



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

FRECUENCIA DE AISLADOS DE *Actinomyces israelii* EN
DISPOSITIVOS INTRAUTERINOS DE USO CRÓNICO REMOVIDOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA-BIÓLOGA

P R E S E N T A

ANA PATRICIA RAMÍREZ GALVÁN



MÉXICO, D.F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Gutiérrez Ramos Abel**

VOCAL: **Profesor: Bonifaz Trujillo José Alexandro**

SECRETARIO: **Profesor: González Ibarra Misael**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Camacho Cruz Alejandro**

2° SUPLENTE: **Profesor: Araiza Santibáñez Javier**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Hospital General de México "Eduardo Liceaga". Unidad 109, Dermatología.
Laboratorio de Micología

ASESOR DEL TEMA:

Q.F.B José Alexandro Bonifaz Trujillo

SUSTENTANTE:

Ana Patricia Ramírez Galván



ÍNDICE

CAPÍTULO 1	1
MARCO TEÓRICO	1
1.- RESUMEN	2
2.- ANTECEDENTES.....	3
3.- INTRODUCCIÓN	6
3.1 Género <i>Actinomyces</i>	6
3.2 Actinomicosis	8
3.2.1 Generalidades	8
3.2.2 Aspectos clínicos	8
3.2.3 Patogenia	10
3.2.4 Diagnóstico	11
3.2.4 Tratamiento de actinomicosis.	13
3.3 Dispositivos intrauterinos.	13
3.3.1 Tipos de dispositivos intrauterinos	14
3.3.2 Mecanismo de acción del DIU	15
3.3.3 Efectos adversos del DIU	17
4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
5.- JUSTIFICACIÓN.....	19
6.- HIPÓTESIS.....	20
7.- OBJETIVOS.....	21
CAPÍTULO 2	22
METODOLOGÍA	22
8.- METODOLOGÍA	23
8.1 Población y tamaño de la muestra	23
8.2 Criterios de inclusión.....	23
8.3 Criterios de exclusión	23
8.4 Criterios de no inclusión.....	23
8.5 Procedimiento	24
CAPÍTULO 3	27
RESULTADOS9.- RESULTADOS	27
CAPÍTULO 4	32
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
10.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	32
CAPÍTULO 5	40
CONCLUSIONES	40
11.- CONCLUSIONES.....	41
12.- ANEXOS	42



12.1 Técnica de la tinción de Gram	42
12.2 Técnica de la tinción de Zielh Neelsen	42
12.3 Técnica para la identificación de las especies de Candida	43
12.4 Equipo.....	44
12.5 Medios de cultivo.....	45
13. REFERENCIAS.....	49



CAPÍTULO 1

Marco Teórico



1.- RESUMEN

Actinomyces israelii es parte de la flora normal, es el principal agente causal de la actinomicosis, es una enfermedad crónica granulomatosa que se caracteriza por generar aumento de volumen, deformación del área afectada y se acompaña de abscesos y trayectos fistulosos de donde drena un exudado purulento que contiene las formas parasitarias denominadas granos. La actinomicosis cérvico-uterina puede ser favorecida por el uso crónico de dispositivo intrauterino (DIU), que aprovecha la reacción inflamatoria producida por este agente extraño; además cuanto mayor sea el tiempo de uso de DIU, aumenta el riesgo de desarrollar actinomicosis. Recientemente se ha observado en usuarias de DIU enfermedades causadas por microorganismos oportunistas, como los diversos tipos de *Actinomyces*, éstos son anaerobios en forma de clava, microfilamentos, ramificados, Gram positivos.

Los dispositivos intrauterinos son métodos anticonceptivos de barrera y su mecanismo de acción no está definido por completo, se tiene la teoría más aceptada que es impedir la implantación del blastocito por inflamación del endometrio produciendo rechazo al cuerpo extraño.

De acuerdo con los reportes encontrados en la literatura, es importante evaluar si la presencia del DIU de manera crónica permite un mayor desarrollo de *A. israelii*, antes de que se presente la actinomicosis.



2.- ANTECEDENTES

En últimas fechas se ha observado en las mujeres usuarias de DIU enfermedades causadas por microorganismos oportunistas, éste es el caso de *Actinomyces* que aprovecha la reacción inflamatoria producida por el DIU generada por el constante contacto con el polietileno, el cual pasa de ser un comensal del tracto genital, y se convierte en un patógeno oportunista. Dentro de esta población encontramos específicamente que la especie que se observa con mayor frecuencia es *Actinomyces israelii*.¹

Los reportes en donde se ha estudiado a este agente datan del año de 1845, donde por primera vez mencionan a *Actinomyces* observado en lesiones en ganado vacuno, reportado en los trabajos de Von Dangebec y Bollinger quienes observaron los granos y determinaron el origen “micósico”, aunque el agente causal no se obtuvo en medio de cultivo, fue denominado *Actinomyces bovis* y es en 1883 cuando el australiano Zemman hace el estudio de la patogenicidad en tracto genital. Para 1973 Henderson describió la actinomicosis pélvico uterina por uso de dispositivo intrauterino la cual estaba relacionada en pacientes que lo utilizaban durante más de tres años.^{1,2}

La prevalencia de *Actinomyces israelii* entre usuarias de DIU oscilan entre el 5 % (en pacientes hospitalizadas al 16% en población en general). Se realizó un estudio importante en India para determinar la prevalencia de *Actinomyces israelii* en usuarias de DIU's y el resultado fue de 2.8 % de 350 muestras, la cual se confirmó por inmunofluorescencia. Este mismo patrón se mantiene en Sudán y Kuwait.³

Los diferentes tipos de DIU's producen cambios bioquímicos, histopatológicos y celulares en el endometrio en el fluido uterino; además generan muchos efectos secundarios indeseables que estimulan la formación de prostaglandinas dentro del útero.¹



Se ha reportado en la literatura que el cobre liberado por estos dispositivos, tiene un efecto inhibitor sobre el metabolismo de las células endometriales y altera la actividad de la fosfatasa alcalina y la β -glucosidasa.¹

El DIU es un factor que favorece el desarrollo de *Actinomyces*; además cuanto mayor sea el tiempo de su uso aumenta el riesgo de desarrollar actinomicosis, la frecuencia de colonización aumenta en forma exponencial desde la inserción de éste, especialmente después de los 4 años.¹

Se ha calculado que existen alrededor de 22 millones de mujeres usuarias de este método anticonceptivo, principalmente en países subdesarrollados de América Latina.¹ En México, el DIU es el anticonceptivo de barrera más utilizado entre las mujeres, ya que tiene a nivel nacional entre 20 y 30 por ciento de aceptación, esto informado por el Departamento de planificación familiar del Instituto nacional de Perinatología (INPER) de la Secretaría de Salud.⁴

La colonización por *Actinomyces* del tracto genital femenino, está directamente relacionada con el periodo de tiempo que el DIU ha estado inserto.⁵ La mayoría de los autores⁴ asocia que la incidencia de colonización se encuentra en función del modelo de dispositivo, parece ser que ésta es menor en los dispositivos de cobre y mayor en los de plástico, posiblemente por la acción bactericida que el cobre ejerce, sin embargo en estudios recientes relacionan la colonización genital por *Actinomyces* con dispositivos intrauterino de alta carga de cobre.⁵

Debido a que *Actinomyces* necesita condiciones muy específicas para su desarrollo, el cultivo es un recurso poco utilizado para comprobar la presencia del microorganismo, lo que explica el bajo porcentaje de cultivos positivos en este tipo de estudios.⁵

La actinomicosis presenta diversas formas clínicas, siendo la principal la forma pélvica, asociada ésta última en la mayoría de los casos (56.5%) al uso de DIU, aunque el crecimiento de este microorganismo en los medios de cultivo adecuados es del 2.7%.⁵



Microorganismos del género *Actinomyces* son más frecuentemente detectados en muestras para Papanicolau o muestras cérvico-vaginales, se han realizado estudios en el cual se comparó mujeres con y sin dispositivo intrauterino y cabe mencionar que no hubo diferencias estadísticamente significantes en frecuencia de colonización. Ninguna mujer que presentó colonización por *Actinomyces* desarrolló actinomicosis; lo que indica que su presencia no forzosamente dará la infección.⁶



3.- INTRODUCCIÓN

3.1 Género *Actinomyces*

El género *Actinomyces* está integrado por bacterias anaerobias, causantes de actinomicosis. Las bacterias que se han informado como agentes causales de actinomicosis humana son: *Actinomycesis raelii* (*A. israelii*) siendo éste el principal agente, *A. naeslundii*, *A. odontolyticus*, *A. gerencseriae*, *A. viscosus*, *A. meyeri*, *A. georgiae*, *A. neuii* subespecie *neuii*, *Propionibacterium propionicum* y *Bifidobacterium dentium*, estos microorganismos son considerados como bacterias filamentosas y pertenecen al orden *Actinomycetales* y familia *Actinomycetaceae*.⁷

Tabla 1. Características fisiológicas de los principales agentes del género *Actinomyces*⁸

Propiedades	<i>A. bovis</i>	<i>A. israelii</i>	<i>A. meyeri</i>	<i>A. naeslundii</i>	<i>A. viscosus</i>
Almidón (hidrólisis)	+	-	-	-	-
Catalasa	-	-	-	-	+
Nitratos (reducción)	+	±	-	+	+
Producción de ácido propiónico	-	-	-	-	-
Fermentación de carbohidratos					
Glucosa	+	+	+	+	+
Manitol	-	±	-	-	-
Manosa	±	+	+	+	+
Sacarosa	+	+	+	+	+
Ribosa	-	+	+	±	±
Xilosa	±	+	+	-	-



Estas bacterias son parte de la microbiota normal de la boca y muchas de ellas se pueden encontrar en el aparato genitourinario. *A. israelii* es la especie más común en actinomicosis, aún y cuando ésta entidad clínica es poco frecuente.

Las células de *A. israelii* son bacilos Gram positivos, no ácido-alcohol resistentes, no-esporulados, no-capsulados e inmóviles que por lo general miden de 1µm de diámetro, pero muy variables en longitud. Las células pueden ser bacilos difteroides cortos, en forma de clava, microfilamentos ramificados o no ramificados. En agar sangre a menudo desarrollan colonias rugosas compuestas por bacilos ramificados o microfilamentosos.⁹ *A. israelii* consta de dos serotipos que cuando las colonias son jóvenes (de 2 a 3 días) y se observan con microscopio de disección, aparecen como filamentos radiados delgados conocidos como “colonias de arañas”. Cuando las colonias alcanzan los 7 a 14 días de incubación, a menudo son elevadas, apiladas, blancas, opalescentes y brillantes; tienen bordes irregulares o lobulares, y se llaman colonias en forma “molar”. Sin embargo, las cepas lisas pueden producir colonias de 1 a 2 mm de diámetro, circulares ligeramente elevadas, blancas, opalescentes, lisas, brillantes, después de sólo 2 a 3 días de incubación. Básicamente para diferenciar a estos dos serotipos de *A. israelii* basta con realizar la fermentación de arabinosa, la cual es positiva para el serotipo 1. Ambas cepas tienen los mismos requerimientos de oxígeno y son negativas para las pruebas de catalasa, Indol, ureasa y licuefacción de la gelatina.¹⁰ *A. naeslundii* también puede producir colonias lisas o rugosas. Las colonias de *A. viscosus* son en su mayoría de 0.5 a 2 mm de diámetro, enteras, convexas, grisáceas y traslúcidas. En las colonias de *A. odontolyticus* puede aparecer un color rojo en agar sangre después de 7 a 14 días de incubación anaerobia o después de que las placas se han dejado al aire y a la temperatura ambiente durante varios días.⁹

Actinomyces son organismos quimiorganótrofos, ciertos carbohidratos son fermentados, dando como resultado la producción de ácido y no de gas. Los productos finales de dicha fermentación pueden incluir ácido acético, fórmico, láctico y succínico, pero no ácido propiónico.¹¹



La microscopía electrónica revela que *Actinomyces israelii* posee fimbrias que juegan un papel importante en el desarrollo de la actinomicosis, ya que estas estructuras que se encuentran en una capa gruesa difusa superficial de la célula se adhieren a los tejidos del hospedero, con éstas el microorganismo es capaz de crear colonias cohesivas que evaden las defensas del hospedero.¹²

Actinomyces es un microorganismo capaz de formar biopelículas, mecanismo que también le permite, generar resistencia frente a la acción de los agentes antimicrobianos y a los fagocitos del hospedero. Estas estructuras están integradas por exopolisacáridos producidos por la bacteria.¹³

3.2 Actinomicosis

3.2.1 Generalidades

La actinomicosis es una enfermedad crónica granulomatosa en la cual el principal agente etiológico es *Actinomyces israelii*, aunque también puede ser causada por bacterias como *Propionibacterium*, *Bifidobacterium* y *Rothia*, del género *Actinomyces* en menor proporción se aíslan *A. naeslundii*, *A. odontolyticus* y *A. meyeri*. Es considerada una seudomicosis oportunista debido a que el agente etiológico a pesar de que es una bacteria, tiene gran similitud con los hongos debido a la formación de filamentos. La actinomicosis se caracteriza por generar un aumento de volumen, deformación de la parte afectada y se acompaña de abscesos y trayectos fistulosos, de donde se drena exudado purulento y en el cual podemos hallar las formas parasitarias conocidas como “gránulos de azufre” y en las biopsias que son obtenidas por aspiración y teñidas con hematoxilina y eosina (H y E) se puede encontrar un infiltrado denso de linfocitos, células plasmáticas, histiocitos espumosos, polimorfonucleares y los gránulos de azufre.^{1,8}

3.2.2 Aspectos clínicos



Existen diversas formas clínicas: cérvico-facial, torácica o pulmonar, abdominal, pélvico uterina, miscelánea, cutánea primaria, cerebral y diseminada

Los tres variedades clínicas más frecuentes son: facial, torácica y abdominal. Las especies de *Actinomyces* son especies patógenas oportunistas y normalmente no cruzan las mucosas.¹⁴

Para cada variedad clínica existen factores de predisposición que conllevan a desarrollar la enfermedad, la cérvico facial puede ser debida a la falta de higiene bucal, caries dentarias, enfermedades periodontales, traumatismos y cirugías maxilares. En el caso de la variedad abdominal pélvico-uterina los antecedentes más frecuentes suelen ser traumatismos, manipulaciones endoscópicas, intervenciones quirúrgicas y una muy importante que ha sido conocida de ya tiempo atrás la asociación con el uso crónico de DIU.

El inicio del cuadro de actinomicosis pélvico-uterina es mórbido y la sintomatología que refieren las usuarias de DIU puede ser muy variable, éste puede comenzar con estreñimiento, náuseas y vómito, y después generar un ataque al estado general que va acompañado de intenso dolor abdominal, fiebre, diaforesis nocturna, astenia y pérdida de peso. En la exploración se puede encontrar masas pélvicas a nivel de la fosa ilíaca.⁸

La detección de *Actinomyces* en el tracto genital femenino no conlleva a un mayor riesgo de desarrollar actinomicosis, aun cuando se trate de portadoras de DIU, la incidencia de colonización se encuentra en función del modelo del dispositivo y el tiempo de inserción de este método anticonceptivo.⁵ Sin embargo, existen diversos factores por los cuales *Actinomyces* coloniza el tracto genital a pesar de que se sea usuaria de DIU, los cuales pueden ser desde el contacto bucogenital y esta se acepta como probable vía ascendente para el microorganismo e incluso se puede asociar la abundante flora polimicrobiana que incluye diferentes géneros entre ellos: *Bacteroides*, *Arachnia*, *Fusobacterium*, *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacteria* y *Gardnerella*. Es importante señalar que en individuos con diabetes esta flora se puede modificar y predisponer a otro tipo de micosis como la candidosis.¹⁵ Otra causa de alteraciones a este



ecosistema puede ser determinada por el uso de anticonceptivos sobre todo los de barrera: diafragma y DIU.

3.2.3 Patogenia

La actinomicosis se inicia de manera endógena ya que los microorganismos causantes son flora habitual, éstos se incrementan cuando hay un medio favorable para su desarrollo, como es tener un ambiente con anaerobiosis o microaerofilia.⁸

La actinomicosis pélvica-uterina se puede iniciar en el útero, en el cérvix o vagina, como ya se había mencionado la causa más frecuente para que se desarrolle esta entidad es la presencia de un DIU, el sistema inmune lo reconoce como cuerpo extraño y este causa una reacción inflamatoria que provoca un medio anaeróbico, ideal para el desarrollo de *Actinomyces*. La colonización de este actinomiceto también se puede ocasionar por relaciones sexuales orogenitales; asimismo se asocia con abortos sépticos y material de sutura retenido.¹⁶

El cuadro de actinomicosis pélvica-uterina primero comienza con inflamación aguda en el sitio de infección, al llegar a su fase crónica las lesiones suelen aparecer induradas ya sea individuales o múltiples. Las paredes de estas lesiones se muestran con fibrosis, comúnmente llamada también “leñosas”. Conforme la enfermedad evoluciona se forman conductos fistulosos que se abren hacia la piel, órganos o incluso los huesos.^{8,16}

Dependiendo del estado inmune del paciente, se puede generar un cuadro diseminado de mal pronóstico el cual se puede extender a diversos órganos internos, incluyendo el cerebro.⁸

Cuando las especies de *Actinomyces* comienzan a colonizar las mucosas y empieza la infección puede surgir una endometritis o cervicitis asociada infrecuentemente a dolor en hipogastrio, la cual va seguida de la formación de abscesos tubo-ováricos que suele coincidir con la intensificación de dolor hacia ambas fosas ilíacas. Posteriormente, se detectará una masa pélvica que puede afectar a la vejiga y los uréteres produciendo hidronefrosis. En ocasiones incluso llega a afectar a la zona rectal y a la pared abdominal formando abscesos o masas



infiltrativas lo que provoca acudir como parte del tratamiento a las cirugías para su retiro.¹⁶

Un dato importante es que se ha descrito una asociación entre actinomicosis y enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), la cual se caracteriza por desórdenes inflamatorios del tracto superior femenino, el cual incluye datos de endometritis, salpingitis y la formación de abscesos tubo-ováricos y peritonitis pélvica, la cual se origina a partir de un foco inicial de actinomicosis. En la actualidad el uso del DIU se considera un factor importante para desarrollar EPI, principalmente durante el primer mes posterior a la inserción del DIU debido a que permite el ascenso de microorganismos, una vez pasado este tiempo, rara vez genera EPI. La principal causa para generar EPI son las enfermedades de transmisión sexual (ETS), principalmente las relacionadas con infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.^{17-19.}

Antiguamente se decía que el tener actinomicosis podría desarrollar enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) que se puede definir por desórdenes inflamatorios del tracto superior femenino que incluye la endometritis, salpingitis, y la formación de abscesos tubo-ováricos y peritonitis pélvica que genera la extensión local de la actinomicosis sin embargo, en la actualidad el uso de DIU es un factor importante para desarrollar este padecimiento, porque permite el ascenso de microorganismos, pero hay que considerar que esto ocurre sólo el primer mes después de la inserción de DIU, después de este es muy rara la vez que se presente.^{17-19.}

Por otra parte, los tratamientos de larga duración con antibióticos de amplio espectro que alteran la acción protectora de los lactobacilos favorecen el crecimiento de otras bacterias y de *Candida albicans*.⁴

3.2.4 Diagnóstico



El diagnóstico de laboratorio puede ser relativamente fácil cuando se tiene una alta sospecha clínica de que se trata de una actinomicosis, con la ayuda de exámenes directos y tinciones o un estudio histopatológico.

El examen directo se realiza a partir de la toma del material seropurulento que drena de las fistulas que se presentan, este material se coloca en un portaobjetos y se le agrega una gota de lugol, a simple vista se pueden observar las formas parasitarias denominadas “granos, que también se describen como “granos de azufre”, estos llegan a medir hasta 3 mm, los cuales son masas compactas de filamentos microsifonados, algunos presentan clavav en la periferia.

Una prueba diferencial importante consiste en realizar a los granos obtenidos de las lesiones, una tinción de Zielh Nielsen o Kinyoun para diferenciar entre granos de *Nocardia* y los de *Actinomyces* debido a que estos últimos no son ácido-alcohol-resistentes (AAR).⁸

La tinción de Gram es de gran utilidad para complementar el diagnóstico de la enfermedad, *Actinomyces israelii* forma granos que toman el colorante de Gram. (G+).^x Las tinciones más realizadas son Hematoxilina y Eosina (H&E), Giemsa y Grocott para poder observar los granos en biopsias que al igual son de gran utilidad, estos se van a observar de tamaño variable (50-3000 μ m), basófilos, multilobulados y algunas veces con proyecciones o clavav en la periferia.^{xx}

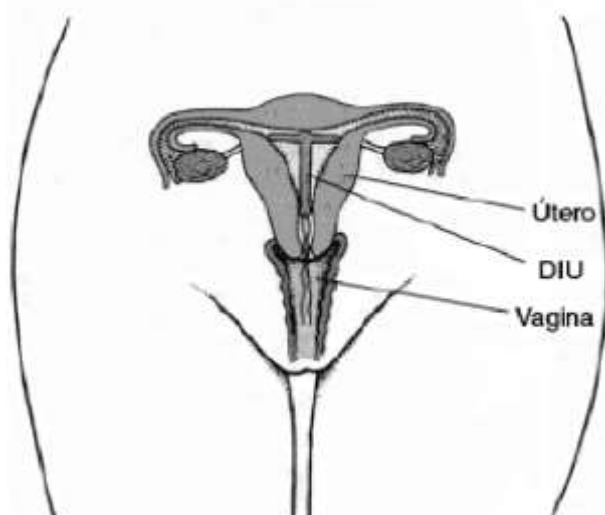
Los cultivos son de gran utilidad, se deben hacer siempre en condiciones de anaerobiosis o microaerofilia (con una concentración de CO₂ que varía entre 5% y 9%), tioglicolato, agar sangre o gelosa de Brewer y se incuban a 37°C, por 10 a 15 días, sin embargo, en diversos estudios los métodos de detección de actinomicosis más recomendados son los estudios con inmunofluorescencia indirecta utilizando anticuerpos a *Actinomyces israelii*, que son más sensibles y específicos que la observación de los granos y el cultivo. Algunos autores refieren la identificación de este actinomiceto a través de cromatografía de gases, aunque con esta técnica no se identifica plenamente la especie.^{4,20}



En cuanto a la detección de *Actinomyces spp.*, puede realizarse en secreciones cérvico-vaginales, haciendo un extendido del mismo y tiñendo con la técnica de Papanicolau, y debido a que ésta es una tinción rutinaria, es la que da más resultados positivos en el diagnóstico .⁴

3.2.4 Tratamiento de actinomicosis.

El tratamiento de elección para la actinomicosis es a base de penicilina; la dosis depende de la variedad clínica, pero la terapia comienza administrando de 30 a 50 millones de unidades de penicilina procaínica aproximadamente 40 días y se completa el tratamiento con penicilina benzatínica a dosis de 1 200 000 unidades por semana hasta llegar de 50 a 100 millones. Otras opciones en caso de no obtener respuesta terapéutica adecuada o presentar hipersensibilidad inmediata mediada por anticuerpos IgE son sulfas, tetraciclina, clindamicina, amoxicilina/clavulanato.⁸



3.3 Dispositivos intrauterinos.

Los métodos anticonceptivos son aquellos que se utilizan para impedir la capacidad reproductiva de un individuo o una pareja en forma temporal o permanente.²¹

El DIU es un elemento sólido que se coloca en la cavidad endometrial, a manera de cuerpo extraño con fin anticonceptivo de carácter temporal; su inserción es mucho más efectiva que el uso de anticoncepción de emergencia hormonal, ya que reduce el riesgo de embarazo a consecuencia de las relaciones sexuales sin protección en más del 99 %.²²

Figura 1. Posición del dispositivo intrauterino en la cavidad uterina.

A través del tiempo se han desarrollado una mejora de este tipo de anticonceptivo de barrera y esto debido a que los modelos anteriores causaban con más frecuencia infecciones bacterianas. En general es un producto elaborado con polietileno, el cual está impregnado con sulfato de bario que es radio-opaco para ser detectado fácilmente por los rayos X.²³

3.3.1 Tipos de dispositivos intrauterinos

Este tipo de métodos anticonceptivos existen desde la década de 1920, el asa de Lippes que es de los primeros que se desarrollaron, es un dispositivo en forma de S, (1962) con hilos de nylon que se exteriorizaban por el cuello uterino para facilitar la extracción, el escudo de Dalkon tiene espículas laterales sobresalientes para impedir su expulsión; se retiró del mercado por que originó con frecuencia infecciones pélvicas, aborto séptico, infertilidad, embarazo ectópico, etc.²³

Existen dispositivos intrauterinos hormonales que comúnmente se le conoce como Mirena®, es un endoconceptivo, un sistema de liberación intrauterina de levonorgestrel que se encuentra en un núcleo cubierta de una membrana opaca que controla la liberación del principio activo, el cual está montado sobre el brazo vertical en una estructura T de polietileno.^{23,24}

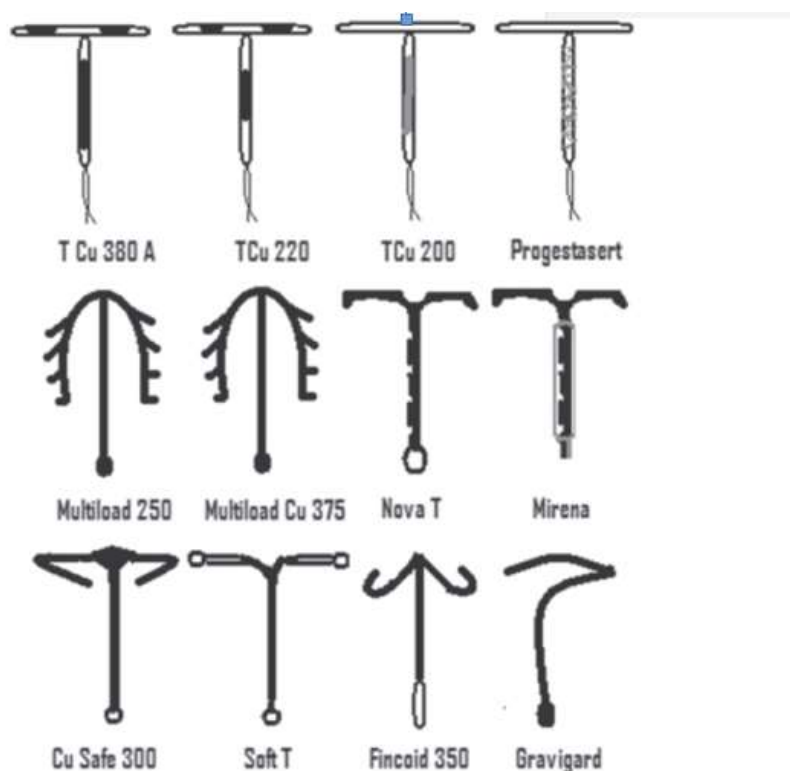


Figura 2. Diferentes tipos de DIUs que se han utilizado.



cada caso el número indica la cantidad de cobre enrollado en la rama vertical del DIU. NOVA T y Cu NOVA T que estos aparte del cobre contienen plata.²⁵

El más utilizado en la actualidad es el TCU 380 A, éste provee una anticoncepción segura a largo plazo con eficiencia equivalente a la esterilización tubaria. Este dispositivo está conformado por bandas de cobre en las ramas de la cruz, además del cobre alrededor del tallo, lo que ofrece una superficie como su nombre lo indica 380 mm² de cobre.²⁴

3.3.2 Mecanismo de acción del DIU

Tabla 2. Características de los diferentes tipos de DIUs.

Método	Descripción	Fundamento	Eficacia para prevenir el embarazo	Observaciones
Dispositivo intrauterino (DIU) de cobre.	Dispositivo de plástico flexible y pequeño que contienen un asa o cubierta de cobre y se inserta en el útero	El cobre daña los espermatozoides e impide que se junten con el óvulo	>99%	Durante los primeros meses la menstruación dura más y es más copiosa, pero eso no es dañino; se puede usar también como anticonceptivo de urgencia.
Dispositivo intrauterino (DIU) de levonorgestrel	Dispositivo plástico en forma de T que se inserta en el útero y libera diariamente pequeñas cantidades de levonorgestrel	Suprime el crecimiento del revestimiento de la cavidad uterina (endometrio)	>99%	Disminuye los cólicos menstruales y los síntomas de la endometriosis; amenorrea (ausencia de hemorragia vaginal) en un 20% de las usuarias



El mecanismo de acción de estos métodos anticonceptivos no está del todo definido, hay muchas teorías pero la más aceptada es que impide la implantación del blastocisto por inflamación del endometrio produciendo rechazo al cuerpo extraño, con un incremento de 1000% de leucocitos, comprobado por lavado intrauterino de la cavidad endometrial humana, por cambios en la maduración decidual y por modificaciones del endometrio y los productos tisulares de desechos de los leucocitos son tóxicos para todas las células, incluyendo el espermatozoide y el blastocisto. El uso de DIU modifica la expresión y acople de las integrinas de la matriz extracelular de la superficie endometrial y este efecto impide la implantación del pre-embrión.²⁵

También se plantea que la llegada de los macrófagos, producen lisis importante de espermatozoides que disminuyen la población de estos gametos que intentan desplazarse hacia las trompas. Al igual se habla de que el DIU provoca la inducción de metaloproteinasas en el endometrio y existe una alteración del metabolismo de carbohidratos así como en las funciones secretoras de células endometriales.²⁵

El papel del ion cobre es muy importante para este tipo de dispositivos, no sólo por sus efectos en los receptores de estrógeno y reducir el riesgo de embarazo si no también por ejercer un rol protector, ya que estos iones de cobre actúan contra diversos microorganismos al tener poder bactericida. Es bien conocido que la presencia de un cuerpo extraño como los DIU alteran la microbiota vaginal en favor de microorganismos anaerobios. La pequeña cantidad de Cu^{2+} reduce el riesgo de embarazo por mecanismos como promover la alteración del endometrio por la afección bioquímica de la mucosa y cambio en las características del moco cervical²⁶

El cobre contribuye a la inflamación del endometrio, modifica las concentraciones de Zn y produce cambios en las metalo-enzimas endometriales que trastornan el metabolismo y el comportamiento de los espermatozoides.²⁷









3.3.3 Efectos adversos del DIU

Es importante recalcar que el DIU tiene varios efectos adversos entre los más importantes destacan la perforación uterina; en la actualidad la enfermedad pélvica inflamatoria está menos asociada al uso DIU, pero si es frecuente en usuarias de este dispositivo que están seriamente inmunocomprometidas²⁶. También se pueden generar absceso tubo-ováricos. El embarazo ectópico es una complicación importante de este método anticonceptivo, ya que aumenta en un 10% en usuarias de DIU, es decir en pacientes con embarazo ectópico sin dispositivo la frecuencia es de 0.3 al 0.9% y en pacientes con embarazo ectópico con dispositivo es del 3 al 9%.²⁸

Algunas contraindicaciones para el uso de este método anticonceptivo de barrera son la irritabilidad al cobre (mal llamada alergia al cobre), esta entidad que se presenta en pacientes con enfermedad de Wilson, diátesis hemorrágica, estenosis cervical y mioma uterino.²⁹

Tabla 3. Fechas de comercialización de los diferentes tipos de DIUs.

1962	Asa de Lippes	
1962	Saf-T-Coil	
1971	Escudo de Dalkon	
	TCu	
1975	Nova T	
1982	Mirena®	

4.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen diversos estudios en los cuales se establece una relación entre el desarrollo de infecciones oportunistas vaginales como actinomicosis asociados con el uso crónico de DIU, por ello es importante investigar si su uso favorece la presencia de *Actinomyces israelii*.



5.- JUSTIFICACIÓN

De acuerdo con los reportes encontrados en la literatura, los cuales asocian el uso crónico de DIU con enfermedad pélvico inflamatoria y actinomicosis es importante evaluar si la presencia del DIU de manera crónica permite un mayor desarrollo de *Actinomyces israelii* antes de que se presenten las enfermedades antes descritas.



6.- HIPÓTESIS

En el DIU retirado de pacientes que acudan al Servicio de Ginecología sin algún signo ni síntoma de infección, se identificará y cuantificará *Actinomyces israelii*, y otros *Actinomyces*, esperamos encontrar una mayor cantidad de éstos microorganismos de manera proporcional con el tiempo de uso del DIU, lo que nos dará la relación de la cantidad de unidad formadora de colonias (UFC) encontradas con el tiempo de uso y el tipo de dispositivo que se había colocado en la paciente.



7.- OBJETIVOS

7.1 Objetivo general

Determinar la prevalencia de *Actinomyces israelii* y otros *Actinomyces* en dispositivos intrauterinos extraídos de pacientes asintomáticas que acuden al Servicio de Ginecología del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”

7.2 Objetivos específicos

- 1.- Aislar e identificar mediante estudios microbiológicos la presencia de *Actinomyces israelii* en los DIU retirados de usuarias.
- 3.- Cuantificar las unidades formadoras de colonias de *Actinomyces israelii*
- 4.- Evaluar si el tiempo de uso del DIU incrementa la presencia de *Actinomyces israelii* y otros *Actinomyces* en las usuarias de éstos



CAPÍTULO 2

Metodología



8.- METODOLOGÍA

8.1 Población y tamaño de la muestra

Tamaño de la muestra.

El tamaño de la muestra se calculará de acuerdo a la fórmula que ajusta el número de DIUs requeridos para el estudio:

$$N = \frac{Z\alpha^2 P (1 - P)}{i^2}$$

N= número de sujetos necesarios

Z α = valor de Z correspondiente al riesgo α

P= valor de la proporción que se supone que existe en la población

i= Precisión que se desea estimar el parámetro.

$$N = \frac{(1.96)^2 0.5(1-0.5)}{(0.1)^2} = 96$$

Aplicada la ecuación anterior determinamos que 96 son los DIUs requeridos para determinar la prevalencia de *A. israelii* en pacientes asintomáticas.

8.2 Criterios de inclusión

- Dispositivos intrauterinos retirados en el Servicio de Ginecología
- Pacientes sin tratamientos con antibióticos y antimicóticos previos
- Pacientes sin enfermedad pélvica inflamatoria.

8.3 Criterios de exclusión

- Pérdida de la cepa durante el proceso de identificación, y en la cual no se hayan completado los estudios necesario.

8.4 Criterios de no inclusión

- Los DIUs provenientes de pacientes con diagnóstico de actinomicosis.
- Los DIUs provenientes de pacientes con diagnóstico de enfermedad pélvica inflamatoria



8.5 Procedimiento

Se recolectaron 96 DIU extraídos de pacientes que acudieron a consulta externa del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”, en el Servicio de Ginecología U-112, y se colocaron para su transporte y posterior procesamiento en frascos estériles con 10 ml de Solución Salina Isotónica (SSI) al 0.85%, estéril.

El frasco con el DIU se homogeneizó en un equipo vórtex durante 1- 3 minutos. De la solución generada, se tomó una gota y se hizo un extendido en un portaobjetos para realizar una tinción de Gram con el objeto de encontrar la presencia de bacilos Gram positivos ramificados y otra gota que al igual se extendió en otro portaobjetos y se realizó tinción de Zielh Neelsen para poder observar bacilos no ácido alcohol resistente sugestivos de *Actinomyces* sp., con lo cual obtuvimos de forma inmediata y directa información semicuantitativa acerca de los microorganismos presentes

De la solución ya homogeneizada se tomaron alícuotas de 100 μ l y se colocaron una alícuota en agar gelosa sangre (la cual se extendió sobre toda la superficie con ayuda a de un asa bacteriológica por estría de agotamiento para obtener colonias aisladas) y otra alícuota se sembró en medio de tioglicolato. La placa de agar sangre se incubó en una jarra de anaerobiosis y se utilizó un sobre de gas pack a 37°C. Esta placa se revisó a los 7 y 15 días. El medio de tioglicolato se incubó al igual a 37°C y se revisó a los 7 días en condiciones de aerobiosis.

Una vez transcurrido el tiempo de incubación se hizo un aislamiento de cada microorganismo que creció en las placas de agar sangre, a éstos se les realizó tinción de Gram y Zielh Neelsen para comprobar la existencia de *Actinomyces* sp en las muestras. Si en los cultivos se obtenía una colonia sugerente de *Actinomyces* sp se le realizaron pruebas bioquímicas.

Pruebas para la identificación de *Actinomyces israelii*:

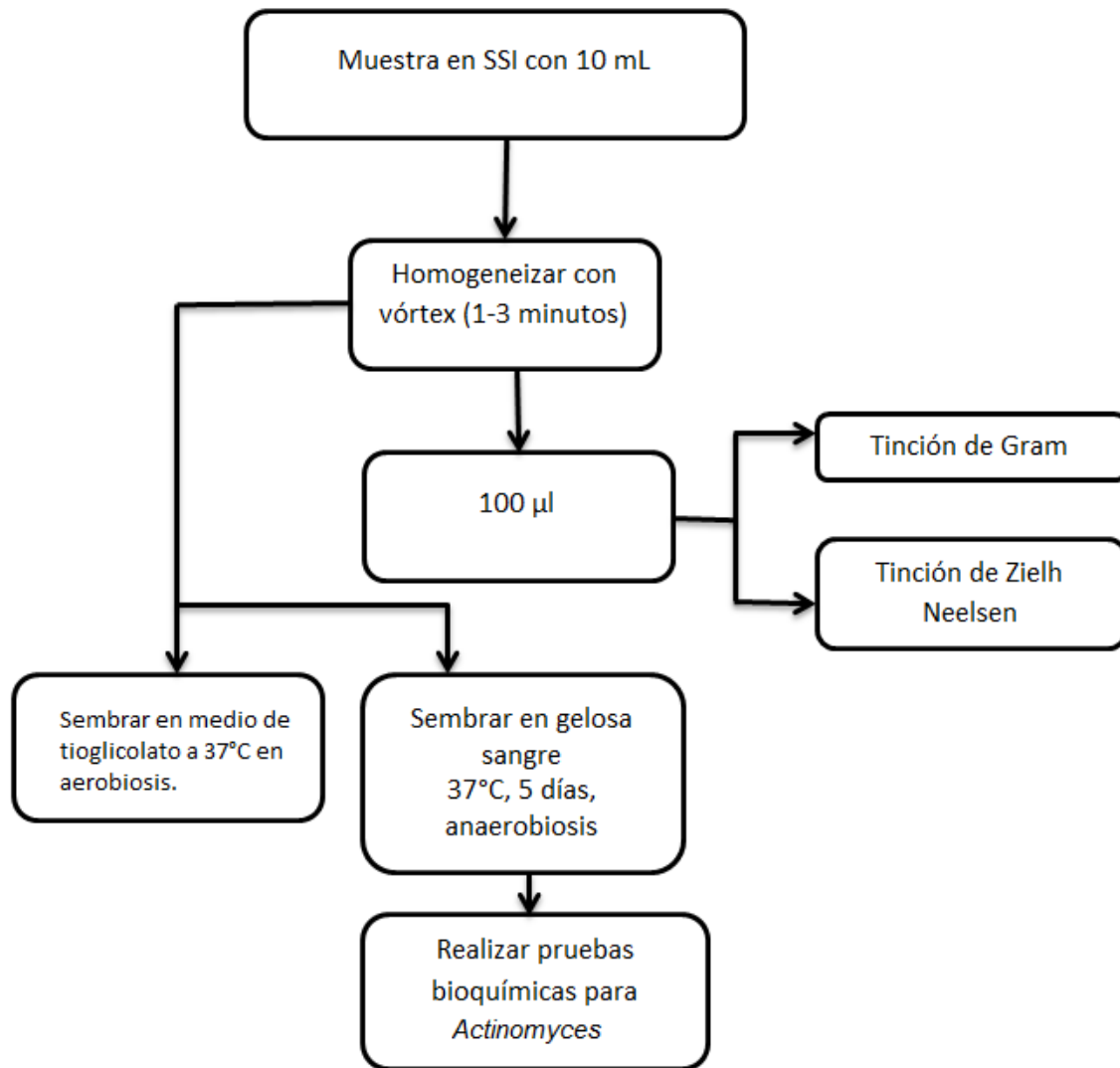
- Reducción de nitratos a nitritos
- Producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa, rafinosa, xilosa, lactosa manitol y trehalosa.



- Catalasa (-), pigmento (-), ureasa (-).

Si el microorganismo observado en la tinción de Gram no correspondía a la morfología de *Actinomyces* sp, se llevó a su identificación con un equipo automatizado VITEK® 2.

8.6 Algoritmo del procedimiento



Hoja 1 de recolección de datos

No. De DIU	Iniciales de la paciente	Edad	Tiempo de uso del DIU	Tipo de DIU

Hoja 2 de recolección de datos

No. De DIU	Iniciales de la paciente	Enfermedades asociadas	Uso de esteroides Sí (✓) No (x)	Tiempo de uso de esteroides	Uso de antibióticos Sí (✓) No (x)	Tipo de antibiótico	Tiempo de uso de antibióticos

Hoja de registro de identificación de *Actinomyces*

No. De DIU	Tinción de Gram	Tinción de ZN	Especie identificada de <i>Actinomyces</i>



CAPÍTULO 3

Resultados



9.- RESULTADOS

La edad media de las usuarias de DIU fue de 35 años, la paciente con menor edad era de 19 años y la mayor de 58. Todas las pacientes eran sanas, asintomáticas, y en la fecha en la que se les retiraba los DIU's no consumían antibióticos, ni otro tipo de medicamento que pudiera afectar al crecimiento de microorganismos en los medios de cultivo. De los 96 DIU's retirados y estudiados en el presente trabajo, 84 (87.5%) eran de alta carga de cobre (TCu380), 4 (4.2%) Mirena®, 4 (4.2%) Asa de Lippes, 2 (2.1%) Gravigard y 2 (2.1%) TCu220 (Figuras 3 y 4).

De 96 pacientes 56 (58.4%) eran portadoras de DIU por un periodo superior a los 5 años (con menor tiempo inserto un mes y el mayor periodo de tiempo es de 32 años de uso de DIU con un promedio de 7.5 años).

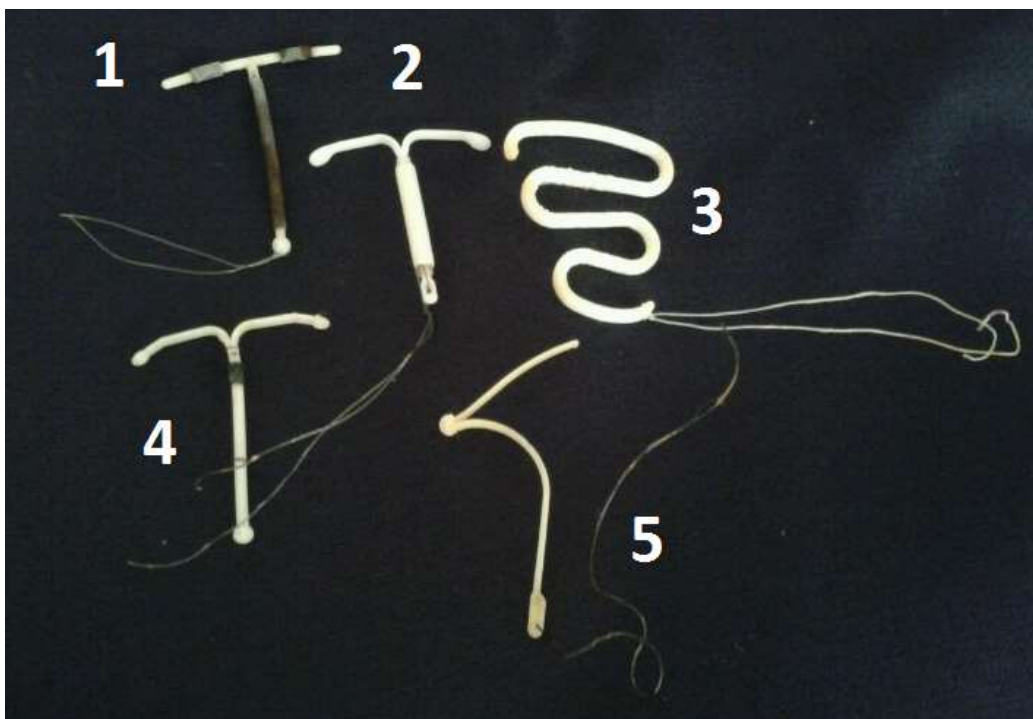


Figura 3. Tipos de DIU's retirados en el Servicio de Ginecología 1 TCU380, 2 Mirena®, 3 Asa de Lippes, 4 TCU220, 5 Gravigard.

Figura 4 Tipos de DIU's retirados

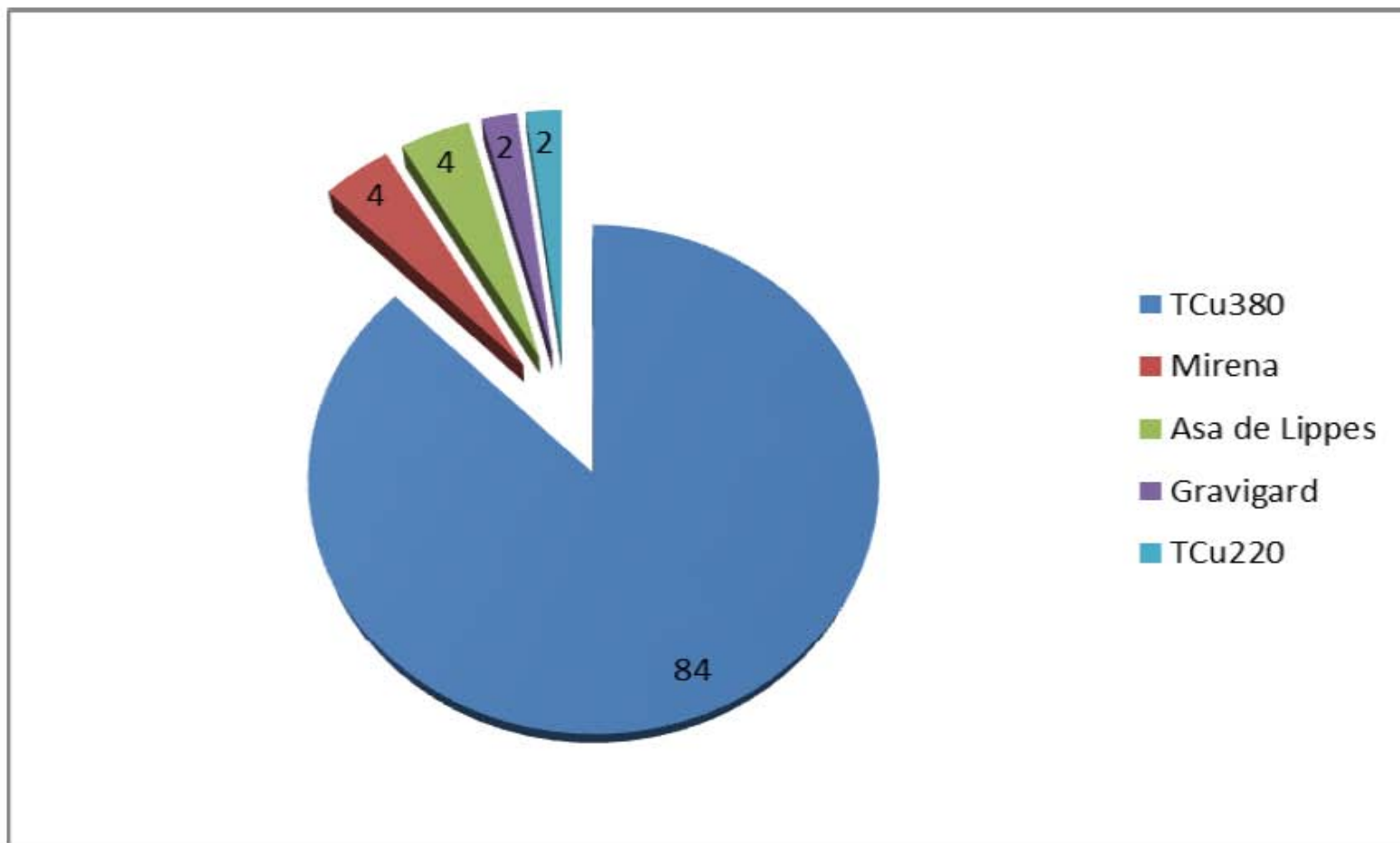


Tabla 4. Cantidad de tipos de DIU´s retirados y tiempo de uso

Periodo de uso de DIU/ Tipo de DIU	TCU380	Mirena®	Asa de Lippes	TCU220	Gravigard	Total
< - 5 años	38	2	0	0	0	40
6-10 años	32	2	0	0	0	34
11-15 años	8	0	0	2	0	10
16-20 años	4	0	0	0	0	4
21- 25 años	2	0	0	0	0	2
26-30 años	0	0	4	0	0	4
31-35 años	0	0	0	2	2	2
Total	84	4	4	2	2	96



Los resultados de los estudios microbiológicos efectuados, son los siguientes; en los cultivos en agar gelosa sangre sólo se obtuvo un DIU con desarrollo de *Actinomyces* sp (1.04%) y la cuantificación de este fue de 200 UFC *A. israelii* /DIU TCu380 con uso de 11 años, al efectuar la inoculación con la solución salina estéril donde se colocaban los DIU's, sólo se aislaron microorganismos de biota habitual de la cavidad vaginal, tales como *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus anginosus*. Todos estos microorganismos fueron identificados con un equipo VYTEK2 ® y aislados de DIU's de alta carga de cobre (TCu380), de los DIU's del tipo Asa de Lippes y Mirena® no se aislaron microorganismos. De cuatro DIU's TCu380 se aisló también *Candida albicans*.
Tabla 5.

Tabla 5. Microorganismos obtenidos en los diferentes tipos de DIU's estudiados

TIPO DE DIU	Microorganismos encontrados
TCu 380	<i>Actinomyces israelii</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Streptococcus anginosus</i> <i>Candida albicans</i>
TCu 220	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>
Asa de lipes	Sin desarrollo
Mirena®	Sin desarrollo
Gravigard	Sin desarrollo

Ecuación de cálculo para las colonias de *Actinomyces israelii*

$$\frac{UFC}{DIU} = \frac{2 \text{ colonias en agar sangre} * 10 \text{ ml}}{0.1 \text{ ml}} = 200 \text{ UFC /DIU}$$



CAPÍTULO 4

Análisis y discusión de Resultados



10.- ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De acuerdo con los resultados obtenidos se puede observar que la mayoría de los DIUs retirados tenían más de 5 años de uso, lo que en la ficha técnica de los dispositivos no se recomienda para inhibir la fase reproductiva. Solamente el 41.2 % (40 DIUs) fueron retirados antes de los 5 años, de estos en su mayoría del tipo TCu380, posiblemente debido a que el bajo costo con el que se comercializa permite una disponibilidad entre sectores populares, en tanto que el DIU Mirena® se encuentra en precios de 20 a 50 veces más elevados que el primero, lo cual impacta en la frecuencia de DIU's en las usuarias. Los dispositivos con mayor antigüedad, es decir con un uso superior a los 30 años de acuerdo a los datos encontrados en la literatura²⁵ son los primeros que se utilizaban, en este caso el Asa de Lippes y Gravigard, por lo mismo son las usuarias con mayor edad en el estudio. Con esta misma explicación se puede aclarar por que la frecuencia de tener en su mayoría TCu380 en el trabajo, es decir 84 dispositivos de los 96 totales como se puede observar en la figura 4.

En los resultados microbiológicos es importante señalar que solamente se obtuvo un cultivo positivo para *Actinomyces israelii*, (1.04%), el cual a pesar de ser biota normal y tener un factor de predisposición alto como lo era ser portadora de DIU no generó una infección o infestación, con relación a los resultados obtenidos podemos suponer que para el establecimiento de la actinomicosis puede estar influenciada por la simbiosis de *Actinomyces israelii* con algún otro microorganismo presente en la misma cavidad, lo cual favorecido por las condiciones generadas por el uso de los diferentes tipos de DIUs, permite el crecimiento en cantidad adecuada de *Actinomyces israelii* para parasitar y formar los granos^{8,9}; de hecho, en un caso de actinomicosis pélvica, que observamos durante el tiempo de este trabajo, al revisar el estudio histopatológico, se encontraron filamentos de *Actinomyces israelii* en conjunto con una agrupación de un microorganismo en cuya morfología destacan los cocos Gram positivos.

Actinomyces israelii es un microorganismo con dificultad para crecer en medios de cultivo *in vitro*, a pesar de un manejo estricto de las condiciones para su



desarrollo⁵; esto podría ser otro factor, debido a que si existe poca cantidad de microorganismos, estos no se desarrollen, debido a que se requiera un inóculo más grande.

Es importante mencionar que a pesar del largo tiempo que estuvieron insertos los DIUs no se desarrolló actinomicosis, sin embargo, si hubo crecimiento de otros microorganismos, los cuales también pertenecen a la microbiota normal de la cavidad vaginal, los aislados fueron: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Streptococcus anginosus*; estos provenían de DIUs de alta y baja carga de cobre, que a pesar de que este elemento tiene poder bactericida se puede decir que por el largo tiempo de inserción, pierden la capacidad de controlar el crecimiento de los microorganismos y que a pesar de esto no generó un medio anaerobio debido a la inflamación ocasionada por la liberación incontrolada de éste durante los años de inserción. También hay que considerar que una reacción inflamatoria provocada por el DIU puede ser la causa del inicio de una infección o un incremento de bacterias anaerobias como *Actinomyces israelii* y ello puede depender del tamaño del dispositivo que se inserte en la paciente además de si son nulíparas o multíparas, debido a que el tamaño del útero aumenta cuando ya se han tenido varios embarazos. La edad también puede influir en el desarrollo de bacterias en la cavidad vaginal, por ejemplo, es mayor la cantidad que se encuentra en el intervalo de edad reproductiva como es el caso de la mayoría de nuestras pacientes a las cuales les fue retirado el DIU, sin embargo, al incrementar más la edad la cantidad de microorganismos disminuye.²⁴

En la poca frecuencia en que se establece la actinomicosis asociadas al uso de DIU, García-Cano y colaboradores⁴ describieron la asociación de *Actinomyces israelii* con bacterias de la microbiota normal de la cavidad vaginal, y por los hallazgos microbiológicos en los resultados de este estudio la bacteria que con más frecuencia se encontró fue *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, en los reportes actuales⁴ éstas son las dos bacterias que más se asocian a *Actinomyces sp*, podríamos decir que esta simbiosis favorece el desarrollo de actinomicosis, debido a ello es importante generar medidas que impidan el desarrollo excesivo de estos dos microorganismos y con ello evitar que el actinomicético, se incremente y



establezca una infección, ya que si bien hay que recordar que la actinomicosis puede comenzar con una vaginitis que sólo presenta algunos signos como el flujo amarillento y pequeños sangrados anormales, y en cuanto a sintomatología las pacientes refieren dolor moderado y poco frecuente en el hipogastrio el cual suelen asociar a su periodo menstrual restándole importancia hasta que ya se ha establecido una infección mas severa como la actinomicosis que causa fístulas y abscesos con invasión a tejidos adyacentes.²⁴

A pesar de que los conocimientos más recientes acerca de la EPI¹⁷, refieren que ésta es ocasionada principalmente por infecciones con bacterias como *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* las cuales se transmiten por contacto sexual también puede ser ocasionada por otras bacterias como *Streptococcus anginosus* y *E. coli* de las cuales también se obtuvo desarrollo en los medios de cultivo utilizados en el presente trabajo.¹⁷ Es decir que muy probablemente el incremento de *Actinomyces* es más complejo, y se deba asociar a una o más bacterias.

En el caso de los DIU's que no son de cobre y que en su mayoría son de polímeros y sulfato de bario, la biopelícula que puede generar *Actinomyces israelii* o la colonización por otras bacterias, puede que no se vean favorecidos, ya que este dispositivo o cuerpo extraño se encapsula a través del tiempo y ello explicaría el nulo crecimiento en los medios de cultivo como se muestra en la tabla 5.

En el caso de los DIUs de cobre, en donde hubo desarrollo de diversas bacterias también se obtuvo el crecimiento de colonias de levaduras, este es el caso de *Candida albicans*, microorganismo que provoca una micosis oportunista, es un componente de la biota habitual en la mucosa vaginal, en donde se favorece su establecimiento debido a las características anatómicas; habita en equilibrio con otras bacterias como el bacilo de Döderlein (*Lactobacillus*).²⁶ El DIU modifica considerablemente la microbiota de la cavidad vaginal, aumentándola como es el caso de *Candida* sp., lo cual puede favorecer el desarrollo de candidosis en la paciente y el crecimiento de este hongo levaduriforme en los dos casos en que la encontramos en este trabajo, el hallazgo también puede haber sido causado como consecuencia de un arrastre de microbiota, ya que si bien éste se coloca en útero



los hilos que ayudan a la extracción del mismo van en el exterior del útero por lo que se pueden colonizar con este tipo de levaduras, también es posible que las pacientes estuviesen cursando con un cuadro de candidosis ya que por la edad en la que se encontraban (edad reproductiva) sería mas frecuente, hasta un 50% de las vaginitis corresponden a las causadas por *Candida sp.*³⁰

Es importante señalar que tan sólo se obtuvo un cultivo positivo para *Actinomyces israelii*, principal agente causante de actinomicosis, debido a la dificultad que plantea el control de las condiciones para que el actinomiceto desarrolle en medios de cultivo sintéticos.

Algunos autores^{1,4,5} refieren que la inmunofluorescencia es un método más efectivo y simple que los cultivos para poner en evidencia la presencia de *Actinomyces israelii*. Como se mencionó anteriormente un problema de esta patología en muchas ocasiones puede ser la tardía asistencia con un médico especialista que logre identificar la raíz del problema, ya que las pacientes no le toman la importancia correspondiente porque los signos y síntomas iniciales son mínimos. Es de gran relevancia hacer notar la presencia de *Actinomyces sp.*, cuando el médico diagnostica una vaginitis y principalmente cuando se trate de pacientes usuarias de DIU por tiempo menor a cinco años y con mucho mayor razón cuando superan el tiempo recomendado de uso. Lo más aconsejable ahora sería un control de la microbiota vaginal para no generar una simbiosis que favorezca la infestación con *Actinomyces sp.*, y luego este comience a generar mayores complicaciones como son las fístulas y los abscesos que son fáciles de detectar con tomografía axial computarizada (TAC) ésta es una técnica muy utilizada para observar el daño, con ayuda de biospias endometriales y poco frecuente el estudio con ARN ribosomal determinar el padecimiento o hacer un diagnóstico diferencial.³¹

Una vez evaluado el problema es importante que el médico tome la decisión más adecuada para el manejo de la enfermedad con antibiótico, revisión del DIU, determinar si necesita un nuevo DIU o el retiro definitivo de este método anticonceptivo.



Hay que tomar en cuenta que también es de gran relevancia la experiencia del médico al colocar el DIU ya que una mala inserción de este puede provocar perforación uterina que favorezca el desarrollo de infecciones como la actinomicosis entre otras.

Figura 5. El inicio de formación de un grano de *Actinomyces israelii*, filamentos microsifonados. (Tinción de Grocott, 40X)

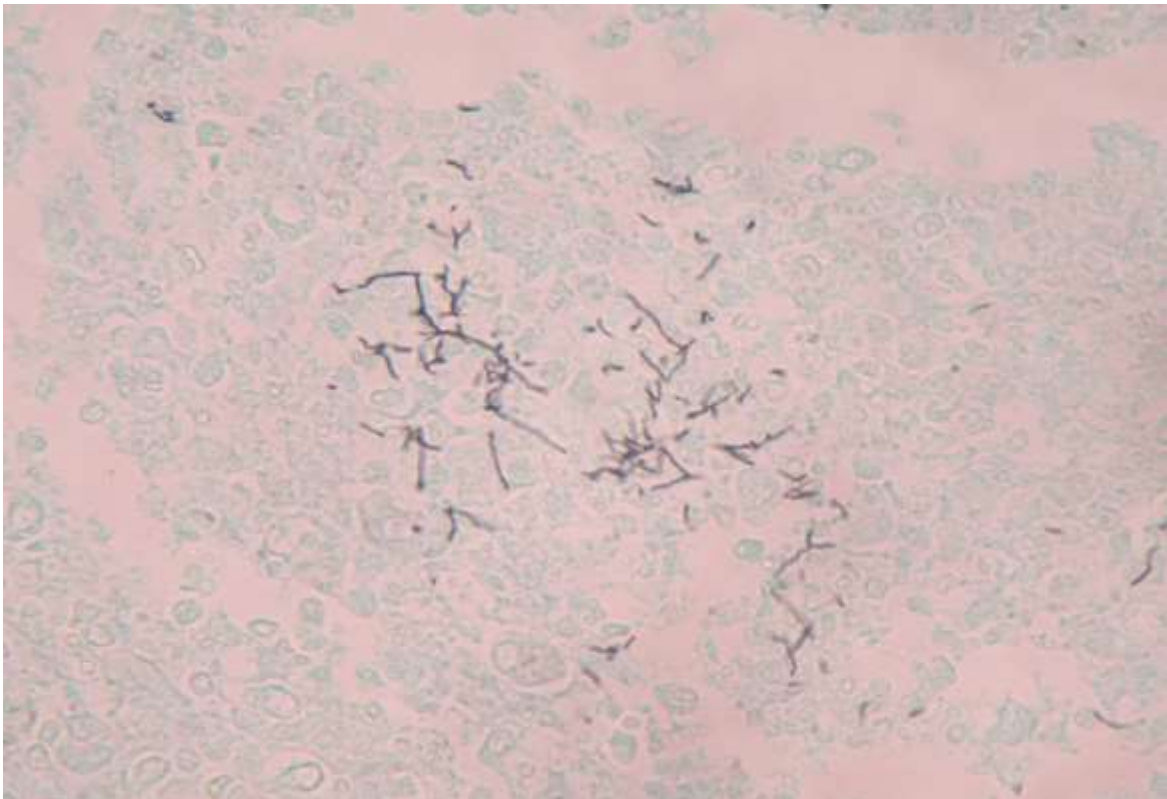


Figura 6. Grano de *Actinomyces israelii* (Tinción de Grocott, 40X)

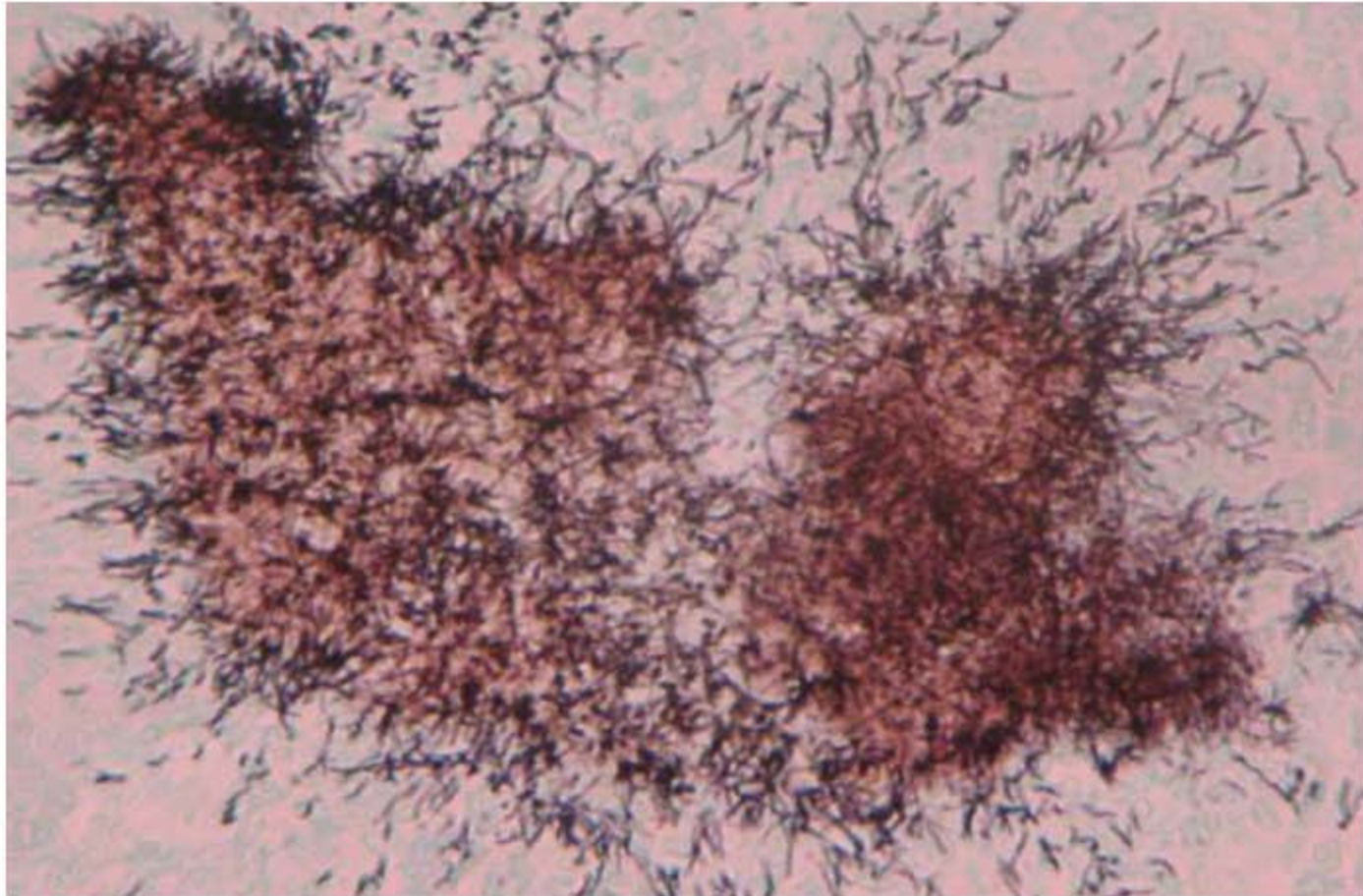
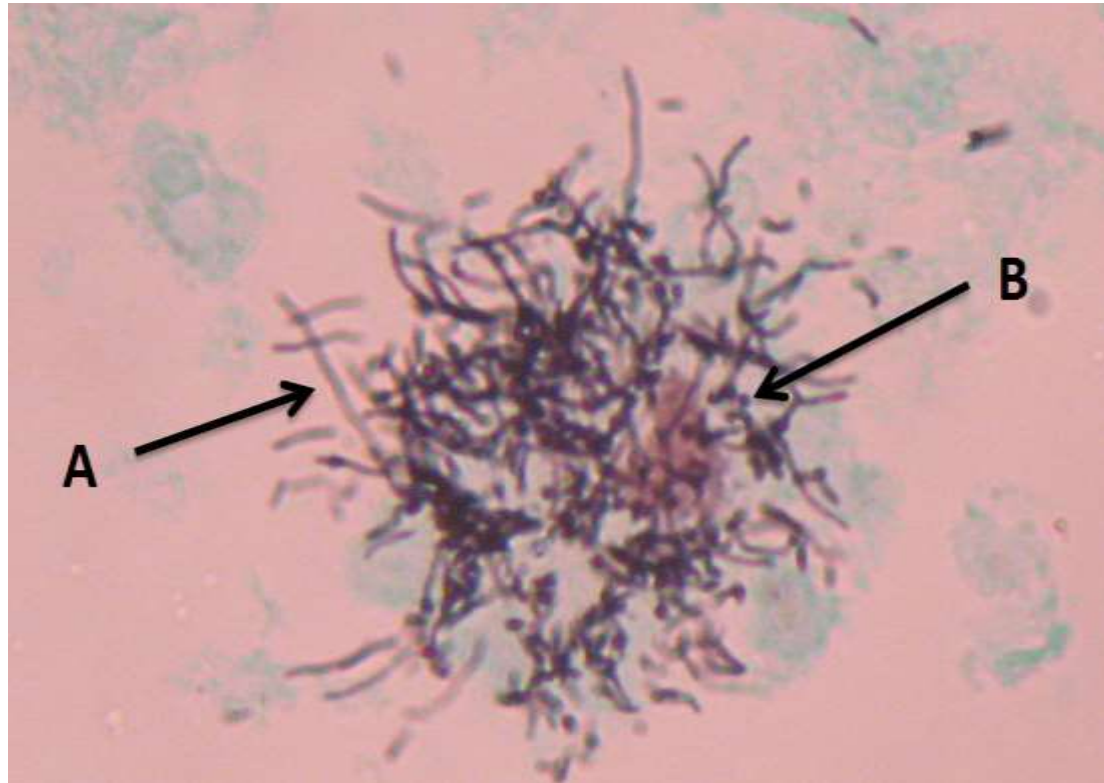


Figura 7. Grano de *Actinomyces israelii* en simbiosis con otro microorganismo

A) Filamentos microsifonados de *Actinomyces israelii*, B) Microorganismos cuya morfología son cocos. (Tinción de Grocott 100X)



CAPÍTULO 5

Conclusiones



11.- CONCLUSIONES

- El DIU más utilizado fue el de alta carga de cobre, por su alta comercialización, efectividad y bajo costo.
- La mayoría de las portadoras de DIU (58.4%) en el estudio, hicieron uso de éste por más de cinco años, ello puede ser un factor para que la tasa de infecciones bacterianas o micóticas se vean incrementadas, ya que el dispositivo favorece de manera importante este tipo de patologías, como lo es la actinomicosis que puede evolucionar a EPI, sin embargo, tan sólo se obtuvo un cultivo positivo de *Actinomyces israelii*.
- Se obtuvo 200 UFC de *Actinomyces israelii* /DIU que representa el 1.04 % de todos los dispositivos obtenidos en el estudio.
- El desarrollo de *A. israelii* probablemente se favorezca mediante una estrecha relación con otro tipo de microorganismos de la microbiota vaginal para coexistir y aumentar su desarrollo.
- Los principales microorganismos aislados fueron *S. aureus*, *E. coli*, *S. marcescens* y *S. anginosus*.
- El tiempo de uso de los DIUs debe ser menor a cinco años y que en casos de uso mayor a éste, la revisión con el médico especialista es importante en cuanto se tenga cualquier molestia, signo o síntoma por mínimo que sea.



12.- ANEXOS

12.1 Técnica de la tinción de Gram

- 1.- Marcar y realizar un extendido delgado de la SS sobre un portabojetos (placa) y dejar secar.
- 2.- Fijar el material a estudio con metanol.
- 3.- Colocar la placa sobre un soporte y cubrirla con cristal violeta durante un minuto.
- 4.- Lavar con agua corriente
- 5.- Cubrir con lugol de Gram durante un minuto.
- 6.- Lavar con agua corriente.
- 7.- Cubrir la placa con alcohol-acetona durante 5 segundos.
- 8.- Lavar con agua corriente.
- 9.- Cubrir la placa con safranina durante un minuto.
- 10.- Lavar con agua corriente.
- 11.- Dejar secar al aire
- 12.- Observar al microscopio con aceite de inmersión, objetivo de 100x, condensador abierto totalmente para que la luz pase y se obtenga buena iluminación.⁵

12.2 Técnica de la tinción de Zielh Neelsen

- 1.- Realizar un extendido delgado de la SS y dejar secar.
- 2.- Fijar el material con metanol
- 3.- Colocar la placa sobre un soporte, el cual a su vez estará sobre un vaso con agua que esté emitiendo vapores de agua.
- 4.- Poner sobre la placa un pedazo de papel filtro, sobre el cual se irá poniendo la fucsina fenicada sin dejar que esta se seque para que no cristalice, durante 10 minutos.
- 5.- Retirar el papel filtro y lavar con agua corriente.
- 6.- Cubrir la placa con alcohol ácido durante máximo 3 minutos



7.- Lavar con agua corriente.

8.- Cubrir con azul de metileno por un minuto.⁵

12.3 Técnica para la identificación de las especies de *Candida*

Una vez aislada la levadura de *Candida* se sembró en medios de agar dextrosa de Sabouraud (ADS) y ADS + antibióticos (Mycosel ®) para obtener un crecimiento adecuado de la levadura y después del tiempo que se incubó (24-48 horas a 28°C) se inoculó en medio CRHOM Agar Candida® y al concluir el tiempo de incubación durante 48 horas a 28°C en este medio dependiendo de la especie de *Candida* genera una pigmentación en la colonia, en este caso las colonias que desarrollaron en este medio fueron de color verde sugerentes de *Candida albicans* pero para confirmar también se inocula en medio Corn Meal + tween 80 al 1% y se incuba al igual por 48 horas a 28°C. En este medio se observaron cúmulos de blastoconidios distribuidos a lo largo de las pseudohifas y clamidoconidios solitarios, correlacionando los datos del medio cromogénico con el medio con tensoactivo que provoca la producción de clamidoconidios confirman la especie de *Candida*.



Agar cromogénico con colonias sugerentes de *Candida albicans*



Clamidoconidios de *Candida albicans* en agar Corn Meal + tween 80 al 1 %

12.4 Equipo

Equipo Vitek® Biomé Rieux para la identificación de microorganismos aerobios Gram + y Gram –



Jarra de anaerobiosis para obtener el crecimiento de *Actinomyces israelii*



12.5 Medios de cultivo



Agar gelosa sangre: para el aislamiento y cultivo de numerosos microorganismos aerobios y anaerobios nutricionalmente exigentes.

Fórmula aproximada en gramos por litro de agua destilada:

Infusión de músculo de corazón.... 375.0

Peptona..... 10.0

Cloruro de sodio..... 5.0

Agar..... 15.0

pH final : 7.3 ± 0.2



Agar Tioglicolato: Para el crecimiento de microorganismos anaerobios.

Fórmula aproximada en gramos por litro de agua destilada:

Peptona de caseína.....	20.00
Cloruro de sodio.....	2.5
Fosfato dipotásico.....	1.5
Tioglicolato de sodio....	0.6
L- Cistina.....	0.4
Sulfito de sodio.....	0.2
Agar	0.5
pH final 7.2 ±0.2	



Agar dextrosa de Sabouraud: este medio de cultivo es para el cultivo de hongos mohos y levaduras patógenos y no patógenos.

Fórmula aproximada en gramos por litro de agua destilada:

Digerido	enzimático	de
caseína.....		10.0
Dextrosa.....		40.0
Agar		15.0

pH final: 5.6 ±0.2





Agar dextrosa Sabouraud + antibióticos (Mycosel ®): base para medio selectivo para asilar hongos patógenos:

Fórmula aproximada en gramos por litro de agua destilada:

Harina de soja digerida por enzimas
 Papaías..... 10.0
 Dextrosa..... 10.0
 Agar..... 15.5
 Cicloheximida..... 0.4
 Cloramfenicol 0.05
 pH final : 6.9 ± 0.2



Agar CHROM agar *Candida*: medio selectivo para el aislamiento e identificación presuntiva de levaduras.

Formula aproximada en gramos por litro de agua destilada :

Cromopeptona 10.0
 Glucosa..... 20.0
 Mezcla cromogénica 2.0
 Cloramfenicol 0.5
 Agar 15.0

pH final: 7.4 ± 0.2





Agar harina de maíz (Corn meal) + tween 80 al 1%.: Base para el cultivo de hongos, en especial para la producción de clamidoconidios por *Candida albicans*.

Formula aproximada en gramos por litro de agua destilada:

Harina de maíz infusión (sólidos)...2.0

Agar 15.0

Tween 80

pH final 6.0 ± 0.2



13. Referencias

1. Sánchez JA, Mercado NA, Chilaca F, Rivera JA. Uso del DIU asociado a la infección secundaria por *Actinomyces* en tracto genital femenino. Rev Esp Patol 2004; 37:383-390.
2. Gil MG, Martínez MA, Reyes S, Reynoso MT. Absceso tuboovárico actinomicótico que simula una lesión tumoral. Patología 2011; 49:270-275.
3. Evans DTP, *Actinomyces israelii* in the female genital tract: a review. Genitourin Med 1993; 69:54-59.
4. García-Cano E, Camargo A, Carrera A, Galán NA, Núñez V, Rojas Castañeda M L, Detección de *Actinomyces* spp de muestras cérvico-vaginales de mujeres con y sin dispositivo intrauterino. Bioquímica 2002; 27:60-68.
5. Pérez R, Salamanca A, Marchal G, Barranco E, Picazos P, Clavero P, Frecuencia de colonización por *Actinomyces* en portadoras asintomáticas de dispositivos intrauterinos. Rev Iberoam Fertil Reprod Hum 2002; 19(5): 357.
6. Persson E. IUDs and infection. *Actinomyces israelii* in the genital tract and risks for actinomycosis. Karolinska Institutet, Danderyd, Sweeden Session 13, no 61: 243
7. Koneman E. Diagnóstico microbiológico. Texto y Atlas en color. 6ª edición. Editorial Médica Panamericana, México DF. 2004. pp:837-897.
8. Bonifaz A, Micología Médica Básica. 4ª edición. Editorial McGraw Hill, México DF. 2012.
9. Myrvik QN, Bacteriología y Micología Médica. 1ª edición. Editorial Interamericana, México DF. 1977. pp:422-424.
10. Brock D, Georg L. Characterization of *Actinomyces israelii* serotypes 1 and 2. J Bacteriol 1969; 97(2):589-593.



11. Serrano A, Sandoval H. Identificación y diagnóstico de Actinomicetales patógenos. 1ª, Publicaciones del Vicerrectorado Académico Universidad de los Andes, Mérida, Venezuela. 2005.
12. Figdor D, Davies J. Cell surface structures of *Actinomyces israelii*. Aust Dent J 1997; 42 (2):125-8.
13. Pál Z, Urbán E, Dósa E, Pál A, Nagy E. Biofilm formation on intrauterine devices in relation to duration of use. J Med Microbiol 2005; 54:1199-1203.
14. Rutger J, Hendrik W. Case 85: Pelvic actinomycosis in association with an intrauterine device. Radiology 2005; 236:492-494.
15. Leslie DE, Garland SM. Comparison of immunofluorescence and culture for the detection of *Actinomyces israelii* in wearers of intra-uterine contraceptive devices. J. Med Microbiol 1991; 35:224-228.
16. Raymond A, Smego Jr, Foglia G. Actinomycosis. Clin Infect Dis 1998; 26:1255-1261
17. Centers for Disease Control (CDC). Sexually Transmitted Diseases (STD) Treatment guidelines. 2010. Pelvic inflammatory disease Available at: <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/pid.htm>. Accessed August 2, 2013.
18. Ovalles A, Casanova A, Kakameka E, Jourdan F, Salgado K. Epidemiología, resultados clínicos y costos de tratamientos del absceso tuboovárico en un Hospital Público de Santiago. Rev Chil Obstet Ginecol 2008; 73(6):374-380.
19. Campbell Sj, Cropssey KL, Matthews CA. Intrauterine device use in a high-risk population: experience from an urban university clinic. Am J Obstet Gynecol. 2007; 197(2):193.
20. Phupong V, Sueblinvong T, Pruksananonda K, Taneepanichskul S, Triratanacahat S, Uterine perforation with lippes loop intrauterine device-associated actinomycosis., Contraception 2000; 61(5):347-350.



21. NOM 005-SSA2-1993, De los Servicios de Planificación Familiar. Secretaria de Salud. Gobierno Mexicano.
22. Gómez PI, Gaitán H. Intrauterine Device (IUD) as emergency contraceptive knowledge, attitude and practice among health providers in latin-america survey. Rev Colomb Obstet Ginecolv2004; 55(4):261-266.
23. Alarcón MA. Los dispositivos intrauterinos: evolución a través de los tiempo, método de inserción, beneficios y riesgos. Médicas Uis 2007; 20:121-124.
24. Berek J. Ginecología de Novak. 13ª edición. Editorial Mc Graw Hill, México DF. 2004 pp:201-203.
25. Zambrana MA, Alcántara RO, Medina C. Dispositivo intrauterino: Actualización Revisión bibliográfica. Rev Med Hond 1988; 56:43-47.
26. Demirezen S, Dirlik Ö, Beksaç MS. The association of *Candida* infection with intrauterine contraceptive device. Cent Eur J Public Health 2005; 13(1):32-34.
27. Sinei S, Morrison C, Sekadde-Kigonde C, Alle, M, Kokonya D. Complications of use intrauterine devices among HIV-1 infected women. The Lancet 1998; 51:1238-1241.
28. Cole L, Edelman D. A comparison of the lippes loop and two copper-bearing intrauterine devices. Int J Gynaecol Obstet 1980; 18(1):35-39.
29. Nagel TC. Intrauterine contraceptive devices. Complications associated with their use. Postgrad Med 1983; 73(3):155-164.
30. Gorka Z. Vulvovaginitis candidiásica. Rev Iberoam Micol 2002; 19:22-24.
31. Woo PC, Fung AM, Lau SK, Hon E, Yuen KY. Diagnosis of pelvic actinomycosis by 16S ribosomal RNA gen sequencing and its clinical significance. 2002; 43(2):113-118.

