

Microflora cérvico-vaginal en mujeres de una consulta ambulatoria de ginecología en Cali, Colombia

Ney Guzmán, M.D. Ph.D.¹

Rafael Medina, M.D.²

Fabio Carmona, Biol, M.Sc.³

Graciela Sanclemente, Bact⁴

RESUMEN

De las mujeres en edad reproductiva que asistían a la consulta ambulatoria de ginecología en un centro de salud de Cali, Colombia, se seleccionaron 73 para un estudio de microflora vaginal. Se tomaron muestras de las secreciones vaginales y del cérvix uterino para cultivo de aerobios y anaerobios. En 22% de las muestras se aisló *Gardnerella vaginalis*. Los otros microorganismos recuperados de la vagina fueron *Streptococcus*, 20%; *Staphylococcus*, 17.8%; y

Escherichia coli, 14%. Se midió el pH vaginal y se demostró la presencia de nitritos por tiras reactivas para uroanálisis. La positividad para nitritos fue mayor en presencia de *Streptococcus* y *E. coli* (73.3% y 60%, respectivamente). Del total de las pacientes 78% tenían un pH vaginal entre 5 y 6. Se discute el papel que la interacción bacteriana de una flora mixta vaginal, compuesta sobre todo por anaerobios, puede tener en la producción de metabolitos potencialmente carcinogénicos para el cérvix uterino.

Los cultivos bacteriológicos de la cavidad vaginal y del cérvix uterino en mujeres sanas muestran una flora mixta de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos¹⁻⁵. El promedio de especies microbianas por muestra es de 4¹, con un rango muy amplio. En efecto, se han aislado de la vagina entre 5 y 10 tipos de bacterias⁶. Los gérmenes facultativos predominantes incluyen especies de *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Gardnerella vaginalis* y diferentes especies del género *Lactobacillus*. Las bacterias entéricas Gram negati-

vas (*E. coli*, *Proteus mirabilis* y *Alkaligenes faecalis*) constituyen una mínima parte de la flora total. El *M. hominis* se ha considerado también como un habitante normal del tracto urogenital de la mujer y el hombre maduros.

La concentración de microorganismos anaeróbicos es habitualmente 5 veces la de aerobios e incluye una variedad de especies entre las cuales predominan los *Peptostreptococcus*, *Peptococcus*, bacilos anaerobios, las eubacterias y los *Bacteroides*. Se puede aislar uno o más de los mismos en todas las mujeres.

La composición de la flora vaginal que se estudia depende de varias circunstancias; la parte anatómica del tracto genital de donde se obtenga el espécimen; factores endógenos y exógenos del huésped y especialmente de la

1. Profesor Titular, Departamento de Medicina Social, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
2. Asociación Médico Sindical Colombiana, Valle, Colombia.
3. Profesor Titular, Departamento de Microbiología, Facultad de Salud, Universidad del Valle, Cali, Colombia.
4. Bacterióloga, Servicio de Salud del Valle, Cali, Colombia.

técnica de laboratorio utilizada⁷⁻⁹.

Casi todas las discrepancias vistas en estudios previos se deben a la no utilización de técnicas óptimas para aislar e identificar microorganismos altamente sensibles al oxígeno. Es necesario anotar que se han recuperado especies similares de gérmenes anaeróbicos en una amplia gama de infecciones pélvicas¹⁰, lo cual indica que la microflora cérvico-vaginal es potencialmente patógena. Aun en ausencia de infección pélvica evidente, la composición de la flora vaginal tiene gran interés desde el punto de vista de la carcinogénesis química. Las complejas interacciones de microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, inducidas por circunstancias del comportamiento sexual y obstétrico, pueden favorecer un ambiente propicio para la formación de compuestos N-nitrosos de reconocidos efectos carcinogénico, mutagénico y promotor^{10,12}.

Con el propósito de respaldar una hipótesis sobre la progresión anaeróbica simbiótica en la génesis del cáncer de cérvix uterino, se decidió realizar un estudio preliminar sobre la composición de la flora cérvico-vaginal en mujeres con vida sexual activa, que asistían a una consulta externa de ginecología en Cali. Esta ciudad como es conocido, tiene una tasa elevada de cáncer de cérvix uterino^{13,14}.

MATERIALES Y METODOS

Población. A cada una de las 73 mujeres que se seleccionaron en el Centro de Salud Diego Lalinde para el estudio de microflora vaginal, se le practicó el siguiente procedimiento:

1. Se tomaron 2 muestras de flujo, del cérvix y del fórnix posterior, bajo visión directa con espéculo de SIM y antes del examen manual. No se aceptaron muestras de mujeres que tenían patología vaginal, que recibían terapia antibiótica o que se habían hecho duchas vaginales antes de la consulta. Una de las muestras se puso con solución salina sobre una lámina de vidrio y se cubrió con laminilla para visualizar en fresco *Trichomonas vaginalis* o levaduras. La otra muestra se utilizó en la inoculación de diversos medios de cultivo: agar-sangre, agar-sangre-azida, agar Hecktoen y agar Mac-Conkey. Los especímenes se procesaron el mismo día de la toma en el laboratorio del Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia. Las muestras sembradas en agar sangre

se incubaron tanto en anaerobiosis como en atmósfera de CO₂. El agar-sangre con azida en CO₂, y los medios de cultivo para Gram negativos en aerobiosis. Todos los cultivos se incubaron a 37° C durante 24 a 48 h.

2. Se midió el pH en el tercio superior de la vagina con papel tornasol y se determinó la presencia de nitritos con una tira reactiva para uroanálisis (Microstix-2®); como controles positivos y negativos se emplearon cultivos de *E. coli* y *P. mirabillis*, respectivamente. La tira se ponía en contacto con la pared vaginal por un período de 5 segundos, se retiraba golpeándola suavemente en uno de los lados para remover el exceso de exudado y se leía la prueba de nitritos exactamente 30 segundos después de haberla humedecido.

3. Se tomó una muestra para citología vaginal del cérvix y endocérvix uterino por el método abrasivo suave.

4. Finalmente se diligenció un formulario que requería información sociodemográfica y algunas variables de comportamiento sexual.

Cultivos

1. **Agar-sangre-azida.** Cuando se encontraron cocos Gram positivos se pensó en *Staphylococcus* o *Streptococcus*. Se hicieron subcultivos en agar sangre sin inhibidor con la finalidad de observar el tipo de hemólisis producida por la bacteria. Cuando se aisló un *Staphylococcus* se hizo la prueba de coagulasa para identificar *S. aureus*. Las cepas coagulasa negativas se clasificaron como *Staphylococcus* sp.

1. **Agar-sangre aerobios.** Se obtuvieron crecimientos similares a los obtenidos en los cultivos de anaerobiosis, que se interpretaron como bacterias facultativas; debido a esto no se describen en detalle las técnicas empleadas para reconocer *Bacteroides*. Según el tipo de colonia se practicaron las pruebas descritas para identificar los diferentes géneros de bacterias.

3. **Agar Mac-Conkey.** De acuerdo con la morfología y la coloración de las colonias, los bacilos Gram negativos se clasificaron en lactosa positiva y lactosa negativa. Con las colonias aisladas se realizaron pruebas en agar hierro tripleazúcar (triple sugar iron, TSI), lisina hierro agar, citrato de Simmonds, agar úrea, agar blando para movilidad y caldo de tripton para apreciar la producción de indol. En la identificación de las enterobacteriáceas se utilizó la tabla de reacciones bioquímicas. En algunos

* Guzmán, N. Cáncer de cérvix uterino ¿un problema de progresión anaeróbica simbiótica? En preparación.

cultivos se obtuvo crecimiento de levaduras que por su morfología y la coloración de Gram se consideraron compatibles con organismos del género *Candida*. La identificación de la especie *albicans* se logró por la capacidad que tiene para producir el tubo germinal cuando se inocula en suero humano y se incuba a 37° C durante 3 horas.

4. *Agar Hecktoen*. Se empleó como el Mac-Conkey para el aislamiento de bacilos Gram negativos. La identificación de las bacterias se realizó por medio de pruebas bioquímicas.

RESULTADOS

Características sociodemográficas. Casi 84% de las pacientes seleccionadas estaban en edades inferiores a los 30 años; 90% permanecían en el hogar y 76.6% tenían un compañero sexual permanente. Una cuarta parte había tenido dos y más uniones maritales estables; 42.5% tenían más de tres embarazos.

Edad a la primera relación sexual. La edad promedio para la primera relación sexual fue 18 años; 72.6% y 50.7% de las mujeres habían tenido su primera relación y primer hijo antes de los 20 años de edad, respectivamente. La edad promedio del primer parto fue 19 años.

Frecuencia de las relaciones sexuales. En el Cuadro 1 se indica la frecuencia de contactos sexuales por semana. Se clasificaron como contactos sexuales ocasionales aquellos que ocurrían cada 15 días o más espaciados. En 63% de las mujeres hubo relaciones sexuales ocasionales; 27% interdiarias y apenas 7 (9.6%) informaron relaciones sexuales todos los días.

Cuadro 1
Distribución de la Frecuencia de Relaciones Sexuales

Edad	Frecuencia de relaciones sexuales		
	Diaria	Interdiaria	Ocasional
15-19			3
20-24		4	7
25-29	2	2	14
30-34	2	6	6
35-39	1	2	6
40-44	1	2	2
≥ 45	1	4	8
Total	7	20	46
%	9.6	27.4	63

Microflora vaginal. El Cuadro 2 informa la frecuencia de microorganismos recuperados en la cavidad vaginal. En 22% de las mujeres se encontró *G. vaginalis*. El *Streptococcus* se aisló en 20% y *E. coli* en 13.6%. La positividad para nitritos fue mayor en presencia de *Streptococcus* y *E. coli* (73.3% y 60% respectivamente). En presencia de *G. vaginalis* la positividad para nitritos fue apenas de 37.5%. En general, la mitad de las mujeres tuvieron reacción positiva a nitritos. La positividad para nitritos fue mayor con un pH vaginal neutro (78% de las pacientes y 38.3% de nitritos positivos). Por otra parte, 70 (95.9%) mujeres tuvieron citología cervical con Papanicolau grados I y II.

Cuadro 2
Frecuencia de Microorganismos y Presencia de Nitritos

Microorganismos	Nº pacientes	% Nitritos positivo
<i>Gardnerella</i>	16	6* 37.5
<i>Streptococcus</i>	15	11 73.3
<i>Staphylococcus</i>	13	6 46.2
<i>E. coli</i>	10	6 60.0
<i>Klebsiella</i>	5	1 20.0
<i>Candida albicans</i>	3	1
Lactobacilos	2	1
Flora mixta	9	5 55.6
Total	73	37 50.7

* Número de pacientes con reacción positiva.

DISCUSION

Los microorganismos prevalentes, recuperados de la cavidad vaginal y del cérvix uterino fueron aerobios y anaerobios facultativos. No se identificaron especies de *Bacteroides*; con procedimientos óptimos estos gérmenes se pueden aislar hasta en 65% de las floras vaginales de mujeres sanas¹⁵⁻¹⁷. Las más comunes de las especies aisladas son miembros del grupo *melaninogenicus/oralis* (78% de los aislamientos). Como estas especies no hacen parte de la flora normal del colon¹⁸, su presencia en la cavidad vaginal no se puede atribuir a contaminación fecal. El papel que juegan en un posible proceso de progresión anaeróbica ha sido sugerido por su analogía con los *Bacteroides* encontrados en la placa subgingival. Por esta razón, aunque no se aislaron de la cavidad vaginal en este estudio, se discute brevemente su comportamiento en la cavidad oral. En un estudio paralelo Duerden¹⁹ aisló de la cavidad oral como especies más comunes *B. oralis*,

melaninogenicus subespecie *melaninogenicus* y subespecie *intermedius*.

La semejanza de los hallazgos refleja la igualdad de condiciones físicas y fisiológicas de los ambientes. Una comparación de la saliva con las secreciones cervicales muestra que el pH, la osmolaridad, el contenido de carbohidratos y enzimas, en particular el contenido de amilasa, son similares. Por analogía de lo que ocurre a nivel oral, los *Bacteroides*, especialmente el grupo *melaninogenicus/oralis*, en la vagina podrían participar en una serie de relaciones complejas con otros microorganismos que tienden a producir metabolitos asociados con un proceso de carcinogénesis humana. Se ha demostrado la presencia de varios metabolitos potencialmente significativos comprometidos en infecciones mixtas en animales de laboratorio inducidas con la microflora de la enfermedad periodontal humana²⁰. Estos metabolitos incluyen análogos de la vitamina K, que sirven como nutrientes esenciales para el mantenimiento de *B. melaninogenicus*, así como una enzima colagenolítica producida por el mismo *B. melaninogenicus*. Esta colagenasa es menos potente que la de muchos clostridios y se excreta de la célula al mismo tiempo que ocurre la lisis; su producción podría estar relacionada con la naturaleza crónica de la enfermedad periodontal. Una situación similar se podría presentar con la vaginitis. La interacción bacteriana produce también desoxirribonucleasa y ribonucleasa que podrían facilitar la difusión de metabolitos bacterianos dentro del saco periodontal. Finalmente algunos estudios del metabolismo de *B. melaninogenicus* han demostrado que este organismo produce grandes cantidades de amonio. Si en el canal endocervical se producen concentraciones similares, se podría esperar daño grave al epitelio columnar.

El presente estudio permitió el aislamiento de *Streptococcus* y *Staphylococcus* facultativos en 20% y 17.8% de los pacientes. *E. coli* se aisló en 14% de las mujeres. Por otra parte se observó que en presencia de *Streptococcus* y *E. coli* la positividad para nitritos fue 73.3% y 60% respectivamente. Esto se podría interpretar como una asociación para la conversión de nitratos a nitritos que reaccionarían con las aminos secundarias y terciarias en la cavidad vaginal para producir compuestos N-nitrosos.

La espermina y espermidina, compuestos poliaminados son especialmente abundantes en los espermatozoides humanos (0.26 g de espermina por 100 g de espermatozoides)²¹. Las aminos secundarias y terciarias, aportadas especialmente a través del acto sexual, son sustancias

esenciales para la formación de compuestos N-nitrosos, un grupo extremadamente potente de carcinógenos activos en muchas especies animales²². Así, todas las condiciones y los elementos indispensables para el proceso de nitrosación y carcinogénesis estarían dadas por la compleja interacción bacteriana que ocurre en mujeres con una flora vaginal alterada.

SUMMARY

Among attendants to a gynecological out patient clinic of a health center in Cali, Colombia, 73 women in childbearing age were selected for a vaginal flora study. Vaginal discharges and cervix uteri specimens were taken for identifying aerobic and anaerobic microorganisms. Presence of nitrites using reagent strips for urinalyses, as well as vaginal pH were tested. Predominant bacteria isolated from the samples were *Gardnerella vaginalis*, 22.0%; *Streptococcus*, 20.0%; *Staphylococcus*, 17.8%; and *Escherichia coli*, 14.0%. Nitrites were more frequently positive in presence of *Streptococcus* and *E. coli*, 73.3% and 60.0%, respectively. Vaginal pH between 5.0 and 6.0 was found in 78.0% of the women.

REFERENCIAS

1. Gorbach, SL, Menda, KB, Thadepalli, H & Keith, L. Anaerobic microflora of the cervix in healthy women. *Am J Obstet Gynecol*, 1973, 117: 1053-1055, 1973.
2. Levison, ME, Corman, LC, Carrington, ER & Kaye, D. Quantitative bacteriology of the vaginal flora in vaginitis. *Am J Obstet Gynecol*, 1979, 133: 139-144.
3. Larson, B & Galask, RP. Vaginal microbial flora: practical and theoretical relevance. *Obst Gynecol*, 1980, 55S: 100-113.
4. Bartlett, JG, Onderdonk, AB, Drude, E et al. Quantitative bacteriology of the vaginal flora. *J Infect Dis*, 1977, 136: 271-277.
5. Ohm, MJ & Galask, RP. Bacterial flora of the cervix from 100 pre-hysterectomy patients. *Am J Obstet Gynecol*, 1975, 122: 683.
6. Eschenbach, DA. Infección vaginal. Pp. 221-240. *En Clínicas Obstétricas y Ginecológicas*. Madrid, Harper & Row Publishers, 1983.
7. Tashjian, JH, Coulam, CB & Washington, JA. Vaginal flora in asymptomatic women. *Mayo Clin Proc*, 1976, 51: 557-561.
8. Hurley, R, Stanley, VC, Leask, BGS & Louvois, J. Microflora of the vagina during pregnancy. Pp. 115. *In The normal microbial flora of man*. Skinner, FA & Carr, JG. Society for Applied Bacteriology. Symposium Series 3. Academic Press, London.
9. Holdeman, LV & Moore, WEC. *Anaerobe Laboratory Manual*. Blacksburg, Virginia Polytechnic Institute, 1972.
10. Chow, AW, Marshall, JR & Guze, LB. Anaerobic infections of the female genital tract: prospects and perspectives. *Obstet Gynecol Surv*, 1975, 30: 477-494.
11. Hill, MJ. Bacterial metabolism and human carcinogenesis. *Br Med Bull*, 1989, 36: 89-94.
12. Guzmán, N. Cáncer de cérvix uterino. *Histoe epidemiología de*

- una enfermedad social. Cali, Editorial Universidad del Valle, 1984.
13. Correa, P & Llanos, G. Morbidity and mortality from cancer in Cali, Colombia. *J Natl Cancer Inst*, 1966, 36: 717-745.
 14. Guzmán, N & Bueno, M. Tendencia del cáncer de cérvix uterino en Cali. *Antioquia Med*, 1974, 24: 249-257.
 15. Sanders, CV, Mickal, A, Lewis, AC & Torres, J. Anaerobic flora of the endocervix in women with normal versus abnormal Papanicolaou (Pap) smears. *Clin Res*, 1975, 23: 30A.
 16. Neary, MP, Allen, J, Okubadejo, OA & Payne, DJH. Preoperative vaginal bacteria and postoperative infections in gynaecological patients. *Lancet*, 1973, 2: 1291-1294
 17. Duerden, BI. The isolation and identification of *Bacteroides* spp from the normal human vaginal flora. *J Med Microbiol*, 1980, 13: 79-87.
 18. Duerden, BI. The isolation and identification of *Bacteroides* spp from the normal human fecal flora. *J Med Microbiol*, 1980, 13: 69-78.
 19. Duerden, BI. The isolation and identification of *Bacteroides* spp from the normal human gingival flora. *J Med Microbiol*, 1980, 13: 89-96
 20. MacDonald, JB & Gibbons, RJ. The relationship of indigenous bacteria to periodontal disease. *J Dent Res*, 1962, 41: 320-326.
 21. Fruton, JS & Simmonds, S. *General biochemistry*. 2th. Ed, New York, John Wiley & Sons Inc, 1958.
 22. Magee, PN & Schoental, R. Carcinogenesis by nitrous compounds. *Br Med Bull*, 1964, 20: 102-106.