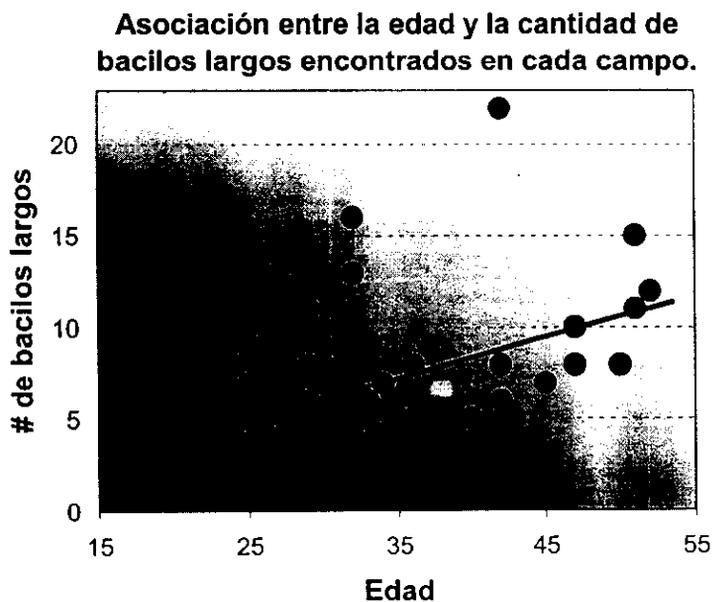


ESTA TESIS NO DEBE  
 SALIR DE LA BIBLIOTECA

**Figura 7.** Porcentajes de la frecuencia esperada corregida para cada tipo de tratamiento, y por cada grupo medido. Para cada tratamiento, la frecuencia sumada de los dos grupos se tomó como 100%. Existen diferencias significativas entre los grupos ( $p < 0.05$ ).

Se encontraron dos pares de variables que tuvieron una correlación estadísticamente significativa. Por un lado se encontró que el número de bacilos largos encontrados por campo se correlaciona positivamente con la edad de la paciente (ver Figura 8). El coeficiente de Pearson de esta correlación fue de  $r = 0.36$ , que aunque es una asociación baja, sí es

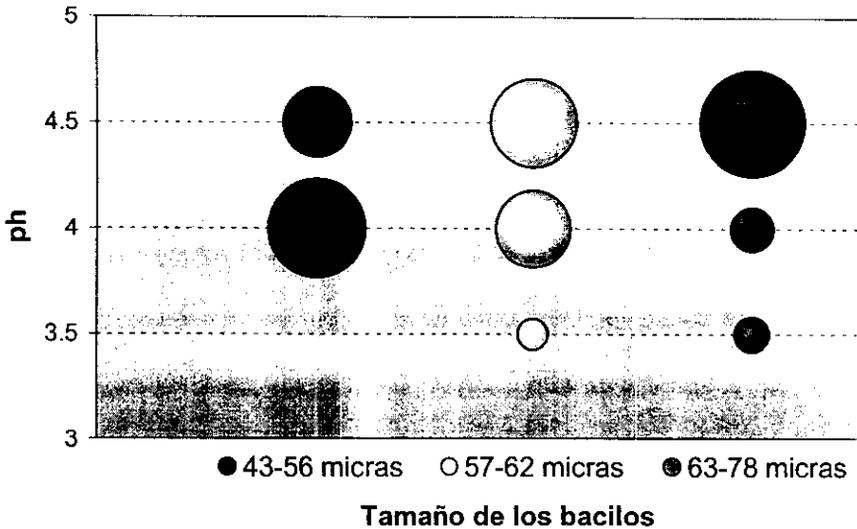
estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ). Por otro lado, la edad no se correlacionó ni con el tamaño de los bacilos ( $\rho$  de Spearman = 0.07) ni con la presencia del cuadro de bacilos largos (ver Figura 1), por lo que se puede suponer que es una asociación que se presenta una vez que el cuadro está presente, por lo que la edad no es un factor de riesgo.



**Figura 8.** Relación entre edad y cantidad de bacilos largos. La recta está definida por  $y = 2.981 + .147 * x$ ;  $r^2 = .128$ .

La segunda correlación estadísticamente significativa fue positiva entre el ph vaginal y la longitud promedio de los bacilos largos. De nuevo esta correlación no fue muy alta ( $\rho = 0.39$ ), pero sí significativa ( $p < 0.01$ ). El ph vaginal no se correlacionó con la edad ( $r$  de Pearson =  $-0.07$ ) ni con el número de bacilos largos por campo ( $r = -0.08$ ); tampoco fue un factor diferencial entre el grupo con cuadro de bacilos largos y el de bacilos cortos (ver Figura 2). Esto indica que no son estos factores los que producen la asociación entre ph y longitud, por lo que la asociación es directa y abre la posibilidad de que exista una relación causal entre ellas. Esta posible relación tendría que explorarse con un diseño experimental distinto al presente. En la Figura 9 se representan las frecuencias de casos tanto de valores específicos de ph, como de longitud indicando la relación entre ellas. En este caso se utilizó esta gráfica puesto que una regresión simple no es adecuada para datos que, como ya se mencionó, deben ser analizados de manera no paramétrica.

**Relación entre el ph vaginal y el tamaño de los bacilos.**



**Figura 9.** Relación ph con el tamaño de los bacilos divididos en intervalos de aproximadamente la misma frecuencia total. El diámetro de los círculos representa la frecuencia relativa (porcentaje del total) en ese punto.

Con respecto al éxito del tratamiento con amoxicilina y ácido clavulónico, se encontró que en el 100% de los casos con cuadro de bacilos largos, este se resolvió con éxito. Dado que la varianza es cero, no es posible calcular las pruebas estadísticas. Sin embargo la muestra es suficientemente grande para

ser representativa, por lo que parece ser un tratamiento adecuado para la cervicovaginitis recurrente por morfotipos lactobacilares largos.

## CONCLUSIONES

- Nuestros resultados nos permiten sugerir una alta confiabilidad entre la tinción de Gram y el examen en fresco para la identificación de la presencia de morfotipos lactobacilares largos (40 a 80um) en cervicovaginitis de repetición.
  
- Los grupos con bacilos largos y con los bacilos cortos no mostraron diferencias notables ni en la edad, Ph, ni en la sintomatología mostrada. El grupo con morfotipos lactobacilares largos un 64% presentó prurito y leucorrea es decir, un cuadro similar a una candidiasis, pero que coincide el tamaño de los bacilos teñidos en Gram con los observados en el examen en fresco.
  
- Dentro del grupo de los morfotipos lactobacilares largos se encontró una mediana de longitud de 53 micras y en promedio 7.79 bacilos largos por

campo. Es de notar que algunos bacilos llegaron a medir más de 70 micras, por lo que no se puede suponer que los bacilos largos sean una subpoblación estable con una longitud más alta, sino que parecen ser una serie de organismos anómalos.

- El antecedente de uso de antimicrobianos y antimicóticos en las pacientes con morfotipos lactobacilares largos mostró una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo de bacilos cortos. Es decir que es probable que las pacientes multitratadas pudieran favorecer la presencia de morfotipos lactobacilares largos. Esta posibilidad ha ocurrido en otras bacterias como la *E. Coli* en presencia de cinoxacina y los *bacteriodes Fragilis* en presencia de metronidazol y Tinidazol. (24, 25)
  
- Con respecto al éxito del tratamiento con amoxicilina y ácido clavulónico, se encontró que en el 100% de los casos con cuadro de bacilos largos, este se resolvió con éxito. Dado que la varianza es cero, no es posible calcular las pruebas estadísticas. Sin embargo la muestra es suficientemente grande para ser representativa, por lo que parece ser un tratamiento adecuado para cervicovaginitis de repetición por morfotipos lactobacilares largos.

## COMENTARIO

Sería conveniente en un futuro realizar un estudio de aislamiento y cultivo de los bacilos largos asociados con cervicovaginitis de repetición para su tipificación.

Otros de los puntos convenientes para estudiar será el comparar la sensibilidad de tratamientos alternativos en pacientes que resulten ser alérgicas a penicilinas.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.- Narciso R, MLF y col: **Etiology of cervico-vaginal infection in pregnant patients and non pregnant: patients.** *Ginec. Obstet Mex* 1989; 57: 41-46.
- 2.- Holmes KK: **lower genital tract infections in women: cystitis, urethritis, vulvovaginitis and cervicitis.** En: Holmes KK, Mardh Per A, Sparling FP, Wiesner PJ (eds): *Sexually transmitted diseases.* McGraw Hill Book Co. New York, NY. 1984: 557-588.
- 3.- Blanc B., Boubli L. "**Patología de la vagina**" en *Ginecología*, 2da. Ed., Mosby/Doyma libros Madrid, España .1994; 50-59.
- 4.- Horowitz B., Per-Anders M., "**Vaginal lactobacillosis**". *Am J Obstet Gynecol* 1994;170:857-61.
- 5.- Borchardt K., Noble M., "**Bacterial vaginosis**" en: Sexually Transmitted Diseases, Epidemiology, Pathology, Diagnosis, and Treatment, Ed. CRC Press, Boca Raton, New York, 1997: 4-39.
- 6.- Butler B., Beakley J., "**Bacterial flora in vaginitis**". *Am J Obst. and Gynec.* 1960; 79(3):432-40.
- 7.- Cibley L., "**Cytolytic vaginosis**"., *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1245-9.
- 8.- Dexeus S., "**Fisiología del aparato genital**" en *Tratado de Ginecología.* Ed. Salvat, Barcelona, España. 1973:53-6
- 9.- Eschenbach D., Davick P., Williams B., Klebanoff S., "**Prevalence of Hydrogen Peroxide-Producing Lactobacillus Species in Normal Women with Bacterial Vaginosis**". *Journal of Clinical Microbiology.* 1989; 27(2):251-6.
- 10.- Hillier S., Krohn M., Klebanoff S., Eschenbach D., "**The Relationship of Hydrogen Peroxide-Producing Lactobacilli to Bacterial Vaginosis and Genital Microflora in Pregnant Women**"., *Obstet Gynecol* 1992;79:369-73.

- 11.- Rogosa M., Sharpe E., "**Species Differentiation of Human Vaginal *Lactobacilli***", *J. Gen. Microbiol.* 1960; 2: 197-201.
- 12.- Holmes K., Mårdh P., Sparling P., Lemon S., Stamm W., Piot P., "**Normal vaginal flora**" en: *Sexually Transmitted Diseases, 3era. Edición, Ed. McGraw-Hill New York, USA.1999 :191-203.*
- 13.- Cohen M., Weber R., Mårdh P., "**Genitourinary mucosal defenses**" en *Sexually Transmitted Diseases, 2da. Edición Ed. McGraw-Hill New York, USA.1990 :117-125.*
- 14.- Hughes V., Hillier S., "**Microbiologic Characteristics of *Lactobacillus* Products Used for Colonization of the Vagina**", *Obstet Gynecol* 1990; 75:244,
- 15.- Skarin A., Sylwan J., "**Vaginal Lactobacilli Inhibiting Growth of Gardnerella Vaginalis, Mobiluncus and other Bacterial Species Cultured from Vaginal Content of Women with Bacterial Vaginosis**", *Acta path. Microbiol. immunol. scand. Sect. B,* 1986; 94: 399-403.
- 16.- Mandell G., Bennett J., Dolin R., "**Vulvovaginitis and Cervicitis**", en *Principles and Practice of Infectious Diseases, 4ta. Edición, Ed. Churchill Livingstone New York, USA: 1990:1074-1075.*
- 17.- Mroczkowski T., "**Vaginitis/Vulvovaginitis**", en *Topics in Clinical Dermatology Sexually Transmitted Diseases., Ed. Igaku-Shoin, New York 1990:84-101*
- 18.- Wreater D., Hirsch A., Mattick A., "**Possible Identity of 'Lactobacillin' with Hydrogen Peroxide produced by Lactobacilli**", *Nature,* 1952;170:623-624
- 19.- Nagy E., Fröman G., Mårdh P., "**Fibronectin binding of Lactobacillus species isolated from women with and without bacterial vaginosis**", *J. Med. Microbiol.* 1992;37:38-42

- 20.- Sobel J, Schneideer J, Kaye D, Levison M- **“adherence of Bacteria to vaginal epithelial cells at various times in the menstrual cycle.”** *Infection and Immunity* 1981;32:194-7.
- 21.- Stewart T **“Evidence that vaginal lactobacilli do not ferment glycogen”***Am J Obstet and Gynec* 1964; 88(5):676-679.
- 22.- Wylie J ,Henderson A. **“identity and glycogen-fermenting ability of lactobacilli isolated from the vagina of pregnant women “** *J Med. Microbiol* 1973;6:281-6.
- 23.- Wood J, Sweet R, Caatena A, Hadley K, Robbie M. **“ In vitro adherence of lactobacillus species to vaginal epithelial cells.”***Am J Obstet Gynecol* 1985;153:740-3.
- 24.- Sharin A, Mardh A **“Scanning Electron microscopic examination of Bacteroides fragilis and Gardnerella vaginalis after exposure to concentration gradients of Metronidazole and Tinidazole.”***Scand J Infect Dis Suppl* 1981;26:54-9.
- 25.- Mardh A, Arhammer M. **“Microcalorimetric investigation of the action of cinoxacin against Escherichia Coli ”.** *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 1978 ;3: 73-78.
- 26.- Wilson JM, Hunter PA. **“ Comparative antibacterial effects of Amoxicillin, Amoxicillin/ Clavulanic Acid and Cefotaxime against Enterobacteriaceae as Determinad by Turbidimetry, Morphology and viable count”.** *Chemotherapy* 1986 ;32:118-125.
- 27.- Casanova R, Narcio M, Ortiz J, Beltran M , Castelazo E. **“ Utilidad del examen en fresco para el diagnóstico de candidiasis vaginal.”** *Ginec Obstet Mex* 1997;65:87-91.
- 28.- Isenberg H. **“Gram Stain”** en : *Essential proceducers for clinical microbiology.* Ed Asm Press Washington, DC. 1998: 39-50.
- 29.- Gerahardt P, Murray R, Wood W, Krieg N. **“wet mounts and Gram stain”** en : *Methods for general and molecular Bacteriology.* Ed. Asm Press , Washington, D.C. 1994:26-32.