

PREMIO NIVEL D

Hospital I, Policlínicos, Centros Asistenciales

***Diagnóstico Citológico y Gram de
la Vaginosis Bacteriana***

Autores:

*Dr. César Tadeo Vela Velásquez
Biol. Nilo Mendoza Rojas*

Policlínico IPSS Francisco Pizarro - Rimac

RESUMEN

Estudiamos 4778 pacientes desde el punto de vista citológico (Papanicolaou) haciendo el diagnóstico de Vaginosis Bacteriana en 1012 (21%) pacientes. Presentamos evidencias de que el 89% de las pacientes presentan abundantes leucocitos que acompañan a dos criterios básicos del diagnóstico citológico (abundantes gérmenes que pavonan las células epiteliales y ausencia del bacilo de Doderlein). El estudio del Gram hecho en las láminas que muestran infección vaginal demuestran que los cocobacilos Gram negativos (sin incluir a *Gardnerella vaginalis*) son los más importantes llegando al 64% de todos los gérmenes patógenos; *Gardnerella vaginalis* ocupa el 4º lugar con el 11%. Se hace referencia a la frecuencia de gérmenes patógenos en gestantes, madres lactantes, mujeres \geq 50 años y usuarias DIU.

INTRODUCCION

Recientemente a nivel mundial se está demostrando una alta frecuencia de Vaginosis Bacteriana (VB), lo que conlleva a nuevos enfoques de la fisiopatología de la enfermedad inflamatoria pélvica, endometritis, infecciones puerperales, infección urinaria, ruptura prematura de membranas, infecciones neonatales (^{2,5,8,13,16}) entre otras.

La VB por presentar un espectro clínico amplio que va desde pacientes asintomáticas a verdaderas molestias inflamatorias hace que el diagnóstico de dicha entidad tenga cierta dificultad, basándose principalmente en la clínica, el examen directo de la secreción vaginal, la prueba de liberación de aminas positivas (olor a pescado) y en la valoración del pH (^{1,3,6,10,12,14,15,18}).

Nosotros hemos recurrido a la citología cérvico-vaginal (coloración de Papanicolau) en un intento de uniformizar el diagnóstico de VB con criterios más objetivos, además presentamos el correlato del diagnóstico citológico con el estudio del Gram y la frecuencia de gérmenes patógenos (GP) en nuestra población y en los grupos de gestantes, madres lactantes, mujeres ≥ 50 años de edad y en usuarias del dispositivo intrauterino (DIU).

MATERIAL Y METODOS

Estudiamos prospectivamente durante dos meses muestras de secreción cérvico vaginal (Papanicolau) de 4778 pacientes que llegaron al Servicio de Anatomía Patológica del Policlínico "Francisco Pizarro" IPSS provenientes de los consultorios externos de Ginecología y Obstetricia del Policlínico "Francisco Pizarro" (927 pacientes) y de los despistajes de cáncer del cuello uterino de los Policlínicos Móviles del IPSS (3851 pacientes).

Las muestras provenientes del Policlínico "Francisco Pizarro" llegaban en 2 láminas (láminas gemelas) y de los Policlínicos Móviles en 1 sola. Para el diagnóstico de VB se tomaron los siguientes criterios citológicos:

- a) Presencia de abundantes gérmenes que pavonan las células epiteliales.
- b) Ausencia del bacilo de Doderlein (¹); y
- c) Presencia de leucocitos de moderada a abundante cantidad.

Para el diagnóstico específico de *Gardnerella vaginalis* se tomó el criterio citológico ya conocido (¹⁷):

- a) Presencia de abundantes gérmenes (cocobacilos) que pavonan las células epiteliales.
- b) Ausencia del bacilo de Doderlein; y
- c) Ausencia o escasa presencia de leucocitos.

Se excluyeron pacientes con VB que tenían metaplasia epidermoide, displasias, cánceres y láminas mal fijadas. Inmediatamente a la toma de muestras las láminas eran fijadas en laca y enviadas a Patología.

Las pacientes que tenían láminas gemelas se coloreaban una de ellas con Papanicolau, la otra se guardaba y si la paciente era diagnosticada

citológicamente como VB a la lámina sin colorear se le procesaba con la coloración de Gram.

Las pacientes diagnosticadas citológicamente con el Papanicolau de VB que tenían una sola lámina, se desmontaba y limpiaba la lámina sumergiéndola en xilol, luego se decoloraba en alcohol-ácido al 3% durante 20 minutos, se secaban al ambiente y se procedía a la coloración de Gram.

Para controlar el efecto de la decoloración sobre el Gram, se tomaron al azar 20 muestras que tenían láminas gemelas diagnosticadas con el Papanicolau de VB, procediéndose a la decoloración y coloración con Gram como se indicó anteriormente, y se comparó los resultados con la lámina que sólo fue coloreada con Gram.

Utilizamos el Chi-cuadrado para el análisis de significancia estadística.

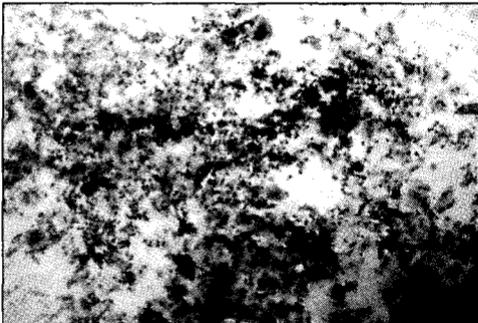
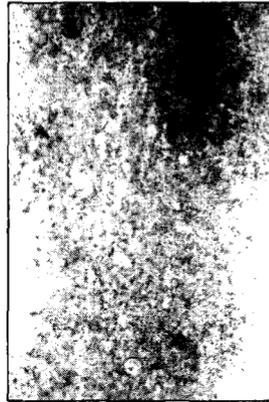


Fig. Nº 1 - 3
Microfotografía. Vista panorámica de citología cérvico-vaginal que muestra abundante infiltrado leucocitario y células epiteliales pavonadas de gérmenes; coloración Papanicolau 156 x.

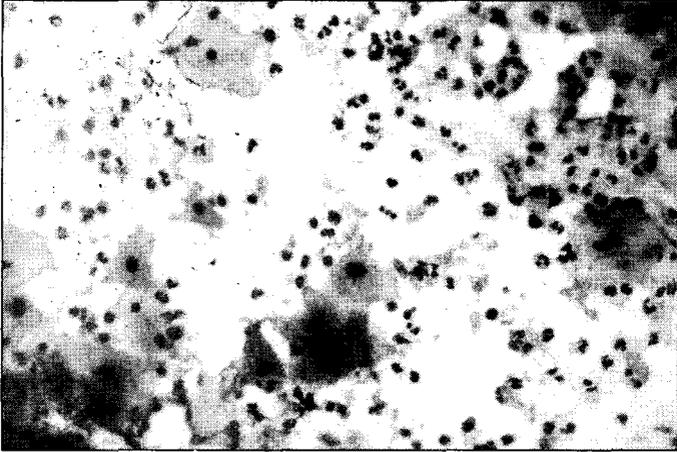


Fig. Nº 4
Ampliación de la microfotografía 2 a 500 x.

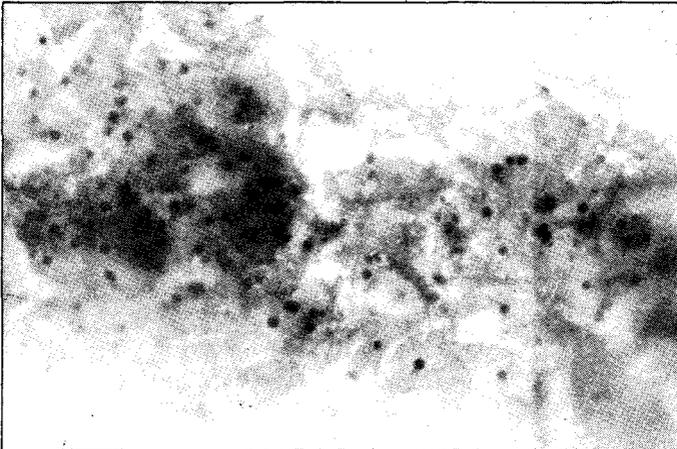


Fig. Nº 5
La microfotografía es característica de Gardnerella vaginalis, 500 x.

RESULTADOS

Se estudiaron 4778 pacientes de los cuales 1012 (21%) fueron diagnosticados citológicamente de VB.

De los 20, casos de láminas comparadas entre las decoloradas y coloreadas con Gram se encontró correspondencia del 100%.

El 89% de los diagnósticos de VB tenían un patrón citológico con leucocitos de regular a abundante cantidad y el 11% (diagnosticados como VB a Gardnerella Vaginalis) los leucocitos eran escasos o ausentes (ver figuras 1-5).

El rango de las edades fluctuaron entre 16 y 78 años, la distribución por grupos de edades se observa en la tabla 1.

Se encontraron hasta 3 poblaciones distintas de Gérmenes Patógenos (GP). (tabla 2)

La frecuencia de los GP en los 1012 pacientes con VB se observa en la tabla 3.

El 88 % de los GP fueron Gram negativos y el 12 % Gram positivos. En los 1012 pacientes con VB se encontró asociación con monilias en 38 (3.8%), con trichomonas vaginalis en 46 (4.5%), no se encontró asociación simultánea con monilias y trichomonas vaginalis.

Tabla Nº 1
Frecuencia de vaginosis bacteriana por grupos de edades. Policlínico "Pizarro" Mayo-Junio 1994

Edad	Número	Porcentaje
16-19	26	2.6
20-29	338	33.4
30-39	391	38.6
40-49	190	18.8
50-78	67	6.6
Total	1012	100.0

Tabla Nº 2
Frecuencia del número de poblaciones de gérmenes patógenos en vaginosis bacteriana. Policlínico «Pizarro». Mayo-Junio 1994

Nº Gérmenes Patógenos por paciente	Nº Pacientes	Porcentaje
1	588	58.1
2	389	38.4
3	35	3.5
Total	1012	100.0

Tabla Nº 3
Frecuencia de gérmenes patógenos en 1012 pacientes con vaginosis bacteriana. Policlínico "Pizarro". Mayo-Junio 1994

Germen Patógeno	Nº Pacientes	%
Cocobacilos gram negativo*	647	64
Bacilos gram negativo	242	24
Cocos gram negativo	200	20
Gardnerella vaginalis	116	11
Diplococos gram negativo	91	9
Diplococos gram positivo	81	8
Cocos gram positivo	64	6
Bacilos gram positivo	22	2
Cocobacilos gram positivo	3	0.3
Streptococos gram positivo	3	0.3
Compatible con Neisseria gonorrhoeae**	2	0.2

* cocobacilos distintos a Gardnerella vaginalis.

** diplococos gram negativos intra y extracelulares; pacientes de 33 años.

De los 1012 pacientes con VB 43 (4.2%) fueron gestantes, 68 (6.7%) madres lactantes, 67 (6.6%) fueron \geq a 50 años y 353 (34.9%) usuarias del DIU; la tabla 4 muestra el número de poblaciones de GP hallados en estos 4 grupos.

La frecuencia de los GP en gestantes se observa en la Tabla 5. El 85% de los GP fueron Gram negativos y 15% Gram positivos. Se encontró asociación con monilias en 3 gestantes (7%) y con trichomonas vaginalis en 1 (2%).

La frecuencia de los GP en madres lactantes se observa en la tabla 6, el 89% de los GP fueron gram negativos y el 11 % gram positivos, la asociación con monilias y trichomonas fue 2 (3%) para cada una.

La frecuencia de los GP en Mujeres \geq 50 años se observa en la tabla 7, el, 90% de los GP fueron gram negativo y el 10 % fueron gram positivo; la asociación con monilias en 3 (4%) pacientes y con trichomonas vaginalis en 2 (3%).

La frecuencia de los GP en usuarias DIU se observa en la tabla 8; el 90% de los GP fueron Gram negativos y el 10% Gram Positivos; la asociación con monilias fueron en 11 pacientes (3%) y con trichomonas vaginalis en 15 (4%).

Tabla N° 4
Frecuencia del número de poblaciones de gérmenes patógenos
en gestantes, madres lactantes, mujeres > 50 años y usuarios DIU.
Policlínico "Pizarro". Mayo-Junio 1994

Nº Gérmenes Patógenos por pacientes	Gestantes		Madres Lactantes		Mujeres > 50años		Usuarios DIU	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
1	19	44.2	49	72.1	39	58.2	215	60.9
2	20	46.5	13	19.1	23	34.3	124	35.1
3	4	9.3	6	8.8	5	7.5	14	4.0
TOTAL	43	100.0	69	100.0	67	100.0	353	100.0

Tabla Nº 5
Frecuencia de gérmenes patógenos
en 43 gestantes. Policlínico "Pizarro".
Mayo-Junio 1994

GERMEN PATOGENO	Nº	%
Bacilos gram negativo	21	49
Cocobacilos gram negativo*	17	40
Diplococos gram negativo	9	21
Cocos gram negativo	7	16
Cocos gram positivo	6	14
Gardnerella vaginalis	6	14
Bacilos gram positivo	4	9
Diplococos gram positivo	1	2

* cocobacilos distintos a Gardnerella vaginalis.

Tabla Nº 6
Frecuencia de gérmenes patógenos
en 68 madres lactantes. Policlínicos "Pizarro".
Mayo-Junio 1994

GERMEN PATOGENO	Nº	%
Cocobacilos gram negativo*	52	76
Bacilos gram negativo	12	18
Cocos gram negativo	9	13
Diplococos gram negativo	6	9
Cocos gram positivo	5	7
Gardnerella vaginalis	4	6
Bacilos gram positivo	3	4
Diplococos gram positivos	2	3

* cocobacilos gram negativo distintos a Gardnerella vaginalis

Tabla Nº 7
Frecuencia de gérmenes patógenos
en 67 mujeres >50 años. Policlínico "Pizarro".
Mayo-Junio 1994

GERMEN PATOGENO	Nº	%
Cocobacilos gram negativo*	40	60
Cocos gram negativo	19	28
Bacilos gram negativo	15	22
Gardnerella vaginalis	8	12
Diplococos gram negativo	8	12
Cocos gram positivos	4	6
Diplococos gram positivo	4	6
Bacilos gram positivo	1	1
Cocobacilos gram positivo	1	1

* cocobacilos gram negativo distintos a Gardnerella vaginalis

Tabla Nº 8
Frecuencia de gérmenes patógenos en 353
usuarias DIU. Policlínico "Pizarro".
Mayo-Junio 1994

GERMEN PATOGENO	Nº	%
Cocobacilos gram negativo*	247	70
Bacilos gram negativo	79	22
Cocos gram negativo	59	17
Diplococos gram negativo	36	10
Gardnerella vaginalis	31	9
Diplococos gram positivo	28	8
Cocos gram positivo	14	4
Bacilos gram positivo	8	2
Cocobacilos gram positivos	1	0.3
Compatible con Neisseria gonorrhoeae**	1	0.3
Streptococo gram positivo	1	0.3

* cocobacilos gram negativo distintos de Gardnerella vaginalis

** diplococos intra y extra celulares gram negativo; mujer de 33 años.

DISCUSION

En nuestra serie de 1012 pacientes encontramos que el 89 % de los diagnósticos citológicos de VB presentan leucocitos de regular a abundante cantidad que acompaña a los dos principales criterios del diagnóstico citológico (abundante GP que pavonan las células epiteliales y ausencia del bacilo de Doderlein) y solo el 11 % (infección por *Gardnerella vaginalis*) los leucocitos son escasos o nulos, esto tal vez explica el término usado actualmente de Vaginosis Bacteriana ya que hasta hace poco se creía que sólo *Gardnerella vaginalis* producía infección vaginal (actualmente numerosas investigaciones demuestran otros patógenos, ref. 7,4,9) y que al ser evaluada la secreción vaginal en el examen directo se encontraban las "células guías (clue cells) sin componente leucocitario, pero con la evidencia que presentamos podemos sugerir el término de vaginitis bacteriana, ya que el 89 % de las infecciones cumplen con el patrón general de la inflamación en patología (presencia de leucocitos) y es pertinente presentar la hipótesis de que *Gardnerella vaginalis* produzca un factor inhibidor del sistema inmunológico que se demostraría en la escasa o nula presencia de leucocitos y que conviene investigar ya que daría un gran aporte en la terapia inmunosupresora.

El predominio en nuestra población de los GP Gram negativos sobre los GP Gram positivos es altamente significativo ($p < 0.01$); la asociación de monilias -GP y *trichomonas vaginalis*-GP (4.5%) no presenta diferencia significativa ($p > 0.05$).

Comparando los grupos de gestantes, madres lactantes, mujeres 50 años y usuarias DIU, encontramos que en relación con la presentación de una población de GP hay evidencia de que la proporción de pacientes no es similar en los 4 grupos ($p < 0.05$), pero no existe diferencia significativa ($p > 0.05$) entre madres lactantes, mujeres 50 años y usuarias DIU, por ello, podemos deducir que el grupo de gestantes contribuye a indicar una diferencia significativa, luego podemos deducir que la presencia de una sola población de GP en el grupo de gestantes es diferente a la de los otros grupos. Asimismo en relación a la presentación de 2 poblaciones diferentes de GP encontramos diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los 4 grupos, pero si excluimos al grupo de madres lactantes encontramos que en los 3 grupos restantes no existe diferencia significativa ($p > 0.05$), por lo tanto podemos deducir que la presencia de 2 poblaciones de GP en el grupo de madres lactantes es diferente a la de los otros grupos. Asimismo en relación a la presencia de 3 poblaciones diferentes de GP no encontramos diferencia significativa ($p > 0.05$) entre los 4 grupos. La

presentación de cocobacilos Gram negativo (excluyendo a *Gardnerella vaginalis*) en el grupo de gestantes presenta una diferencia altamente significativa ($p < 0.01$) con los otros tres grupos mientras que en estos últimos no existe diferencia significativa ($p > 0.05$), lo mismo ocurre con los bacilos Gram negativos ($p < 0.01$) y cocos Gram positivos ($p < 0.05$); en cambio la presentación de cocos Gram negativos, diplococos Gram negativos y *Gardnerella vaginalis* es homogénea en los 4 grupos ($p > 0.05$). En relación a la asociación de monilias-GP y de *Trichomonas vaginalis*-GP no hay diferencia significativa en los 4 grupos ($p > 0.05$).

La presente investigación creemos que aporta en el entendimiento de las infecciones vaginales aunque no es comparable con los cultivos de secreción vaginal para especificar el germen patógeno ni da el antibiograma respectivo, si tiene la gran ventaja de estudiar a los gérmenes patógenos en el momento mismo de la infección con el estudio citológico (Papanicolau) que aunado al estudio del Gram de la misma lámina del Papanicolau da la información completa sin recurrir a estudios costosos de cultivos.

Finalmente, como la incidencia de infección vaginal bacteriana es alta en nuestra población (21%) y como se mencionó en la introducción su asociación con infecciones neonatales, cirugía ginecológica, partos prematuros, endometritis, enfermedad inflamatoria pélvica, sugerimos, que en los informes de citología cérvico-vaginal cuando se encuentren los criterios arriba señalados de vaginitis bacteriana se mencionen como gérmenes patógenos y en el caso que no se reúnan los 2 criterios importantes sólo sea referido como gérmenes, ya que de ese modo se brinda mayor ayuda a los pacientes ahorrando tiempo y recursos para dar tratamiento oportuno.

Agradecimiento

Al Dr. César Puicón en el análisis estadístico, a las Sras. Obstetrices del Policlínico "Pizarro" y Policlínicos Móviles, a las autoridades del Policlínico "Pizarro", a mis maestros Drs. Leoncio Vega y Ruben Rozas. Al personal de laboratorio del Policlínico "Pizarro" en especial a la Tecnóloga Martha Santiago por su apreciable colaboración, finalmente a mi esposa Johana por su constante estímulo.

BIBLIOGRAFIA

- 1) **Askienazy - Elbhar, m:** Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 1993 Mar; 88 (3 Pt. 2); 203 - 6.
- 2) **Di - Rosa, R; Mostrantonio, P. Recenti.** Prog. Med 1993 Nov, 84 (11): 794 - 800
- 3) **Eschenbach, DA. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2); 441 - 5
- 4) **Eschenbach, DA.** Clin. Infect. Dis. 1993 Jun; 16 Suppl 4: S 282 - 7.
- 5) **Gibbs. RS. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2): 460 - 2.
- 6) **Henry - Suchet, J.** Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 1993 Mar; 88 (3 Pt 2): 199 - 201.
- 7) **Hill, GB. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2): 450 - 4
- 8) **Hillery. S; Reiss - Levy. EA; Browne, C; Lemmon, J. Scand. J. Infect. Dis.** 1993; 25 (5): 655 - 8.
- 9) **Hillier, SL; Krohn, MA; Rabe, Lk; Klebanoff, SJ.** Clin. Infect Dis. 1993 Jun; 16 Suppl. 4; S 273 - 81.
- 10) **Hillier, SL. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 pt 2): 455 - 9.
- 11) **Lefevre, JC.** Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 1993 Mar; 88 (3 Pt 2): 207 - 10.
- 12) **Mardh, PA.** Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 1993 Mar; 88 (3 Pt 2): 195 - 7.
- 13) **McGregor, JA; French, JI; Seo, K. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2): 463 - 6.
- 14) **Mead, PB. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2): 446 - 9
- 15) **Riduan, JM; Hilleir, SL; Utomo, B; Wiknjosastro, G. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Jul; 169 (1): 175 - 8.
- 16) **Soper, DE. Am. J. Obstet. Gynecol.** 1993 Aug; 169 (2 Pt 2): 467 - 9.
- 17) **Takahashi, M.** Edit. Med. Panamericana, 2da. ed. 1985, pág: 188 - 9.
- 18) **Zana, J.** Rev. Fr. Gynecol. Obstet. 1993 Mar; Mar; 88 (3 Pt 2): 211 - 4.