

53-A
2010



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**"AISLAMIENTO Y FRECUENCIA DE Ureaplasma
urealyticum EN EL APARATO UROGENITAL DE
HOMBRES Y MUJERES QUE ASISTEN AL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA DEL
CENTRO MEDICO "LA RAZA."**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A
ANTONINO SAENZ PRIETO

**U N A M
ZARAGOZA**



**LO SUJARD
731
DE ARQUITECTA DE PLAZA**

ASESORES:

Q.F.B. MARTHA A. SANCHEZ RODRIGUEZ

DR. CELSO PEREZ ROSTRO

MEXICO, D. F.

DICIEMBRE 1994

**TESIS CON
FALSA DE ORIGEN**



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 está 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.

**ESTA TESIS FUE REALIZADA EN EL LABORATORIO DEL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA DEL CENTRO MEDICO
LA RAZA. I.M.S.S. DE LA CIUDAD DE MEXICO.**

BAJO LA DIRECCION DEL DR. Y Q. B. P.

CELSO PEREZ ROSTRO.

AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS

**GRACIAS A DIOS POR HABERME PERMITIDO
LOGRAR UNO DE LOS OBJETIVOS MAS IMPORTANTES
DE MI VIDA, A PESAR DE TODO.**

**A MI MAMI EMMA : PORQUE SIEMPRE NOS HA SABIDO SACAR ADELANTE A PESAR DE TODAS LAS ADVERSIDADES Y
PORQUE SIEMPRE HA ESTADO AL PENDIENTE DE NOSOTROS, SUS HIJOS. POR TODOS SUS SACRIFICIOS Y POR LA
CONFIANZA QUE ME HA TENIDO.
QUE DIOS LA BENDIGA.**

A MI PAPA: POR TODO LO QUE EL SIGNIFICA PARA MI.

**A MIS HERMANOS: ARTURO, GERARDO, MAURICIO Y ANGELA.
POR AQUELLO QUE NOS UNE Y QUE TAMBIEN NOS HA HECHO FALTA.**

**A MI ABUELITA ELOISA : POR ESTAR SIEMPRE AL CUIDADO DE NOSOTROS Y PORQUE SIEMPRE NOS HA BRINDADO
APOYO Y AFECTO EN TODO MOMENTO. DIOS TE BENDIGA.**

**A MI GORDITO GERARDO YAHET : POR ESA HERMOSA SONRISA Y POR LA ESPERANZA DE VIDA QUE TRAE CONSIGO
UN BELLO BEBE.**

**A MI MARTIANA (MARTHA B. RAMIREZ): POR SER UNA PERSONA A LA QUE DIOS PUSO EN MI CAMINO PARA HACERME
LA VIDA MAS LIGERA, A LA CUAL ADORO POR SUS PALABRAS DE CARÍO Y ALIENTO EN TODO MOMENTO.**

A TODA LA FAMILIA CHIRINO VAROAS, SIMPLEMENTE POR SER MI FAMILIA. LOS QUIERO Y RESPETO.

**A MIS ASESORES : Q.F.B. MARTHA SANCHEZ RODRIGUEZ DR. CELSO PEREZ ROSTRO
POR HABERME TENIDO CONFIANZA, POR BRINDARME SUS CONOCIMIENTOS, SU TIEMPO Y SU APOYO.
GRACIAS.**

**A MIS AMIGOS DE SIEMPRE: COQUITO, JAVIER Y ROSALBA POR LA GRAN AMISTAD, EL CARÍO Y LA CONFIANZA
QUE NOS UNE Y NOS HACE PARTE UNO DE OTRO DE MANERA SENCILLA Y DESINTERESADA.**

**A MIS AMIGOS: DIEGO, MATIS, MAX, PILAR, ROBERTO, ANGELICA,
SARA, RITA, MARTHA, ALMA, ROCIO, SANDRA. POR TODOS LOS MOMENTOS AGRADABLES QUE PASAMOS JUNTOS Y
POR SER COMO SON. GRACIAS.**

**A TODO EL PERSONAL DEL HOSPITAL DE INFECTOLOGIA: POR HABERME APOYADO EN LA REALIZACION DE ESTE
TRABAJO, PRINCIPALMENTE :
ESPERANZA ROMO, NORMA ALARCON, LETICIA GAYTAN, LOURDES GONZALEZ E IRMA BAHENA**

**UN AGRADECIMIENTO SUMAMENTE ESPECIAL A LA ING. SOCORRO OLMOS VIRUEL POR HABERME APOYADO EN LA
REALIZACION TOTAL DE ESTA TESIS, POR TODO SU VALIOSO TIEMPO Y DISPONIBILIDAD.**

**A MI JURADO: MI MAS PROFUNDO AGRADECIMIENTO A CADA UNO DE ELLOS POR LA ORIENTACION, APOYO Y
SUGERENCIAS HECHAS PARA LA REALIZACION DE ESTE TRABAJO.**

INDICE GENERAL

1.	RESUMEN	i
2.	INTRODUCCION.....	iii
3.	MARCO TEORICO.....	1
3.1.	GENERALIDADES.....	5
3.2.	DATOS HISTORICOS.....	7
3.3.	CARACTERISTICAS GENERALES DE MICOPLASMA.....	8
3.4.	ASPECTOS CLINICOS DE LA INFECCION POR <i>Ureaplasma urealyticum</i>	17
3.5.	SINTOMAS.....	21
3.6.	DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO.....	21
3.7.	COMPLICACIONES DE LA URETRITIS NO GONOCOCICA.....	22
3.8.	TRATAMIENTO DE LA URETRITIS NO GONOCOCICA.....	23
4.	FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA.....	24
5.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
6.	OBJETIVOS.....	28
7.	HIPOTESIS.....	29
8.	MATERIAL Y METODOS.....	30
8.1.	MATERIAL.....	30
8.1.1.	EQUIPO.....	30
8.1.2.	CRISTALERIA.....	30
8.1.3.	MATERIALES DIVERSOS.....	31
8.1.4.	REACTIVOS.....	32
8.1.5.	SOLUCIONES.....	33
8.2.	TECNICAS.....	34
8.2.1.	TIPO DE ESTUDIO.....	34
8.2.2.	UNIVERSO.....	34
8.2.4.	TOMA DE PRODUCTOS.....	34
8.2.3.	CRITERIOS DE INCLUSION Y NO INCLUSION.....	36
8.2.5.	FORMULACION Y PREPARACION DEL MEDIO PPLO ESPECIAL.....	37
8.2.6.	ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LAS MUESTRAS.....	40
8.3.	DISEÑO ESTADISTICO.....	43
9.	RESULTADOS.....	45
10.	ANALISIS DE RESULTADOS.....	63
11.	CONCLUSIONES.....	69
12.	ANEXOS.....	71
13.	BIBLIOGRAFIA.....	74

RESUMEN

La UNG es una enfermedad de transmisión sexual cada vez más frecuente en nuestra sociedad. Es causada principalmente por *C. trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum*. *C. trachomatis* es un microorganismo ampliamente estudiado y con un papel patógeno bien esclarecido, en cambio *U. urealyticum* es un microorganismo poco estudiado y que presenta un reto diagnóstico en el terreno clínico y de laboratorio, tanto para confirmar como para descartarlo como agente causal de UNG.

Por la dificultad y poca accesibilidad a los métodos de aislamiento e identificación de ureaplasma es evidente la emergencia de una metodología alternativa, con principios microbiológicos que forme parte de nuestra rutina asistencial, capaz de permitir su aislamiento y conocer sus implicaciones clínico-epidemiológicas.

Para este trabajo se llevó a cabo un estudio observacional, prospectivo, transversal y descriptivo, con el fin de aportar una metodología que toma como base el método tradicional para aislamiento de micoplasmas con Caldo y Agar PPLO; y proporcionar al mismo tiempo, criterios de diagnóstico clínico científicamente fundamentados para la sospecha de infección por *Ureaplasma urealyticum*.

Se estudiaron 57 pacientes en edad reproductiva que acudieron a la clínica de Enfermedades de Transmisión Sexual con sintomatología de patología urogenital. Se encontró una frecuencia de aislamiento positivo de *Ureaplasma urealyticum* en 19 pacientes (33%), 7 pacientes (12%) con cultivo negativo y 31 (55%) tuvieron otro padecimiento en donde ureaplasma no se relacionó. La mayoría de los pacientes fueron jóvenes sexualmente activos, en su mayoría varones.

Se identificó la posible importancia clínico-epidemiológica de las asociaciones entre microorganismos causantes de enfermedades de transmisión sexual, que pueden ocasionar infecciones mixtas, ya que de los 19 pacientes con cultivo positivo a ureaplasma, 11 (58%) mostraron asociaciones con otros microorganismos y solo 8 (42%) fueron cultivos puros de ureaplasma.

Se establecieron como criterios clínicos a la citología leucocitaria, con una confiabilidad diagnóstica de 75%; sensibilidad de 53% y especificidad del 87%.

A la disuria y al prurito también se les consideró criterios clínicos importantes, con una sensibilidad del 74% y 68%; especificidad del 47% y 97.4%; y confiabilidad diagnóstica del 56% y 88% respectivamente.

Por lo tanto, el medio que se propuso puede ser considerado eficiente para llevar a cabo el análisis microbiológico de muestras que provengan de pacientes con patología en el aparato urogenital y en donde se sospeche la presencia de *U. urealyticum* como posible agente causal.

Aunado a esto, podemos considerar a la citología leucocitaria de un exudado uretral o vaginal como un buen criterio para la sospecha de infección por *U. urealyticum* si el cultivo de *N. gonorrhoeae* es negativo, y a la disuria y al prurito como dos síntomas capaces de establecer asociaciones de la infección por Ureaplasma.

INTRODUCCION

Los estudios realizados por la OMS en diferentes naciones han demostrado que la incidencia de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) ha aumentado de manera considerable y alarmante (1).

Las ETS son un grupo de enfermedades infecto-contagiosas causadas por una gran variedad de microorganismos que tienen importancia médica y biológica.(2) Su clasificación se realiza con base a ciertas características clínicas y epidemiológicas en común. Su estudio ha tenido gran auge en la actualidad debido al interés por parte de médicos, investigadores y público en general en conocer cada vez más sobre este tipo de enfermedades que causan un grave problema de salud pública en nuestro país y en todo el mundo (1).

El término ETS en general, se aplica a un grupo de enfermedades que tienen en común el modo de transmisión sexual, es decir, la propagación de los microorganismos infecciosos se da casi exclusivamente por contacto sexual. Hasta hace poco tiempo a este conjunto de padecimientos se les denominó Enfermedades Venéreas en la medicina tradicional (venérea en relación a Venus, diosa del amor). Desafortunadamente este término restringe su definición a solo 4 enfermedades clásicas importantes que son: Sífilis, Gonorrea, Linfogranuloma venéreo y Chancro blando.(3) Pero debido al aumento de enfermedades que siguen el mismo patrón de transmisión, se ha dejado de emplear el calificativo enfermedades venéreas para cambiarlo por Enfermedades de Transmisión Sexual.(1,3)

La importancia de las ETS no reside únicamente en estas 4 enfermedades, ya que debido a su frecuencia, malignidad, características clínicas y epidemiológicas similares, se han ido incorporando al grupo muchas otras. Como ejemplo tenemos padecimientos urogenitales no gonocócicos, padecimientos de etiología viral, parasitaria y bacteriana en general.

Las ETS se presentan en muchos segmentos de la sociedad, siendo más frecuentes en grupos con mayor actividad sexual promiscua. Los índices más altos de estas enfermedades se descubren desde los 15 años hasta los 30 años y en grupos con nivel educativo y socioeconómico medio y bajo (4), aunque afectan en general a todas las clases sociales, a todas las profesiones, a todas las razas y edades. (1)

Son múltiples los factores determinantes que han ocasionado el aumento de las **ETS** en las diferentes sociedades. Dichos factores son:

- a) La ignorancia y los prejuicios sociales relacionados con las **ETS** están generalizados a casi toda la población e incluso al personal de sanidad que ignora muchas veces, la magnitud y complejidad del problema. En la mayoría de los países, la relación sexual no es objeto de comentario franco y abierto, por lo que la infección contraída como resultado del contacto sexual es mal vista por la sociedad y por el enfermo, como algo vergonzoso, indecente y que debe ocultarse. Por lo tanto muchos casos no son reportados y tampoco asisten a consulta médica oportuna.
- b) El extraordinario movimiento de masas de población en el mundo con motivos de trabajo y ocio, provoca en la mayoría de los casos, que los adolescentes ociosos se junten en las grandes ciudades y vendan su cuerpo para conseguir dinero para drogas y esparcimiento mal sano.
- c) Aumento de la libertad sexual por cambios en la moral, en las costumbres y en la actitud cada día más permisiva frente a la sexualidad.
- d) El aumento y divulgación de los métodos anticonceptivos, ocasionando una mayor frecuencia de las relaciones sexuales.
- e) Hoy día existen diferentes fuentes de contagio y no solamente la prostitución es el principal reservorio de las **ETS** pues la promiscuidad, la homosexualidad y bisexualidad han ido incrementando el número de personas infectadas. (1,2,5) Así también, las actividades y ocupaciones de la gente condicionan la propagación de la infección. Como ejemplo clásico, tenemos el caso de los marineros, que por su falta de contacto con mujeres, al llegar a puerto tienen relaciones sexuales con cualquier persona disponible para ello.

En la mayoría de los países, incluyendo el nuestro, no se dispone de la capacidad tecnológica suficiente para comprender, diagnosticar y en ocasiones proporcionar tratamiento adecuado a este tipo de pacientes con **ETS**. (1,3)

Una de las ETS que se ha incorporado a este grupo de padecimientos y que ha aumentado su frecuencia de manera importante, es la Uretritis no gonocócica (UNG). Esta enfermedad es causada por una gran variedad de microorganismos, aunque sólo son 2 los agentes etiológicos de mayor importancia. El primero *Chlamydia trachomatis*; agente ampliamente estudiado y el segundo *Ureaplasma urealyticum*; microorganismo poco estudiado en nuestro país por lo menos, y el que ha sido motivo de estudio de este trabajo.

MARCO TEORICO

La Uretritis es un síndrome frecuente en el varón, que puede presentar diversos agentes etiológicos. Además es un término utilizado para designar comúnmente inflamación por infección de la uretra y con exudación transuretral en la mayoría de los casos. Se clasifica de acuerdo a su agente causal en Uretritis gonocócica (UG) y Uretritis no gonocócica o inespecífica (UNG).

La UG comprende todas las infecciones causadas por *Neisseria gonorrhoeae*, adquirido generalmente por contacto sexual y que provoca síntomas tales como: sensación de comezón en la uretra, disuria, exudado de consistencia espesa, mucoso y purulento que gotea por la abertura del pene y que puede presentar eritema leve (1,2,3).

Las ETS han acompañado al hombre desde tiempos inmemoriales. Son padecimientos que presentan gran cantidad de agentes causales importantes desde el punto de vista clínico y epidemiológico. (Cuadro 1). La Gonorrea (UG), ha sido una de las enfermedades de mayor interés. Se tienen datos de Gonorrea Clínica alrededor del año 3500 antes de Cristo en un papiro egipcio. Las traducciones de las Tablillas Mesopotámicas revelaron una descripción hecha por médicos asirios, de una enfermedad uretral supurativa llamada Gonorrea. Hipócrates (366 a 450 antes de Cristo.) describe claramente el mecanismo de transmisión de la enfermedad (15). Así a través de los años la Gonorrea fue diseminándose y aumentando su frecuencia y malignidad, al grado de que en un tiempo fue considerada por los investigadores clínicos, como una epidemia (15).

En cambio, la UNG es un término empleado para designar un síndrome de disuria, urgencia y micción frecuente, aunado a un exudado uretral y sin evidencia de infección por gonococos. Es decir que su diagnóstico se establece por exclusión de la gonorrea (2,16,17). Esto se debe a que los signos y síntomas de ambas enfermedades son muy similares. Son numerosos los pacientes en quienes habiendo sufrido una gonorrea, persiste una uretritis tras la erradicación de *Neisseria gonorrhoeae*. A este tipo de uretritis se le denomina Uretritis Posgonocócica, que se incluye en la definición de las UNG (3). La UNG es una de las enfermedades de transmisión sexual diagnosticada con mayor frecuencia en los últimos tiempos y también la que ha demostrado tener gran variedad de agentes causales. Se calcula que hasta un 50% de hombres con gonorrea puede tener UNG en el mismo año o al mismo momento (2,3,18).

CUADRO 1. Microorganismos de Transmisión Sexual y Síndromes que producen

MICROORGANISMOS	SÍNDROME
BACTERIAS	
<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	Uretritis, Cervicitis, Artritis, Bartholinitis, Proctitis, Salpingitis, Conjuntivitis, Endocarditis, Faringitis, Epididimitis.
<u>Gardnerella vaginalis</u>	Vaginitis no específica
<u>Treponema pallidum</u>	Sífilis
<u>Haemophilus ducreyi</u>	Chancroide
<u>Calymmatobacterium granulomatis</u>	Granuloma inguinal
<u>Especies de Shigella</u>	Enteritis en varones homosexuales.
<u>Especies de Campylobacter</u>	Enteritis en varones homosexuales.
<u>Streptococcus del grupo B</u>	Sepsis y meningitis neonatales,
<u>Chlamydia trachomatis</u>	Uretritis no gonocócica, tracom, Cervicitis hipertrófica purulenta, Epididimitis, Conjuntivitis, Salpingitis, Neumonía.
<u>Ureaplasma urealyticum</u>	Uretritis no gonocócica, Rotura prematura de membranas, Abortos, Productos de bajo peso al nacer.
<u>Mycoplasma hominis</u>	Enfermedad pélvica inflamatoria, Fiebre postparto.
VIRUS	
Herpes simple	Herpes genital, Proctitis, Meningitis, Infección en neonatos.
Hepatitis A	Hepatitis en varones homosexuales.
Hepatitis B	Hepatitis en varones homosexuales.
Citomegalovirus	Infección congénita (defectos congénitos, mortalidad de lactantes, deficiencia mental), Síndrome de mononucleosis.
Papilomavirus	Condilomas acuminados
Molusco contagioso	Molusco contagioso.
PROTOZOARIOS	
<u>Trichomonas vaginalis</u>	Vaginitis tricomoniasica, en ocasiones Uretritis.
<u>Entamoeba histolytica</u>	Enteritis en varones homosexuales.
<u>Giardia lamblia</u>	Enteritis en varones homosexuales.
HONGOS	
<u>Candida albicans</u>	Vaginitis y Balanitis.
ECTOPARASITOS	
<u>Phthirus pubis</u>	Infestación por piojos púbicos.
<u>Sarcoptes scabiei</u>	Sarna.
Fuente: Wingarden, 1985.	

Las UNG pueden tener diversos agentes etiológicos y con base en ellos podemos clasificarlas en: UNG primarias y UNG secundarias.

Las UNG primarias se consideran totalmente enfermedades de transmisión sexual causadas por *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Herpes simple tipo II* y *Trichomonas vaginalis*. Así como, por otros agentes causales poco conocidos. (Cuadro 2) Las UNG secundarias comprenden lesiones intrauretrales, traumas, estenosis, tumores e infecciones urinarias, causadas por microorganismos diferentes a los antes mencionados. En este subgrupo de enfermedades no se ha considerado a los microorganismos como agentes causales, únicamente son causadas por mecanismos obstructivos o malignos que lesionan el epitelio uretral, presentándose con menor frecuencia las UNG secundarias que las UNG primarias (1,3).

Más de un 50% de las UNG están causadas por *C. trachomatis* otro 30 a 40% están causadas por *U. urealyticum* (6,9,10) quedando el porcentaje restante asignado a otros microorganismos poco frecuentes y a las UNG secundarias. *C. trachomatis* ha sido estudiada ampliamente, en cambio, *U. urealyticum* no ha sido lo suficientemente estudiado, ya que por lo menos en nuestro país se desconocen datos estadísticos de su incidencia y frecuencia.

CUADRO 2. Etiología de Uretritis no gonocócica transmitida sexualmente

MICROORGANISMO	AGUDA	PERSISTENTE	RECURRENTE
<u>Chlamydia trachomatis</u>	30-50 %	0 %	0-5 %
<u>Ureaplasma urealyticum</u>	30-40 %	40-50 %	10-20 %
Ninguno de los 2	20-30 %	50-60 %	70-80 %
<u>Trichomonas vaginalis</u>	1-2 %	5-10 %	1-2 %
Herpes simple	1-2 %	5-10 %	0 %
Levaduras	raro	raro	raro
<u>Gardnerella vaginalis</u>	raro	raro	raro
<u>Staphylococcus saprophyticus</u>	raro	nunca	nunca
<u>Corynebacterium genitalium</u>	raro	nunca	nunca

Fuente: Bowie, 1984.

GENERALIDADES

Ureaplasma urealyticum es una bacteria que pertenece al orden de los Mycoplasmatales, que incluyen especies bacterianas patógenas para el hombre. Son microorganismos que ocupan una posición particular en la escala descendente de los seres vivos, debido a que su tamaño es menor que el de las bacterias más pequeñas y en ocasiones aún más pequeños que los virus.

En el Cuadro 3, se presentan las principales diferencias de estos microorganismos con el resto de las bacterias y los virus, lo que los clasifica en un grupo especial. Los micoplasmas son los organismos más pequeños de vida libre y tienen además la peculiar característica de estar desprovistos de pared celular y de carecer de la maquinaria necesaria para la síntesis de los precursores de pared celular; debido a esto presentan un acentuado pleomorfismo.

Los micoplasmas, por el hecho de carecer de pared celular, son algo parecidos a las formas L, lo que podría provocar una confusión importante en cuanto a su identificación. Las formas L son bacterias en las que ha sido afectada la síntesis de pared celular o de cualquiera de sus precursores, ocasionando que carezcan de pared celular y por lo tanto semejando a los micoplasmas. (47)

Existe una manera sencilla de diferenciarlas, ya que las formas L son bacterias que proceden de una especie bacteriana conocida y que se forman por el efecto de un inductor, -por ejemplo, un antibiótico-, y que al momento de retirarlo, desaparece el efecto y la forma L revierte a una bacteria con todas sus funciones celulares normales, incluyendo la síntesis de pared celular. En cambio, los micoplasmas son microorganismos que carecen de pared celular definitivamente y que no se le conoce otra forma antecesora capaz de sintetizar pared celular aún en medios especiales como es el caso de las formas L en donde, incluso en agar sangre, se da la regeneración a la bacteria de la cual proviene (7,13).

Los micoplasmas están ubicados como saprófitos o parásitos de los Reinos Animal y Vegetal. Asimismo, son causantes de gran variedad de enfermedades en el hombre, provocando cuadros clínicos que sirven como modelo para evaluar el papel de los micoplasmas en gran diversidad de etiología incierta. Sin embargo, sólo se ha logrado esclarecer la patogenicidad de algunas especies como: *Mycoplasma pneumoniae* en enfermedades de vías respiratorias, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* y posiblemente *Mycoplasma genitalium* en enfermedades del tracto urogenital (4,8,9).

Cuadro 3. Características de Mycoplasmas comparado con Bacterias y Virus

CARACTERISTICA	MYCOPLASMA	BACTERIAS	VIRUS
Tamaño (diámetro)	0.3 um	1-2 um	0.5 um
Ausencia de pared celular	SI	NO	SI
Desarrollo en medios de cultivo artificiales	SI	SI	NO
Requieren de Esteroles y Proteínas para su desarrollo	SI	NO	NO
Número limitado de Hospederos	SI	NO	SI
Inhibición del crecimiento por anticuerpos específicos	SI	NO	SI
Resistencia a antimicrobianos activos contra pared celular	SI	NO	SI
Resistencia a antimicrobianos que inhiben el metabolismo celular	NO	NO	SI

Fuente: Braude, 1986

DATOS HISTORICOS

La relación de los descubrimientos que han llevado al conocimiento de los micoplasmas data desde el siglo XVIII cuando Pasteur, en Francia observó la pleuroneumonía del ganado y su naturaleza contagiosa sin poder aislar al microorganismo. Así en 1898, Nocard y Roux descubren un nuevo género de microorganismos que presentan propiedades morfológicas y de cultivo parecidas, siendo los primeros en aislar el agente causal de la pleuroneumonía, enfermedad contagiosa, peligrosa y mortal para el ganado bovino, por lo que se les llamó por largo tiempo organismos "PPLO" (pleuropneumoniae like organisms). (4,7)

Algunos años después, se descubrió claramente que los micoplasmas son agentes causales de enfermedades en animales, plantas y seres humanos. Bordet, Borrell y Dujardin, en 1910 inician sus estudios acerca de su morfología colonial.(12)

Al transcurso de algunos años, en 1923, Bride y colaboradores aislan un microorganismo parecido a los PPLO en cabras y ovejas que padecían agalactia contagiosa. (12)

En 1929, Elford determina su tamaño y concluye que oscila entre 125 y 250 micras. Y no fue sino hasta 1937, cuando Dienes y Etsall consiguen aislar el primer espécimen humano en el exudado purulento de una Bartolinitis (3,4). A consecuencia de este hallazgo y continuando con arduas investigaciones, en 1944, Eaton descubre el agente causal de la neumonía atípica primaria, al que se le denominó "Agente Eaton" y que no es otro más que *Mycoplasma pneumoniae* (11,12,13).

En 1954, Shepard describe el aislamiento de un microorganismo que produce colonias muy pequeñas (denominadas cepa "T" "tiny" pequeño), a partir de un paciente masculino con UNG. Este nuevo microorganismo presentaba propiedades metabólicas un poco diferentes al resto de los micoplasmas, por lo que se separaron en un género aparte llamado UREAPLASMA (4,9,12). Al continuar con más estudios, en 1956 se describieron 15 especies más y en el mismo año, Edmark y Freundt proponen la primera clasificación y nomenclatura ordenada para la familia de los Mycoplasmatales.

Con el hallazgo de Shepard en 1954 y en conjunto con otros estudios realizados sobre los micoplasmas, en 1974, se propone la taxonomía actual para los Mycoplasmatales (Cuadro 4) .

Cuadro 4. Taxonomía y Propiedades de Mycoplasma

CLASE:	MOLLICUTES			
DIVISION:	TENARICUTES			
ORDEN:	MYCOPLASMATALES			
FAMILIA:	MYCOPLASMATACEAE			
GENERO:	MYCOPLASMA	UREAPLASMA	ACHOLEPLASMATACEAE	SPIROPLASMATACEAE
ESPECIES:	69	5	1	3
EJEMPLOS:	<u>M. pneumoniae</u>	<u>U. urealyticum</u>	<u>Acholeplasma laidlawii</u>	<u>Spiroplasma</u>
	<u>M. hominis</u>	<u>U. diversum</u>		
	<u>M. fermentans</u>	<u>U. gallorale</u>		
	<u>M. genitalium</u>	<u>U. cat</u>		
		<u>U. felinum</u>		

Fuente: Holt, 1994 Manual Bergey's

CARACTERISTICAS GENERALES DE MICOPLASMAS

Como se muestra, los micoplasmas están clasificados en la clase Mollicute por ser encontrados en tejidos blandos y en el orden de los Mycoplasmatales por ser considerados, procariotes sin pared celular. Pertenecen a dicho orden por poseer ciertas propiedades particulares que los distinguen del resto de los microorganismos, como se muestra en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Principales propiedades de los Mycoplasmatales

- Son procariones y carecen de pared celular.
- G+C es de 23-40 mol%
- Colonias pequeñas (en promedio 200 μm).
- Muy pleomórficos
- Limitados por una simple membrana trilaminar.
- Gram negativos.
- Susceptibles a agentes lipolíticos.
- Se desarrollan en medios de cultivo artificiales.
- Su metabolismo es principalmente fermentativo.
- La mayoría son anaerobios fermentativos.
- La mayor parte de ellos se divide por fisión binaria.
- Son resistentes a la penicilina.
- Son susceptibles a la inhibición por anticuerpos.

Fuente: Mandell, 1986.

Como se puede apreciar, los micoplasmas difieren en algunas propiedades de las verdaderas bacterias y son marcadamente diferentes de los virus. No es inapropiado pensar que ellos son bacterias pequeñas gram negativas, sin pared celular, anaerobios facultativos y que se dividen por fisión binaria; aunque no se ha resuelto del todo, si algunos micoplasmas se reproducen, por formación de cuerpos elementales o por otro mecanismo diferente. Su genoma es aproximadamente la mitad del tamaño del genoma bacteriano, no son móviles y su desarrollo se inhibe por anticuerpos. A causa de su plasticidad, son muy pleomórficos y todos ellos tienen la tendencia a crecer dentro de las fibras que forma el agar en medio sólido artificial, produciendo una apariencia colonial de "huevo frito" (colonias largas o grandes) y de "erizo de mar" (colonias pequeñas).

"In vitro" producen colonias largas y maduras, con un diámetro promedio de 100 a 300 micras y colonias pequeñas o diminutas que miden usualmente de 10 a 25 micras de diámetro que pueden ser observadas con un microscopio invertido para facilitar su identificación. Aunque es importante considerar que el tamaño de ambos tipos de colonias variará y dependerá de las condiciones del cultivo. A excepción de *Acholeplasma*, el resto de los *Mycoplasmatales* requiere de esteroides, glucosa y arginina para su desarrollo. Estos microorganismos los podemos distinguir mejor por métodos serológicos, aunque sus propiedades metabólicas apoyan el diagnóstico de manera importante en cada género, como se muestra en la Tabla 1 (3,7).

Tabla 1: Propiedades Metabólicas importantes de los Mycoplasmas

Mycoplasma	Frecuencia de aislamiento	Metabolismo	Atmósfera	pH	Hemadsorción
<u><i>U. urealyticum</i></u>	común	urea	anaerobiosis	6.0	serotipo 3 únicamente
<u><i>M. hominis</i></u>	común	arginina	aerobiosis	7.0	no
<u><i>M. fermentans</i></u>	raro	glucosa y arginina	anaerobiosis	7.5	no
<u><i>M. genitalium</i></u>	raro	glucosa	anaerobiosis	7.5	sí
<u><i>M. pneumoniae</i></u>	raro	glucosa	aerobiosis	7.5	sí
<u><i>M. orale</i></u>	común	arginina	aerobiosis	7.5	sí
<u><i>M. salivarium</i></u>	raro	arginina	anaerobiosis	7.0	no

Fuente: Mandell, 1986.

NOTA: El metabolismo de cada microorganismo, se refiere a la hidrólisis de arginina, urea o fermentación de glucosa, según sea el microorganismo en estudio. Si hidroliza arginina, quiere decir que la hidrólisis de urea no se lleva a cabo y que la fermentación de glucosa tampoco, a menos que se especifique otra cosa.

Los micoplasmas han adquirido gran importancia clínica desde que se reconoció su papel patógeno en diferentes padecimientos, como:

- Neumonía atípica primaria
- Uretritis no gonocócica
- Infecciones cervicovaginales en mujeres sexualmente activas

En la familia de los Mycoplasmas, el género Ureaplasma tiene una sola especie humana de interés clínico llamada *Ureaplasma urealyticum*. Dicho microorganismo presenta gran diversidad de serotipos y se distingue del resto de los micoplasmas por sus características metabólicas tales como: metabolismo no fermentativo de glucosa y arginina e hidrólisis de urea. (Tabla 1)

De las siete especies de Mycoplasmas aisladas del tracto urogenital humano, *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* han sido encontrados con mayor frecuencia.

Ureaplasma urealyticum es una de las 5 especies del género Ureaplasma y *M. hominis* es una de por lo menos 50 especies del género mycoplasma dentro de la familia de los Mycoplamataceae, clase Mollicutes, capaces de causar enfermedades urogenitales.

U. urealyticum y *M. hominis* presentan las propiedades generales de los Mycoplasmatales y sus características son: carecer de pared celular, cultivo y desarrollo en medios artificiales y libres de células, requieren colesterol para su desarrollo, son inhibidos por anticuerpos, son susceptibles a antimicrobianos que afectan la síntesis proteica, -como ejemplo, Eritromicina y Doxiciclina-, y son resistentes a los que actúan a nivel de pared celular -como ejemplo, Vancomicina y Bacitracina-, están limitados por una membrana plasmática de 75 a 100 amstrong de espesor, compuesta por proteínas, glucolípidos, colesterol y magnesio que ayuda a mantener su integridad física y química. Una gran variedad de formas pleomórficas pueden verse, dependiendo de la cepa, la edad del cultivo y del método de examen. Pueden ser de diferentes formas: esférica, piriforme, filamentososa o helicoidal, por lo que se consideran muy pleomórficos.

Por la ausencia de pared celular son susceptibles a lisis por choque osmótico, detergentes y alcoholes (7).

Los componentes intracelulares que los integran, están constituidos por ribosomas y filamentos nucleares de **DNA** y **RNA**.

Se reproducen mediante la formación de un tabique bien definido, con la integración de unidades reproductoras, de cerca de 0.3 nm, aunque en realidad es difícil establecer sus dimensiones, debido a su gran plasticidad. Es probable que estas pequeñas unidades se conformen a partir de células de mayor tamaño, de las que después se apartan, semejando una gemación.

La integración de los septos aparentemente es regulada por mesosomas, ausentes en el resto de los Mycoplasmatales, lo cual les da un particular ciclo reproductor.

Los micoplasmas que habitan o se establecen en el tracto genital humano presentan características bioquímicas específicas que los diferencian unos de otros y que nos ayudan a dar una clasificación e identificación de dichos microorganismos de difícil aislamiento. También, como ya se mencionó, podemos diferenciarlos con base a su morfología colonial, ya que *U. urealyticum* produce colonias muy pequeñas de aproximadamente 20-30 nm de diámetro y el resto de los micoplasmas produce colonias de 200-300 nm en promedio. Al crecer en medios de cultivo artificial, sus colonias presentan en general forma típica de "huevo frito", compuesta por dos zonas: una central granular y densa, y la otra periférica translúcida. En cambio *U. urealyticum* solo es capaz de desarrollar una zona densa granular que da la apariencia de "erizo de mar" (2,7,13).

Para el aislamiento de micoplasmas genitales, es necesario contar con medios de cultivo especiales y selectivos. Por algunos años, el medio más utilizado fue el caldo y agar "PPLO" (De pleuropneumoniae like organisms), que contiene infusión cerebro corazón y era suplementado con extracto de levadura fresca al 10% y suero de caballo al 20%. En caldo llegan a desarrollar en condiciones atmosféricas, pero se reproducen mejor en caldo y agar que se encuentre en una atmósfera de 95% de nitrógeno y 5% de CO₂, aunque desarrollan bien en CO₂ parcial del 5-10%.

Para detectar el desarrollo de *U. urealyticum* se hecha mano de su actividad metabólica, agregando al medio rojo de fenol como un colorante-indicador de pH. Los ureaplasmas crecen mejor a un pH de 5.5 a 6.0 (único en su familia), posee un sistema enzimático de ureasa (21), que degrada la urea a amoníaco por la ruptura de sus enlaces, elevando el pH del medio de cultivo y provocando con ello un vire de color que va de amarillo a rojo, si se emplea rojo de fenol (rango de pH 6-8.2). Son microorganismos Gram negativos, no móvil, microaerofílico, con una temperatura óptima de crecimiento de 37 °C, con pobre crecimiento a 22 °C y sin desarrollo a 42 °C (32). En cambio, el resto de los micoplasmas tienen un efecto inverso en el medio de cultivo, es decir, ellos son normalmente fermentadores de arginina o glucosa y por lo tanto decrecen el pH del medio por formación de ácido, provocando con esto que el vire sea de rojo a amarillo al emplear rojo de fenol y un pH final que va de 7.0 a 7.8 para su buen desarrollo. Por estos importantes cambios en el medio de cultivo, debe de sembrarse en caldo y agar fresco para evitar la muerte del ureaplasma. El uso de ésta técnica líquido-agar, es un método sensible para el aislamiento de *U. urealyticum* y *Mycoplasma hominis*.

El cultivo de *U. urealyticum* no toma mucho tiempo, generalmente de 24 a 48 horas, mientras que *M. hominis* y *M. genitalium* toman alrededor de 7 y 60 días respectivamente en desarrollar, lo que nos da una importante diferencia para su hallazgo.

Ureoplasma urealyticum es un microorganismo muy exigente para desarrollar en medios de cultivo artificiales comunes, ya que los medios de cultivo deben contener numerosos factores de crecimiento, así como, diversas sustancias o elementos que sirvan para visualizar el cultivo y para eliminar contaminantes bacterianos. (Anexo 1)

Tabla 2: Medios de cultivo para Ureaplasmas

Nombre del medio	Tipo de medio
Agar E	sólido
Agar A7B	sólido
Agar PPLO	sólido
Agar A-7	sólido
Agar New York City	sólido
Caldo PPLO	líquido
Caldo Boston	líquido
Caldo U9B (urea)	líquido
Caldo tipo A3	líquido
Caldo urea-arginina tipo Sp4	líquido

Fuente: Yajko, 1990.

Como se observa en la Tabla 2, se han probado y empleado una gama de diferentes medios de cultivo que favorecen el desarrollo de *Ureaplasma urealyticum*. Por sus necesidades metabólicas, los ureaplasmas necesitan de colesterol, útil para la elaboración de su membrana plasmática y además necesitan numerosos factores de crecimiento como: precursores de ácidos nucleicos, clorhidrato de cisteína, extracto de levadura, etc, para compensar su débil poder de síntesis ligado al reducido tamaño de su genoma. (Cuadro 6) En dicho cuadro, se muestran los constituyentes esenciales del medio del cultivo y su función metabólica en el crecimiento de Ureaplasma "in vitro", ya que sin ellos no podrían ser cultivados.

Cuadro 6: Suplementos necesarios para el cultivo de Mycoplasmas.

CONSTITUYENTE	FUNCION
Peptonas	Medio base para Mycoplasmas.
Factores de crecimiento como lipoproteínas (en suero de caballo)	Aporte de colesterol para la elaboración de la membrana citoplásmica
Extracto de levadura, derivados aminados, urea.	Multiplicación y crecimiento de mycoplasmas.
Clorhidrato de cisteína	Agente reductor; mantenimiento de de la microaerofilia necesaria para el crecimiento.
Sustratos: Urea, Arginina Glucosa.	Estudio de los caracteres metabólicos.
Indicadores de color: MnSO ₄ en agar	Visualización del cultivo: colonias de ureaplasma teñidas de marrón por el MnO ₂ .
Rojo de fenol en el caldo	Viraje del indicador en el caldo, evidenciando crecimiento.
Buffer o tampón	Mantenimiento del pH del agar en 6.0
Antibióticos	Eliminación de los contaminantes bacterianos.

Fuente: Manual BioMérieux, 1990

Para el hallazgo de U. urealyticum en el tracto urogenital es necesario contar con medios de cultivo especiales, ya que no pueden ser aislados e identificados por los medios de cultivo tradicionales de rutina, ocasionando con ello un serio problema, pues no todos los laboratorios tienen la suficiente infraestructura para llevar a cabo este tipo de estudios microbiológicos, provocando errores en el diagnóstico por la falta de tecnología adecuada. Aunado a esto, el microorganismo es capaz de causar persistencia y recurrencia, en ocasiones aún después del tratamiento, lo que hace más difícil controlar la infección por Ureaplasmas y por otros micoplasmas.

U. urealyticum a través del tiempo y de diversos estudios epidemiológicos ha adquirido gran importancia médica, pero a pesar de ello, la presencia de Ureaplasma y micoplasmas en general en individuos sanos, ha planteado duda sobre su patogenicidad. Sin embargo, en la actualidad está completamente aceptado que las afecciones por Ureaplasma son auténticas Enfermedades de Transmisión sexual. Es conveniente resaltar que la mayoría de individuos que están colonizados por estas bacterias, lo deben al grado de actividad sexual y al número de parejas sexuales; aumentando la frecuencia del hallazgo de Ureaplasma urealyticum en pacientes promiscuos.(7,9,19,27)

ASPECTOS CLINICOS DE LA INFECCION POR Ureaplasma urealyticum

Ureaplasma urealyticum se encuentra ampliamente diseminado, afectando principalmente el tracto genitourinario, e incluso puede provocar enfermedades de la reproducción.

Algunas personas colonizadas con U. urealyticum no llegan a mostrar ningún tipo de signo o sintoma de enfermedad, por lo que se considera de bajo grado de patogenicidad.

U. urealyticum puede crecer en el tejido mucoso del tracto urogenital y a pesar de su aparente bajo grado de patogenicidad, se le ha incriminado fuertemente como agente causal de Uretritis no gonocócica (28) y se ha asociado a otros padecimientos urogenitales como: Pielonefritis, Calculos urinarios, Prostatitis, Epididimitis, Síndrome uretral, Leucorrea y absesos de la glándula de Bartholin. Se le ha relacionado también, con trastornos de fertilidad y de esterilidad, así como en procesos de Salpingitis y Endometritis (Cuadro 7)(19,29)

El Cuadro 7, muestra enfermedades donde U. urealyticum interviene como agente causal de la Uretritis no gonocócica y de la Uretroprostatitis. También indica o sugiere otras muchas enfermedades donde ocasionalmente provoca serios problemas de salud. Como ejemplo, trastornos perinatales, asociándole con abortos, óvitos, neonatos de bajo peso y neumonía en el recién nacido.(27,29)

Cuadro 7: Asociación de *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* con enfermedades genitourinarias y de la reproducción.

ENFERMEDAD	Evidencia que sugiere una asociación de <i>Mycoplasma</i> con la enfermedad		Evidencia que indica que el mycoplasma es agente causal	
	U.u.	M.hominis	U.u.	M.hominis
U.N.G.	++++	(-)	++++	(-)
Uretroprostatitis	+++	++	++	+
Epididimitis	++	(-)	(-)	(-)
Calculos urinarios	++	(-)	+	(-)
Pielonefritis	+	++++	(-)	++++
Enfermedad de Reiter	+	(-)	(-)	(-)
Abceso de glándula de Bartholin.	(-)	+	(-)	(-)
Vaginitis y Cervicitis	(-)	++	(-)	(-)
Enfermedad pélvica inflamatoria.	+	++++	(-)	++++
Fiebre postaborto	(-)	++++	(-)	++++
Fiebre postparto	(-)	++++	(-)	++++
Infertilidad	++	(-)	+	(-)
Repetidos abortos espontáneos y productos muertos	++	(-)	(-)	(-)
Corioamnionitis	++	(-)	(-)	(-)
Productos de bajo peso	++	+	(-)	(-)
Meningitis	+	(-)	(-)	(-)
Artritis reumatoide	+	(-)	(-)	(-)

++++ (fuertemente implicado) +++ (implicado)
 ++ (moderadamente implicado) (-) (no implicado)

U.u. = *Ureaplasma urealyticum*
 M. hominis = *Mycoplasma hominis*

Fuente: Taylor-Robinson, 1988.

La Neumonía en neonatos causada por ureaplasma, se debe a la colonización vaginal que va del 40 al 90% de las mujeres, y provoca colonización en el recién nacido del 15 al 33%. Afortunadamente esto no persiste por largo tiempo, ya que conforme aumenta la edad del bebé desaparece el microorganismo de su cuerpo, pero a pesar de ello, se han reportado algunos casos de Neumonía neonatal por Ureaplasma. Ocorre algo similar con los aislamientos reportados en placenta, endometrio, articulaciones, corión, sangre y riñones, en donde *U. urealyticum* ha ocasionado la enfermedad de manera importante en algunos casos. Tal situación indica que el microorganismo tiene baja patogenicidad y es una bacteria oportunista que solo bajo ciertas condiciones provoca enfermedad.

U. urealyticum es un organismo que se transmite casi exclusivamente por contacto sexual y mientras más parejas se tengan aumenta la proporción de adquirirla. Esto se relaciona con la Enfermedad pélvica inflamatoria, pues el microorganismo, se identifica hasta en un 50% de las mujeres sexualmente activas, por lo que se hace meritorio a incluirlo en el estudio de pacientes con infertilidad.

Los ureaplasmas han demostrado cierta preferencia por la uretra masculina, en donde una vez establecido puede diseminarse a los órganos cercanos como el epidídimo, próstata y glándula de Bartholin. En algunos estudios sobre fertilidad masculina, se ha recobrado *U. urealyticum* del semen en el 47% de los varones. Las alteraciones encontradas en estos varones fueron: a) baja motilidad de los espermatozoides, b) formas aberrantes de los espermatozoides y c) bajo número de espermatozoides, cuando se le comparó con el semen de varones que no tenían el microorganismo, los cuales al ser sometidos al tratamiento, mejoraron los datos clínicos (7,22).

El Cuadro 7, nos muestra también que los ureaplasmas se encuentran asociados a Epididimitis, Calculos urinarios e Infertilidad, de manera moderada y no como el principal agente causal, ya que este papel carece de la suficiente evidencia clínica para asegurarlo. Algo similar ocurre con la Pielonefritis, Síndrome de Reiter, Prostatovesiculitis y Meningitis; en donde solo se ha encontrado escasa evidencia y una sugestiva asociación de *U. urealyticum* como agente causal de dichas complicaciones (20,28)

U. urealyticum se asocia con cierta frecuencia a otros microorganismos capaces de infectar la uretra y por lo tanto es común ver asociadas la infección por *U. urealyticum* con el gonococo y también con *Chlamydia trachomatis*, interviniendo en el cuadro clínico de UNG, por este motivo si el paciente no recibe tratamiento oportuno puede llegar a tener graves complicaciones como las que se mencionan en el Cuadro 7.

Uno de los padecimientos en donde *U. urealyticum* está implicado de manera importante, es la Uretritis no gonocócica, aunque la enfermedad no es causada exclusivamente por ureaplasmas, pues existen diversos microorganismos como agentes causales de la UNG (Cuadro 2).

La Uretritis no gonocócica se presenta tanto en la uretra masculina como en la femenina, siendo éstos los sitios más comunes en donde se puede establecer *U. urealyticum*, causando infecciones agudas o crónicas. Las porciones bulbosa y péndula de la uretra masculina y toda la uretra femenina, están revestidas de una gran cantidad de glándulas periuretrales. Los gérmenes que penetran en el tracto genitourinario, específicamente en el caso de la UNG, lo hacen por vía ascendente, e incluso por vía hematógena o linfática en general, colonizando las glándulas periuretrales y el epitelio uretral, produciendo una infección aguda o crónica que va a depender del número de unidades formadoras de colonias capaces de provocar la infección.(2,23)

En las mujeres con uretritis aguda, se presentan a menudo síntomas similares a las infecciones vesicales agudas. En los varones, es diferente, ya que la uretritis suele presentarse con un exudado uretral purulento (en caso de uretritis gonorreica) o mucosidad blanquizca en casos de tipo no gonorreico o inespecífico (23,24).

La UNG suele iniciarse con una infección de la uretra que provoca un exudado poco espeso, amarillento y translúcido.

La mejor manera de diferenciar por el laboratorio la Uretritis gonocócica de la Uretritis no gonocócica, es examinando al microscopio muestras del exudado teñidas con la técnica de Gram. Si el exudado presenta gonococos intra o extracelulares y polimorfonucleares se puede decir que se trata de una Uretritis gonocócica, en el caso contrario, si no se observan los gonococos y se observan algunos polimorfonucleares, lo más seguro es que se trate de Uretritis no gonocócica.

SINTOMAS

Los síntomas se presentan entre 7 y 14 días, y ocasionalmente hasta los 28 días después de haber tenido una relación sexual desencadenante de la enfermedad, con una pareja no habitual. El varón descubre que tiene un exudado por la uretra, en ocasiones mucopurulenta. Al orinar, el paso de la orina por la uretra produce dolor y escozor, a menudo poco intenso, pero molesto. Los síntomas pueden ser más intensos por la mañana, cuando los bordes del meato uretral están a menudo pegados por las secreciones secas, sintiendo agudo dolor en la vejiga y una urgente y frecuente micción. En la exploración, el meato uretral aparece eritematoso, con signos de presencia de secreciones secas en la ropa interior del enfermo. De forma ocasional, el inicio puede ser más grave, con disuria, polaquiuria y emisión abundante de exudado purulento.

Tras un contacto sexual rectal y orogenital, puede aparecer Proctitis y Faringitis.

La mayoría de las mujeres son asintomáticas, si acaso pueden presentar flujo vaginal, disuria, polaquiuria, dolor pelviano, dispareunia y síntomas de Proctitis o de Faringitis. En ocasiones hay Cervicitis, con el típico exudado mucopurulento de aspecto amarillento (2,23).

DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO

El diagnóstico se basa en el examen bacteriológico realizado de la recolección de muestras de endocervix y fondo vaginal en las mujeres, y de la uretra en el varón, para su cultivo en medios especiales, así como de la realización de una cuidadosa historia clínica.

Por el hecho de presentar síntomas similares, es necesario distinguir la Uretritis gonocócica de la no gonocócica, debido a que ambas enfermedades difieren en su etiología, tratamiento, pronóstico y secuelas.

En los varones, las extensiones del exudado uretral teñidas con Gram, se observan abundantes polimorfonucleares y algunas células epiteliales, pero no a los organismos patógenos, cuando se trata de UNG. En cambio, en la UG sí podemos observar a los diplococos gram negativos, intra y extracelulares, además de polimorfonucleares (2,7,23).

En los casos más leves, para demostrar una Uretritis puede ser necesario un análisis de orina, que muestra un número mayor o igual a 5 polimorfonucleares por campo de alta resolución. Si persisten dudas en el diagnóstico, es mejor examinar la primera orina de la mañana, si no es posible recolectar esta muestra, se puede recolectar la orina del paciente de por lo menos 2 a 4 horas después de la última micción. En caso de infección, el frotis uretral con escobillas o hisopo de alginato de calcio, proporciona habitualmente suficiente cantidad de material para confirmar el diagnóstico en el examen de laboratorio (25,26).

Chlamydia trachomatis es un agente causal fuertemente implicado en la Uretritis no gonocócica, por lo que se procederá a realizar su estudio, ya sea por medio de cultivos celulares o mediante técnicas especiales como la de inmunofluorescencia directa, realizada con anticuerpos monoclonales específicos, en las secreciones genitales de pacientes en quien se sospeche de UNG. A su vez es conveniente complementar el diagnóstico con el estudio de otros agentes causales, como Herpes genital tipo II o Candida albicans para evitar complicaciones y llevar un mejor control del paciente infectado y de su pareja o parejas.

COMPLICACIONES DE LA URETRITIS NO GONOCOCICA

El no atender a tiempo este tipo de padecimientos conlleva a que los varones presenten inicialmente complicaciones locales importantes, las que incluyen Epididimitis, Prostatitis y estenosis uretral; en las mujeres destacan la Bartholinitis, Salpingitis y Cervicitis. Una complicación grave es el Síndrome de Reiter, que cursa con Artritis y Conjuntivitis, sobre todo cuando la Uretritis no gonocócica es causada por C. trachomatis, ya que U. urealyticum sugiere evidencia de asociación más no de causalidad. A pesar de la asociación que presenta, se han llegado a reportar casos de que ureaplasma puede causar Pielonefritis, Calculos urinarios, productos de bajo peso al nacer, Meningitis, enfermedades pulmonares en neonatos, corioamnionitis, etc. (9,28,29), y en general una gama de padecimientos neonatales que cada vez van adquiriendo mayor frecuencia e importancia dentro del campo de la Perinatología (31).

TRATAMIENTO DE LA URETRITIS NO GONOCOCICA

En general, los micoplasmas son susceptibles a los agentes antimicrobianos que afectan la síntesis proteica, DNA, RNA, o que afectan la integridad de la membrana celular. Los micoplasmas en cambio, no son susceptibles a agentes que interfieran con la síntesis de ácido fólico o que actúen sobre pared celular. Las tetraciclinas, eritromicinas, clindamicina, minociclina, cloranfenicol, aminoglucósidos y las fluoroquinolonas, como la ofloxacina, han mostrado a través de diversos estudios, tener buena actividad contra una o más especies de Mycoplasma (30).

Las infecciones no complicadas, en donde ureaplasma es el agente causal, se tratan a base de tetraciclina, doxiciclina o eritromicina, según sea lo mejor tolerado por el paciente, por un periodo de 7 a 10 días. En los enfermos con recaídas o complicaciones serias, es preciso administrar tandas más prolongadas de tratamiento (de 21 a 28 días) e incluso combinaciones de antibióticos, cuando se sospecha de asociación con otros microorganismos que estén causando enfermedad.(23,29)

Cuando el daño es mayor a veces es necesaria una aspiración, drenaje e incluso extirpación quirúrgica, como sucede en la infección de las glándulas de Bartholin.

En la Uretritis no gonocócica, pasa algo peculiar, aún sin tratamiento apropiado los síntomas y signos remiten en general, antes de 4 semanas en aproximadamente el 60 al 70% de los casos. Por lo que las condiciones generales del paciente, son importantes en el cuadro clínico. Es necesario alertar a los pacientes, sobre la necesidad de abstenerse de toda relación sexual hasta finalizar el tratamiento y conseguir la total remisión de la enfermedad, e informarles que deben examinarse y tratarse todos sus compañeros sexuales.

FUNDAMENTACION DE LA ELECCION DEL TEMA

Por años, el síndrome clínico de Uretritis, escurrimiento purulento y disuria en el varón se consideraron sinónimos de Gonorrea. Sin embargo, con avanzados y cuidadosos estudios para el aislamiento e identificación del gonococo en pacientes con uretritis purulenta, *N. gonorrhoea* apareció en cantidades variables. Estudios adicionales para la identificación de otros agentes bacterianos, en los pacientes con uretritis purulenta, negativos para *N. gonorrhoea* no dieron resultados satisfactorios al trabajarse con métodos tradicionales. Por este motivo las uretritis purulentas negativas para el gonococo, se han denominado Uretritis no gonocócicas (UNG) (1,2). Recientemente se propuso una definición de las UNG basada en dos criterios: 1) La presencia de más de 4 neutrófilos por campo en las preparaciones de Gram de secreciones uretrales y 2) Un cultivo negativo para *N. gonorrhoea*. (1,2,6)

El diagnóstico de UNG requiere de la demostración de un exudado uretral y de la presencia de un proceso inflamatorio, con descarga espontánea de líquido. Por tanto los pacientes deben examinarse varias horas después de la última micción para asegurar la demostración del derrame. A menudo la demostración requiere de "ordeño" uretral, del cual se hace un frotis que se tiñe con la técnica de Gram, para poner en evidencia la existencia de un promedio de por lo menos 5 neutrófilos por campo y sugerir así una posible uretritis. Si el frotis y el cultivo son negativos al diplococo gram negativo; por exclusión se diagnostica UNG, ya que lo contrario sería una Uretritis gonocócica. (1,2,12,13).

Las manifestaciones clínicas de la Uretritis gonocócica y de la UNG son similares. En la UNG pueden o no presentarse dichas manifestaciones. Los síntomas típicos de la UNG pueden incluir principalmente descarga uretral, disuria, comezón con ardor en el meato urinario e inflamación. La descarga es purulenta o mucóide, evidente en la mañana y desapareciendo a veces el resto del día.

El problema diagnóstico no surge al diferenciar la UG de la UNG, sino que se da por el hecho de que la UNG tiene una etiología variada y algo incierta, que no puede ser identificada por los medios tradicionales de rutina, como agar sangre, agar Thayer Martin, agar sal y manitol, etc., utilizados en el laboratorio, complicando el diagnóstico. Para facilitar el hallazgo de posibles agentes causales de UNG se han tenido que implementar técnicas de laboratorio complicadas que pueden no estar al alcance de todos los laboratorios

La búsqueda de agentes causales de las UNG, ha sido intensiva y se ha logrado aislar e identificar una gran variedad de microorganismos. Los agentes etiológicos de las UNG se observan en el Cuadro 2 con los diferentes porcentajes de aislamiento.

Los agentes etiológicos comunes son *C. trachomatis* y *U. urealyticum*, debido a que se han aislado con suficiente frecuencia para ser considerados importantes agentes de la UNG (5,6)

El presente estudio se centra en la investigación de una de estas importantes causas, *Ureaplasma urealyticum*, pues en nuestro país se carece de un estudio adecuado y de una metodología para su aislamiento.

Los ureaplasmas son microorganismos limitados por membranas y que aparecen como cuerpos cocoides, filamentosos, etc. mostrando gran pleomorfismo por la carencia de pared celular. Las células son generalmente esféricas y miden de 0.3 a 0.5 μ m de diámetro, se tiñen mal con la tinción de Gram y producen colonias de muy pequeño tamaño (15 a 30 micras); estas son transparentes, circulares, de centro oscuro que a veces tiene periferia granular. Son parásitos obligados pero que pueden tener vida independiente al desarrollarse en medios artificiales enriquecidos con peptonas, sueros, urea, etc. y en condiciones ambientales de anaerobiosis y acidez. Algunos medios recomendados para su aislamiento y que contienen parte de los componentes antes citados son: Agar A-7, Agar E, Agar New York City, etc. y algunos caldos como: Caldo Boston, Caldo urea, Caldo PPLO, etc. utilizados por un alto porcentaje de hallazgo (10,14,15,16).

La identificación de la especie se realiza por pruebas fisiológicas y serotípicas.

U. urealyticum, posee un sistema enzimático de ureasa, que le da la característica de hidrolizar la urea, en amoníaco y agua (aumentando el pH del medio, que se pone de manifiesto por la adición de rojo de fenol al medio), el cual es utilizado fundamentalmente para su identificación (7,8,12).

No hidroliza arginina, glucosa y esculina, a diferencia de los demás micoplasmas. Serotípicamente *U. urealyticum* ha sido identificado con antisueros específicos y con pruebas de inhibición del metabolismo y del crecimiento.

Desafortunadamente estos métodos son complejos, lentos y costosos para llevar a cabo la identificación. Además *U. urealyticum* tiene una gran heterogenicidad antigénica, lo cual implica una dificultad en la identificación con pruebas serológicas.(7,8) .

Por la dificultad y poca accesibilidad a los métodos de aislamiento e identificación de *Ureaplasma urealyticum*; así como, por la importancia del diagnóstico etiológico de Uretritis no gonocócica, se dió la motivación para la realización del presente trabajo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Debido a la variedad de agentes etiológicos de la Uretritis no gonocócica, existe dificultad e imposibilidad en el diagnóstico del agente causal de dicha enfermedad, tanto del terreno clínico como del laboratorio, ya que no se conocen manifestaciones patognomónicas ni la tecnología adecuada, por lo menos en nuestro país, para la identificación precisa de cada agente causal.

En la Tabla 1 se puede apreciar que son dos las causas más importantes de la UNG. *C. trachomatis* y *U. urealyticum*; por lo tanto es necesario contar con la implementación técnica que nos permita la detección de estos dos microorganismos.

Hasta ahora existe la posibilidad de detección para *C. trachomatis* por métodos microbiológicos y serológicos, empleando en mayor grado la técnica de Inmunofluorescencia directa, entre otras.

Respecto a *U. urealyticum*, se le ha señalado como agente patógeno, en un porcentaje que va desde el 30-40% en los pacientes con UNG aguda.

Al parecer, se carecen de datos estadísticos nacionales sobre la frecuencia de asociación de la UNG con *U. urealyticum*. Por lo tanto existe la necesidad de implementar una metodología apropiada para el aislamiento y caracterización de ureaplasma. Es importante la detección y la relación de este microorganismo con la UNG y con algunos serios problemas neonatales, para así poder dar a los pacientes tratamiento específico y a su vez iniciar el estudio en nuestro país sobre la epidemiología de esta infección.

Por otro lado, existen en el mundo medios de cultivo prefabricados que permiten el cultivo de *U. urealyticum*; son productos de importación para los cuales solo de forma eventual se tiene acceso. Por tal motivo es justificable implementar una metodología propia, alternativa y sencilla que nos permita no depender de la importación y seguir aislando a *Ureaplasma urealyticum*.

OBJETIVOS

- 1.- Implementar una secuencia técnica más sencilla y práctica que el método tradicional, para el aislamiento e identificación de *Ureaplasma urealyticum*.
- 2.- Determinar la frecuencia de aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en pacientes con Uretritis no gonocócica.
- 3.- Proponer criterios clínicos para la sospecha de infección por *Ureaplasma urealyticum*.

HIPOTESIS DEL TRABAJO

Una de las causas importantes de Uretritis no gonocócica es *Ureaplasma urealyticum*, por lo tanto existirán datos clínico-epidemiológicos asociados con la infección por dicho microorganismo, que nos permitirán dar criterios clínicos de diagnóstico.

MATERIAL Y METODOS

EQUIPO

NOMBRE

MARCA

- Autoclave automática Baumer HI-SPEED
- Balanza Analítica Sartorius (cap. 100g) modelo 025408
- Estufa a 37 °C J.M.Ortiz. Aparatos para Bacteriología y química Stockwell.
- Campana de flujo laminar Siemens, Veco R920
- Baño de agua a 37 °C J.M.Ortiz. Stockwell
- Refrigerador Kelvinator; corporex de luxe.0-10 °C
- Congelador a -70 °C Revco automático; ultra low
- Horno Veco 0-300°C Civaq Mor West 927805 MIR.
- Microscopio invertido Leitz Wetzler Germany; presto
- Microscopio compuesto Carl Zeiss Winkel 4005632

CRISTALERIA

- Cajas petri de 60 x 15 mm
- Frascos viales de 5 ml
- Pipetas graduadas de 1, 2, 5 y 10 ml
- Matraz erlenmeyer de 25, 125 y 250 ml
- Tubos de 13 x 100, fondo plano y tapón de rosca
- Frascos estériles de 25 ml con tapa
- Portaobjetos

- Agitadores de vidrio
- Pipetas pasteur

MATERIALES DIVERSOS

- Jeringas desechables de 5 y 10 ml
- Tiras indicadoras de pH escala 1-14
- Agujas
- Gasas
- Filtros con membrana milipore de 0.45 micras
- Guantes de cirujano
- Guantes de tela de asbesto
- Cinta indicadora de esterilidad
- Espátula de acero inoxidable
- Algodón
- Tiras indicadoras de anaerobiosis BBL
- Sobres generadores de anaerobiosis Gas-gen BBL
- Marcador negro
- Cerillos
- Mangueras
- Mechero Bunsen
- Hisopos de alginato de calcio o de algodón estériles
- Pipeteros metálicos
- Cubrebocas

- Perlas catalizador de platino
- Asa y portasa.
- Hisopos estériles
- Espejos vaginales bi-valvo estériles
- Termómetro (-10 a 200 °C)
- Lápiz con punta de diamante

REACTIVOS

NOMBRE	MARCA
• Caldo PPLO sin cristal violeta	BBL
• Agar PPLO sin cristal violeta	BBL
• Suero de caballo	Gibco
• Agua destilada estéril	
• Hidrocloruro de Cisteína	Sigma
• Hidrocloruro de Arginina	Sigma
• Urea	J.T.Baker
• Glucosa	J.T.Baker
• Extracto de levadura	
• Polienriquecimiento	Bioxon
• Rojo de fenol	Sigma
• Vancomicina	Ely-Lilly

- Trimetoprim con sulfametoxazol Roche
- Penicilina G sodica Lakeside
- Metanol J.T. Baker

SOLUCIONES

- Solución de Acido Clorhídrico al 10% v/v J.T. Baker
- Solución de Hidróxido de sodio al 10% p/v J.T. Baker
- Solución de Amfotericina B (5 mg/ml) Ely-Lilly
- Solución de fenol al 10% p/v J.T. Baker
- Solución de Lugol Merck
- Solución de cristal violeta Merck
- Solución de safranina Merck
- Solución alcohol-acetona. J.T. Baker
- Solución salina al 0.9% Abbott

TECNICAS

TIPO DE ESTUDIO

La investigación se realizó con base a un diseño observacional, prospectivo, transversal y descriptivo.

UNIVERSO

Se estudiaron 57 pacientes masculinos y femeninos, con vida sexual activa, de 18 a 63 años de edad, con patología del aparato genital, remitidos de sus clínicas familiares y hospitales de zona a la Clínica de Enfermedades de Transmisión Sexual del Hospital de Infectología del Centro Médico "La Raza" IMSS D.F.

TOMA DE PRODUCTOS

PACIENTES FEMENINOS:

- Realizar un interrogatorio al paciente y elaborar su historia clínica, dando énfasis a enfermedades padecidas, actividad sexual, número de parejas, hábitos sexuales, ocupación, preferencia sexual, enfermedades de transmisión sexual padecidas con anterioridad y tratamientos indicados.
- Indicar al paciente que se quite la ropa y se cubra con una bata o sábana.
- Colocar al paciente en posición ginecológica.
- Introducir cuidadosamente un espejo vaginal bi-valvo, seco y sin lubricante; protegiéndose con el uso de guantes y cubrebocas..
- Iluminar y revisar el área de muestreo con una lámpara.

- Tomar muestras del saco posterior de la vagina con un hisopo estéril.
- Tomar muestras de las lesiones del cuello de la matriz o del canal endocervical con ayuda de un hisopo estéril.
- Sembrar en los medios de cultivo de rutina (agar sangre, agar chocolate, etc.), de preferencia inmediatamente.
- Realizar dos frotis, uno para teñirlo con la técnica de Gram y otro para teñirlo con la técnica de Giemsa.
- Realizar una observación en fresco para investigar la presencia de tricomonas.
- Inspeccionar órganos genitales externos y vello púbico.

PACIENTES MASCULINOS:

- Realizar interrogatorio de la misma manera que con los pacientes femeninos.
- Indicar al paciente se quite la ropa y se recueste en la cama ginecológica.
- Usar guantes y cubrebocas para inspeccionar órganos genitales y vello púbico.
- Hacer presión de la base del pene en todo el trayecto de la uretra hacia el meato urinario, sobre todo si no hay secreción evidente.
- Tomar muestra directamente de la uretra anterior con un hisopo de alginato de calcio o algodón, introduciendo el hisopo 1 a 2 cm. de la uretra y al mismo tiempo realizar movimientos rotatorios suaves por espacio de 5 seg.
- Sembrar en los medios de cultivo de rutina, de preferencia inmediatamente.
- Hacer dos frotis para tinción.
- Hacer observación en fresco.
- Tomar muestras de las lesiones alrededor del pene, si están presentes.

En ambos casos uno de los hisopos se deposita en un tubo de Caldo **PPLO** especial y se lleva al laboratorio para su inmediata siembra y procesamiento.

CRITERIOS DE INCLUSION

- 1.- Mujeres y hombres con vida sexual activa y con cualquier patologia en genitales, remitidos a la clinica de Enfermedades de transmisi3n sexual del Centro M3dico La Raza.
- 2.- Con y sin tratamiento m3dico indicado.

CRITERIOS DE NO INCLUSION

- 1.- Haber tenido relaciones sexuales por lo menos un d3a anterior a la toma de muestra.
- 2.- Mujeres que al momento de la toma de muestra estuviesen menstruando.
- 3.- Mujeres embarazadas.

FORMULACION Y PREPARACION DEL MEDIO PPLO ESPECIAL

Para la elaboración del medio **PPLO** especial, Caldo y Agar se tomó en cuenta la formulación del medio **Agar A7B** (36), así como la implementación de la técnica de aislamiento. Se valoró la funcionalidad del Caldo y Agar **PPLO** sin cristal violeta como medio base, utilizando para ello dos cepas de referencia, considerando sus requerimientos nutricionales y el pH óptimo de desarrollo en los medios de cultivo artificial. A continuación se enumeran los componentes a utilizar para cubrir sus necesidades bioquímicas

COMPONENTE	CANTIDAD
Solución de glucosa al 50% p/v	0.8 ml
Solución de hidrocloreuro de arginina al 40% p/v	0.8 ml
Caldo o Agar PPLO como medio base	*
Suero de caballo	20 ml
Extracto de levadura	10 ml
Rojo de fenol al 0.4% p/v	2 ml
Ajustar el pH de 7-7.5	

.Nota Las cantidades indicadas son para indicar 100 ml de medio de cultivo

* Preparación según instrucciones del fabricante.

Al utilizar estos suplementos, se esperaban cambios importantes en el Caldo y el Agar que nos indicaron los procesos metabólicos de los microorganismos en estudio. El control de calidad de los medios de cultivo se realizó con dos cepas de micoplasma: a) *Mycoplasma saliv.* b) *Mycoplasma lipedae*. Se ratificó su eficiencia con la recuperación de los micoplasmas obtenidos en el laboratorio.

Por otra parte, se observó el desarrollo colonial de estos microorganismos en el Agar, para apreciar las colonias típicas de su especie que no pueden confundirse con otras especies bacterianas.

Una vez que se han preparado los reactivos en condiciones de esterilidad, se procede al llenado de tubos y cajas, incubando de 24 a 48 horas.

Se depositó en caldo **PPLO** un pequeño cuadro de agar con desarrollo colonial de micoplasmas antes mencionados y se incubó a 37 °C en anaerobiosis parcial (5-10%), por espacio de 7 a 14 días.

Se observó diariamente para verificar su crecimiento y desarrollo por los cambios que se presentaron en el medio. Y se realizaron resiembras para favorecer la recuperación de las cepas control.

Con base en la experiencia obtenida con las cepas control utilizadas, se propuso una técnica para el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*, que consistió en el enriquecimiento del medio de cultivo **PPLO** caldo y agar, para favorecer su desarrollo y disminuir los tiempos de incubación.

Para la identificación de *Ureaplasma urealyticum* se emplearon algunos nutrientes importantes para su metabolismo y otros componentes adicionales similares a los utilizados en la cepa control.(36). Por lo tanto se propuso elaborar un medio de cultivo con la siguiente formulación:

- Medio base: caldo y agar **PPLO** sin cristal violeta y preparado según instrucciones del fabricante para 60 ml de medio.
- Solución de rojo de fenol al 0.4%, 0.3 ml
- Ajustar el pH de 5.5 a 6.0 con HCl al 10% o NaOH al 10%
- Esterilizar en autoclave a 15 lb por 15 min a 121 °C

Enfriar a 40-45 °C el medio y en condiciones de esterilidad añadir las siguientes soluciones; previamente esterilizadas or filtración y preparadas con agua destilada:

• Solución de urea al 50% p/v	0.3 ml
• Solución de Vancomicina (3 ug/ml)	0.2 ml de solución stock
• Solución de Penicilina (200000 u/ml)	0.5 ml
• Solución de trimetoprim (3 ug/ml)	0.2 ml de solución stock
• Solución de Amfotericina (5 mg/ml)	0.1 ml
• Extracto de levadura fresca al 20%	15.0 ml
• Suero de caballo liofilizado	20.0 ml
• Polienriquecimiento	2.0 ml

NOTA: Para el agar se requiere preparar el doble de medio de cultivo por lo tanto las cantidades antes mencionadas de las soluciones preparadas pueden duplicarse.

Mezclar los componentes.

Colocar en tubos de fondo plano 3 ml de caldo **PPLO** especial y si es agar; colocar en cajas petri de 60 x 15 mm aproximadamente 8 ml de agar **PPLO** especial.

Verificar su esterilidad.

NOTAS IMPORTANTES DE PREPARACION DEL MEDIO

1) Los antibióticos usados fueron esterilizados por filtración a través de membranas milipore de 22-45 micras de diámetro, estériles, depositando en frasco estéril y color ámbar.

2) Se prepararon soluciones stock más concentradas de los antibióticos para facilitar su pesada y preparación, asimismo medir las concentraciones requeridas para el medio.

3) Las soluciones stock de antibióticos se prepararon y esterilizaron el mismo día de uso, para el evitar el riesgo de baja de potencia o contaminación.

4) Los medios deben ser lo más reciente posible para favorecer el aislamiento del microorganismo (de preferencia no más de una semana en almacenaje).

ANALISIS MICROBIOLOGICO DE LAS MUESTRAS

Una vez que se ha tomado la muestra en las condiciones ya señaladas se procede a la siembra de las muestras de la siguiente manera (anexo 3):

En **PPLO** especial:

1) El primer hisopo con muestra se depositó en caldo **PPLO** especial recientemente preparado, se transportó de inmediato al laboratorio para su procesamiento.

a.-Incubar el tubo con el hisopo a 37 °C por periodo de una hora.

b.-Una vez transcurrido este tiempo, transferir 0.1 ml de caldo **PPLO** especial, con pipetas estériles, a otros tubos con caldo fresco y a una caja con agar **PPLO** especial.

c.-Incubar a 37 °C en atmósfera parcial de CO₂ (5-10%) en las jarras Gas-pak. por espacio de 24 a 72 horas.

d.-Revisar diariamente el vire de color (de amarillo a rojo) y la presencia de turbidez.

e.-Realizar resiembras del caldo **PPLO** especial con desarrollo, en agar sangre y agar staph-110 para verificar la ausencia de contaminantes de la flora normal de la vagina o uretra.

f.-Si hubo vire de color del caldo **PPLO** especial, resembrar en agar **PPLO** especial, colocando 0.1 ml de caldo con desarrollo en toda la superficie del medio sólido por difusión en placa y en condiciones de esterilidad.

g.-Incubar a 37 °C por un periodo similar de tiempo.

h.-Observar el desarrollo colonial característico de estos microorganismos en el microscopio invertido -colonias oscuras, granulares y pequeñas.-

i.-Al obtener desarrollo colonial, se procedió a realizar una prueba directa de actividad ureasica de la colonia. Para ello se empleó urea y cloruro de manganeso, que al ser oxidado, las colonias se tiñen de color café oscuro (anexo 2).

II) Con un 2º hisopo se realizó un frotis en portaobjetos, rotando y presionando suavemente el hisopo sobre la superficie, de manera que no se destruyan las células, para ser teñido por la técnica de Gram y observar, si hay diplococos gram negativos en los polimorfonucleares o la presencia de levaduras, células indicadoras, bacilos, etc. Y un 2º frotis en portaobjetos para el hallazgo de Clamidia, empleando la técnica de Inmunofluorescencia directa, para lo cual se requirió que el frotis se fijara con acetona para ser teñido

III) Un 3er. hisopo con muestra se depositó en un medio de transporte Stuart, para posteriormente proceder a sembrarlo por rotación en los siguientes medios de cultivo (denominados de rutina o tradicionales):

- 1 - Agar sangre.
- 2 - Agar Staph-110.
- 3.- Agar Chocolate.
- 4.- Agar **EMB** o Mc Conkey.
- 5 - Agar Thayer Martin o Agar Cassman.
- 6 - Agar **PDA** o Nickerson (opcional).

Extender el inoculo con el asa sobre la superficie del medio.

Los medios 3,5, y 6 se incubaron en anaerobiosis parcial (método de la vela en un recipiente hermético) por 24-48 horas a una temperatura de 37 °C. Los medios 1,2, y 4 se incubaron en condiciones de aerobiosis a 37 °C.

En los medios que hubo desarrollo colonial bacteriano, se prosiguió como lo indica el anexo 3 para realizar la identificación final.

Nota. Cuando el paciente llegó a presentar úlceras o pequeñas escoriaciones en cualquiera de los sitios de la toma de muestra, se procedió a tomar una muestra de la lesion con un pequeño capilar, para realizar el estudio de Herpes genital por la técnica de inmunofluorescencia directa.

Si hay sospecha clínica de Sifilis, tomar al paciente una muestra de sangre venosa para estudiar a partir del suero anticuerpos antitreponema. A partir de la herida hacer un raspado para investigar la posible presencia de Treponemas por inmunofluorescencia directa.

DISEÑO ESTADÍSTICO

Tomando en cuenta el tipo de estudio que se realizó, los resultados obtenidos fueron sometidos a un análisis estadístico capaz de permitir una mejor comprensión de la información obtenida, y emitir a su vez, conclusiones que contribuyen o apoyen el diagnóstico clínico-epidemiológico.

Las herramientas estadísticas utilizadas para conocer las asociaciones y la confiabilidad diagnóstica de los datos clínicos, fueron:

- Distribución X^2
- Gráficos de barra y pastel
- Teorema de Bayes (Cuadro A)

Asimismo, se manejó la siguiente terminología:

Sensibilidad: Como la capacidad de una prueba de dar un resultado positivo cuando la persona estudiada tiene la enfermedad.

Especificidad: Como la capacidad de una prueba de dar un resultado negativo si la persona en estudio no tiene la enfermedad.

Potencia diagnóstica: Relación existente entre los pacientes realmente sanos y enfermos respecto al total de la población en estudio. Sinónimo de confiabilidad.

Se empleó un análisis de X^2 para conocer la posible correlación de variables y establecer asociaciones o relaciones causa-efecto por medio de tablas de contingencia en donde

$$X^2 = \sum_{i=1}^i \sum_{j=1}^j \frac{(O_{ij} - E_{ij})^2}{E_{ij}}$$

Por último, el uso de gráficas que nos apoyó en la demostración de los datos de manera esquemática para aportar información epidemiológica importante.

**Cuadro A. Teorema de Bayes
Tabla de Contingencia Estadística**

PRUEBA DE DIAGNOSTICO	PRUEBA DE REFERENCIA		
	ENFERMOS	SANOS	TOTAL
+	A	B	A + B
-	C	D	C+D
TOTAL	A+C	B+D	A+B+C+D.

A = Número de casos verdaderos positivos

B = Número de casos falsos positivos

C = Número de casos falsos negativos

D = Número de casos verdaderos negativos

Fuente: Méndez I. R. 1986.

FORMULAS ESTADISTICAS APLICADAS

Sensibilidad $S = A / (A + C)$

Especificidad $E = D / (B + D)$

Confiabilidad diagnóstica $CD = (A + D) / (A + B + C + D)$

RESULTADOS

Se empleó el medio de cultivo **PPLO** sin cristal violeta como medio base para el aislamiento de micoplasmas, utilizando como copas de referencia a *Mycoplasma orale* y *Mycoplasma hyoschiriae* por la semejanza que existe entre estas especies de la misma familia aunque con diferentes necesidades nutricionales.

Al medio **PPLO** base se le agregaron nutrientes especiales que lo convirtieron en un medio selectivo y diferencial para el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* obteniéndose resultados satisfactorios, ya que se logró aislar a *Ureaplasma urealyticum* en el denominado medio "**PPLO** especial" (caldo y agar).

Se estudió una población total de 57 pacientes femeninos y masculinos que asisten a la clínica de ETS del Hospital de Infectología con y sin terapia antimicrobiana, obteniéndose los siguientes resultados:

Del grupo estudiado se obtuvieron 19 pacientes (33%) de positivos al aislamiento de *U. urealyticum* y 38 pacientes (67%) de aislamiento negativo al mismo.

De los pacientes con aislamiento positivo, 5 de ellos (26%) fueron del sexo femenino y los 14 restantes fueron del sexo masculino (Fig. 1).

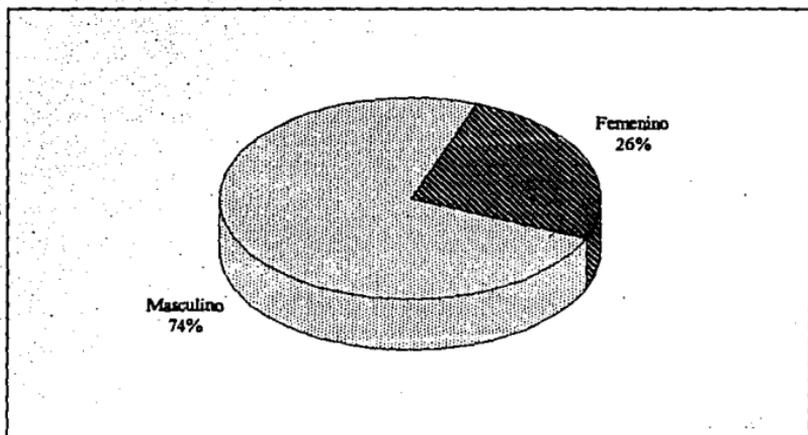


Fig. 1 Frecuencia de aislamiento positivo de *Ureaplasma urealyticum* según el sexo del paciente.

Los pacientes fueron agrupados de acuerdo a la edad, de la siguiente manera

- Grupo A: de 18 a 27 años
- Grupo B: de 28 a 37 años
- Grupo C: de 38 a 63 años

Tabla 3. Edad y Aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
GRUPOS DE EDAD	A	8	10
	B	10	18
	C	1	10

$$X^2 \text{ calculada} = 3.17$$

$$X^2 \text{ tablas} = 5.99$$

De acuerdo al aislamiento por grupo de edad se puede apreciar que el más afectado es el grupo B (por ser el más activo sexualmente), aunque los grupos A y C muestran la posibilidad de hallazgo importante de *Ureaplasma urealyticum*, sin ser significativamente estadístico. Por lo tanto la edad no es un factor que influya en la frecuencia de infecciones por *Ureaplasma urealyticum*. (Tabla 3 y Fig. 2).

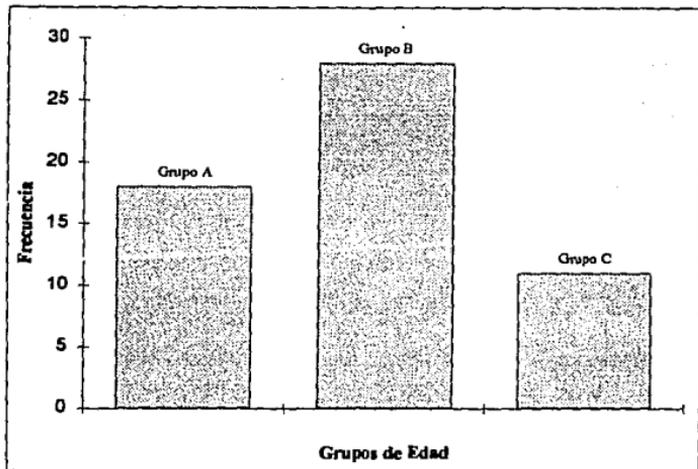


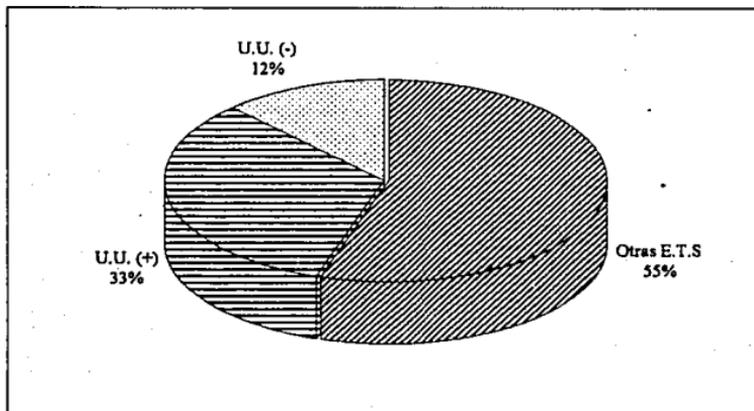
Fig. 2 Frecuencia de aislamiento positivo de *Ureaplasma urealyticum* según la edad del paciente

Como el estudio se realizó en una clínica de Enfermedades de Transmisión Sexual, se considera importante la existencia de otros microorganismos o padecimientos genitales presentes que complican el cuadro clínico de la Uretritis no gonocócica por lo que de los 57 pacientes, 7 (12%) no presentan ninguna enfermedad de transmisión sexual, 19 (33%) fueron positivos a *U. urealyticum* de los cuales 8 tuvieron únicamente *Ureaplasma urealyticum* y 11 presentaron asociaciones importantes con otros microorganismos sin ser estadísticamente significativo y 31 pacientes (55%) presentaron otros microorganismos causantes de enfermedades de transmisión sexual, sin el hallazgo de *Ureaplasma urealyticum* (Tabla 4 y Fig. 3).

Tabla 4. Frecuencia de *Ureaplasma urealyticum* y otras ETS

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
OTRAS	POSITIVO	11	31
	NEGATIVO	8	7

Fig. 3 Frecuencia de aislamiento positivo de *Ureaplasma urealyticum* y otras ETS



U.u. (-) = cultivo negativo para Ureaplasma.
U.u. (+) = cultivo positivo para Ureaplasma.
Otras E.T.S.= Ureaplasma no está implicado.

En la Figura 3 se muestra la relación y frecuencia de *Ureaplasma urealyticum* con otras Enfermedades de Transmisión Sexual en el grupo de pacientes estudiados.

Los 31 pacientes que presentaron problemas en el aparato genital por microorganismos patógenos diferentes a U. urealyticum, mostraron las siguientes frecuencias.

Cuadro 8: Frecuencia de microorganismos detectados, diferentes a U. urealyticum, en pacientes con enfermedades genitourinarias.

MICROORGANISMO	FRECUENCIA
1) <u>Neisseria gonorrhoeae</u>	2 (3.6 %)
2) <u>Chlamydia trachomatis</u>	13 (23.6 %)
3) <u>Treponema pallidum</u>	6 (10.9 %)
4) <u>Candida albicans</u>	2 (3.6 %)
5) <u>Gardnerella vaginalis</u>	2 (3.6 %)
6) Enterobacterias	1 (1.8 %)
7) <u>Haemophilus ducreyi</u>	8 (14.5 %)
8) Parásitos	2 (3.6 %)
9) Virus de la Inmunodeficiencia	4 (7.3 %)
10) Otros virus	7 (12.7 %)

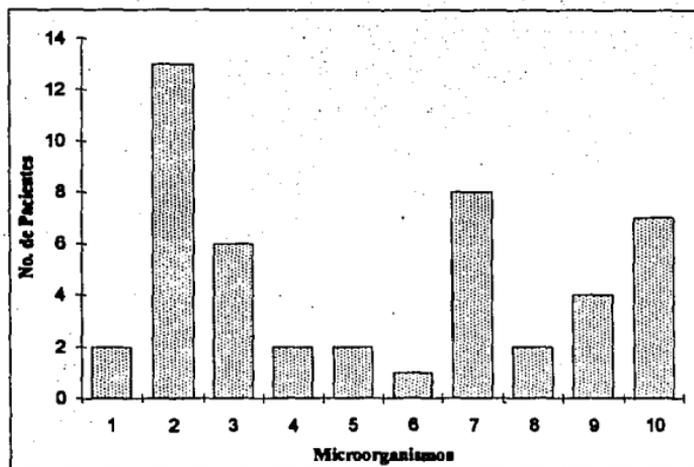
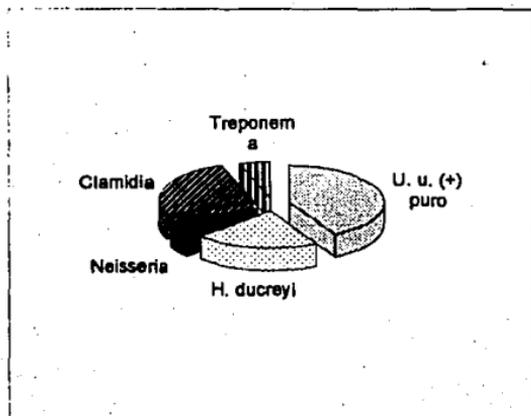


Fig. 4. Frecuencia de aislamiento de microorganismos causantes de ETS

En la Figura 4 se muestra en gráfico de barras, la frecuencia de aislamiento de cada uno de los agentes causales de Enfermedades de Transmisión Sexual, diferentes a *Ureaplasma urealyticum*, de acuerdo a la numeración consecutiva del Cuadro 8.

Fig. 5 Frecuencia de asociación de *U. urealyticum* con otros microorganismos causantes de ETS.



Por otro lado, los factores de riesgo encontrados fueron:

- Número de parejas sexuales
- Hábitos sexuales
- Otras enfermedades de transmisión sexual

Los pacientes que presentaron un número mayor de 5 parejas sexuales mostraron una alta frecuencia de aislamiento positivo a *Ureaplasma urealyticum*. Los hábitos sexuales y la presencia de otras enfermedades de transmisión sexual no mostraron datos estadísticos significativos como se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Factores de riesgo en el Aislamiento de Ureaplasma Urealyticum

FACTOR DE RIESGO		FRECUENCIA	PORCENTAJE
NUMERO DE PAREJAS	<5	5	26
	>5	14	74
HABITOS SEXUALES	HETEROSEXUAL	18	95
	BISEXUAL	1	5
OTRAS E.T.S.	POSITIVO	11	58
	NEGATIVO	8	42

Con respecto a los síntomas, el prurito se presentó en 13 (68%) y la disuria en 14 (74%) de los pacientes con aislamiento positivo de *U. urealyticum*, siendo significativos estadísticamente. También fue posible estudiar que el 63.3% de los pacientes con prurito presentan disuria, asociación estadísticamente significativa, como se muestra en las Tablas 6 - 9.

Tabla 6. Frecuencia de síntomas con aislamiento de Ureaplasma urealyticum

SINTOMA	FRECUENCIA	PORCENTAJE
DISURIA	14	73.7%
ADENOPATIA UNILATERAL	4	21.0%
ADENOPATIA BILATERAL	5	26.3%
PRURITO	13	68.4%
DISURIA Y PRURITO	12	63.32%

**Tabla 7. Disuria en el aislamiento de
Ureaplasma urealyticum**

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
DISURIA	POSITIVO	14	20
	NEGATIVO	5	18

X^2 calculada = 2.4
 X^2 tablas = 3.84

Aplicando el Teorema de Bayes, se pretendió conocer el valor de predicción de la Disuria como criterio de diagnóstico, obteniéndose los siguientes resultados:

$$\text{Sensibilidad} = (a / (a+c)) \times 100 = (14 / 19) \times 100 = 74 \%$$

$$\text{Especificidad} = (d / (b+d)) \times 100 = (18 / 38) \times 100 = 47 \%$$

$$\text{Confiabilidad} = [(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100 = (32 / 57) \times 100 = 56 \%$$

diagnóstica

**Tabla 8. Prurito en el aislamiento de
Ureaplasma urealyticum**

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
PRURITO	POSITIVO	13	1
	NEGATIVO	6	37

$$X^2 \text{ calculada} = 29.3$$

$$X^2 \text{ tablas} = 3.84$$

En la Tabla 8 se puede apreciar que hay asociación estadísticamente significativa entre el prurito y los pacientes que presentan aislamiento positivo a *Ureaplasma urealyticum*. Sin embargo, en la Tabla 7 esto no se presenta.

Nuevamente, aplicando el Teorema de Bayes, se pretendió conocer el valor de predicción del Prurito como criterio de diagnóstico, obteniéndose los siguientes resultados:

$$\text{Sensibilidad} = (a / (a+c)) \times 100 = (13 / 19) \times 100 = 68 \%$$

$$\text{Especificidad} = (d / (b+d)) \times 100 = (37 / 38) \times 100 = 97.4 \%$$

$$\text{Confiabilidad} = [(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100 = (50 / 57) \times 100 = 87.7 \%$$

diagnóstica

Tabla 9. Disuria y Prurito en el Aislamiento de Ureaplasma urealyticum

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
DISURIA Y	POSITIVO	15	18
	PRURITO NEGATIVO	4	20

X^2 calculada = 5.12
 X^2 tablas = 3.84

Con respecto a los criterios de diagnóstico, la presencia de exudado uretral relacionado con el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* no fue estadísticamente significativo (sin asociación). Tabla 10.

Tabla 10. Exudado Uretral y aislamiento de Ureaplasma urealyticum

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
EXUDADO URETRAL	POSITIVO	11	20
	NEGATIVO	8	18

X^2 calculada = 0.41
 X^2 tablas = 3.84

De acuerdo a la cantidad de exudado que predominó, se encontró que fue moderada y espontánea. Estas variables no presentaron significado estadístico en relación con el aislamiento positivo de *U. urealyticum*.

Otro de los criterios clínicos observados fue la citología hallada en el exudado uretral o vaginal de los pacientes estudiados (Tabla 11), donde se muestra que 10 de ellos (53%) con cultivo positivo presentaron más de 4 polimorfonucleares (PMN) por campo de alta resolución y 33 (87%) con cultivo negativo presentaron menos de 4 PMN por campo de alta resolución, lo que nos da un importante significado estadístico ($p < 0.05$) y un criterio clínico de apoyo al diagnóstico de Uretritis.

Tabla 11. Citología Uretral o Vaginal en Aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*

		AISLAMIENTO	
		POSITIVO	NEGATIVO
CITOLOGIA LEUCOCITARIA	>4 PMN	10	5
	<4 PMN	9	33

$$X^2 \text{ calculada} = 7.86$$

$$X^2 \text{ tablas} = 3.84$$

Es conveniente mencionar que existe la posibilidad de tener cultivos positivos con una citología menor de 4 PMN ya que algunos pacientes pueden ser portadores asintomáticos

Tabla 12. Aislamiento de *U. urealyticum* y su relación con Disuria, Prurito y Citología

		AISLAMIENTO	
		(+)	(-)
DISURIA MAS			
PRURITO MAS	(+)	10 (a)	24 (b)
CITOLOGIA	(-)	6 (c)	17 (d)

Aplicando el Teorema de Bayes empleado para el análisis de tres variables (Disuria, Prurito y Citología), como criterios clínicos de diagnóstico en el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*, se obtuvieron los siguientes resultados:

$$\text{Sensibilidad} = (a / (a+c)) \times 100 = (10 / 14) \times 100 = 71.4\%$$

$$\text{Especificidad} = (d / (b+d)) \times 100 = (17 / 41) \times 100 = 42 \%$$

$$\text{Confiabilidad} = [(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100 = (27 / 57) \times 100 = 47 \%$$

diagnóstica

Tabla 13. Aislamiento de *U. urealyticum* y su relación con la Citología en frotis directo.

CITOLOGIA	AISLAMIENTO	
	(+)	(-)
>4 PMN por campo	10 (a)	5 (b)
<4 PMN por campo	9 (c)	33 (d)

Se aplicó el Teorema de Bayes para el análisis de la Citología presente en frotis directo como criterio clínico de diagnóstico en el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*. tenemos que:

$$\text{Sensibilidad} = (a / (a+c)) \times 100 = (10 / 19) \times 100 = 53 \%$$

$$\text{Especificidad} = (d / (b+d)) \times 100 = (33 / 38) \times 100 = 87 \%$$

$$\text{Confiabilidad} = [(a+d) / (a+b+c+d)] \times 100 = (43 / 57) \times 100 = 75 \%$$

diagnóstica

ANALISIS DE RESULTADOS

Con base en los resultados obtenidos pudimos observar datos clínicos y epidemiológicos importantes en el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*. Así mismo pudimos conocer su relación con otros microorganismos causantes de ETS.

El uso del medio PPLO especial y la metodología que se propone dieron resultados satisfactorios. La formulación del medio de cultivo que se obtuvo está basada y fundamentada en diferentes estudios realizados en otros países donde se ha probado y utilizado medios del cultivo semejantes con algunas variantes. El medio de cultivo y la metodología propuesta nos sirve como una alternativa en el diagnóstico de UNG causada por Ureaplasma y evita el depender totalmente de los medios de cultivo prefabricados que provienen del extranjero, ya que el medio utiliza sustancias que se tienen o se pueden elaborar en el país, además de proporcionar resultados rápidos y confiables que facilitan el cultivo de *Ureaplasma urealyticum*.

Para corroborar la funcionalidad del medio de cultivo base (PPLO sin cristal violeta) en las condiciones de laboratorio existentes y al mismo tiempo capacitarnos en el manejo de este tipo de microorganismos, se emplearon dos cepas de referencia proporcionadas por la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, *Mycoplasma orale* y *Mycoplasma hyarhinis*. Dichas cepas mostraron que el medio de cultivo base permitía su aislamiento, aunque en un periodo largo de tiempo (7 a 14 días), por lo que se le adicionaron algunos suplementos que permitieron su más rápido crecimiento, lo que nos hizo pensar que si nuestro medio poseía todos los requerimientos necesarios, y basándonos en las investigaciones bibliográficas, entonces desarrollaría también *Ureaplasma urealyticum* eficaz y satisfactoriamente. El motivo por el que se utilizaron estas dos cepas de micoplasma fue por el hecho de que en nuestro país no se trabaja de manera rutinaria el cultivo de Ureaplasma y por lo tanto no se tienen cepas de referencia que permitan su reproducibilidad. Esto se debe a que el microorganismo tiene una viabilidad muy baja y es difícil que soporte cambios bruscos de temperatura y largos periodos de almacenamiento, ya que por carecer de pared celular los hace sensibles a cambios osmóticos, de pH, etc. Se podría almacenar hoy día con el uso de crioprotectores, pero esto haría más complicado y sofisticado su aislamiento. Desgraciadamente la infraestructura de la mayoría de los laboratorios del país no cuentan con todo lo necesario para su aislamiento, lo que ocasiona un problema en el diagnóstico de este tipo de infecciones.

Se realizó el análisis de las tablas y figuras de manera individual para alcanzar una mejor comprensión de los resultados.

El dato de positividad encontrado coincide con el rango de hallazgo reportado en la bibliografía (30 a 40% en promedio), lo que nos indica que en nuestro país podemos sospechar que *Ureaplasma urealyticum* es causante de Uretritis no gonocócica en un número importante de pacientes. (4,6)

En la Figura 1, se puede apreciar que el sexo masculino presenta una mayor proporción de aislamiento positivo de *U. urealyticum* y por consiguiente la mayoría de ellos tiene Uretritis no gonocócica. Este dato sugiere que el varón es generalmente más promiscuo que la mujer, o sea que presenta un mayor número de parejas sexuales conocidas y desconocidas. Lo que aporta un dato epidemiológico interesante y que al mismo tiempo coincide con los datos que la literatura consultada proporciona.

Otro dato epidemiológico que se observó en la Figura 2, fué la incidencia del microorganismo en cuestión en el grupo de edad de 28 a 37 años (grupo B). Esta situación se debe a que los pacientes de este grupo tenían mayor actividad sexual, ya que la mayoría tenían un número mayor de 5 parejas sexuales. Pero estas características no se consideran únicas del grupo B, ya que los pacientes que pertenecen al grupo A y al grupo C no cambian o difieren considerablemente, por lo que no nos da una significancia estadística importante, ya que solo se obtuvo una frecuencia más o menos elevada que nos habla de que el aislamiento positivo no se asocia con la edad del paciente sexualmente activo.

Durante el desarrollo del trabajo en la clínica de ETS no pudieron quedar excluidas otras enfermedades de transmisión sexual y sus microorganismos causales, por lo tanto de los 57 pacientes estudiados (Figura 3), 31 (55%) presentaron otros padecimientos en los cuales *U. urealyticum* no fue agente causal ni estaba asociado y 7 (12%) fueron negativos a todo tipo de enfermedad sexual en el estudio realizado por el laboratorio. Desafortunadamente la presencia de otros microorganismos complica muchas veces el cuadro clínico del paciente enfermo y por consiguiente dificulta el diagnóstico preciso y el tratamiento adecuado a seguir.

En la Figura 4 se muestra la frecuencia de otros microorganismos presentes y se puede observar que el germen más frecuente es *Chlamydia trachomatis*, agente causal de Uretritis no gonocócica y *Haemophilus ducreyi*, agente causal de lesiones ulcerosas en los genitales; en cambio se observó baja frecuencia de aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae* y disminución en la investigación de *Trichomonas pallidum*, lo que nos habla de que las enfermedades venéreas clásicas efectivamente han disminuido su incidencia, por lo menos en la población que asiste a la clínica de enfermedades de transmisión sexual del IMSS, y han dado paso al aumento de las nuevas enfermedades de transmisión sexual, ocasionando con ello cambios de actitud y de manejo clínico del paciente para así atacar este grave problema de salud pública; desgraciadamente no solo en el área de la salud, sino que también adquieren importancia en los aspectos social, económico y educativo, tomando en cuenta que su proporción ha aumentado de manera alarmante en los últimos años.

De los 19 pacientes con aislamiento positivo a *Ureaplasma urealyticum*, 8 de ellos tuvieron cultivos puros de dicho microorganismo y 11 mostraron asociaciones importantes sobre todo con *C. trachomatis* y con *H. ducreyi*, sin presentar significado estadístico importante, aunque sí un significado clínico que permite afirmar que *Ureaplasma urealyticum* es un microorganismo oportunista capaz de volverse patógeno en condiciones desfavorables de salud para el paciente. (Figura 5)

Otro dato epidemiológico a considerar son los factores de riesgo; factores que están asociados con un riesgo o probabilidad aumentada de contraer una enfermedad como la Uretritis no gonocócica. Los factores estudiados fueron: a) número de parejas sexuales, b) hábitos sexuales, c) presencia de otras enfermedades de transmisión sexual. Estos factores tampoco fueron estadísticamente significativos, como se muestra en la Tabla 5, sobre todo porque hizo falta una población o grupo de controles sanos para determinar su papel en la Uretritis no gonocócica. A pesar de todo lo mencionado, es importante que sean considerados en estudios posteriores, pues una constante y prolongada exposición a estos factores puede provocar un aumento en el aislamiento y recuperación de *Ureaplasma* ya sea en casos de UNG o como portador asintomático.

La epidemiología de la infección por Ureaplasma que se reporta en la bibliografía, nos dice también que estos factores son importantes. En referencia a los hábitos sexuales también observamos que es una variable independiente del hallazgo de *U. urealyticum*, por lo que se puede deducir de nuestro estudio y de nuestra heterogénea población, que el porcentaje de aislamiento más alto fue en heterosexuales con un 95% y en porcentaje bajo en bisexuales y homosexuales; 5% y 0% respectivamente. Así mismo, la presencia de otras Enfermedades de Transmisión Sexual sólo complica el cuadro clínico y carece de un grado de significancia estadística en el diagnóstico y tratamiento de este tipo de infecciones urogenitales.

Hay asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de prurito y la disuria; con el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en pacientes con UNG, como se aprecia en la Tabla 6. En la Tabla 5 podemos ver la frecuencia de cada uno de los principales síntomas encontrados que pueden acompañar a la infección por Ureaplasma, causante de UNG, en donde la disuria y el prurito son dos importantes síntomas, ya que de manera individual o en conjunto, dan una guía importante en el sentido de que *U. urealyticum* es el agente causal de la UNG, por lo menos en este estudio. Los dos síntomas propuestos como características de UNG por *U. urealyticum* concuerdan con algunos reportes de ciertos investigadores, como Taylor y Robinson, quienes en sus múltiples estudio sobre este microorganismo han encontrado una relación importante con el diagnóstico de la enfermedad.

En el caso de la adenopatía inguinal, mostrada también en la Tabla 5, sólo se puede considerar como un síntoma no específico de UNG por Ureaplasma, pero que se puede presentar de manera importante cuando *U. urealyticum* se encuentra asociado con otros agentes causales de transmisión sexual. Un ejemplo común en este estudio, fue la asociación de *U. urealyticum* con *C. trachomatis* en donde encontramos disuria, prurito y adenopatía inguinal uni o bilateral, como síntomas de infección por estos dos microorganismos.

En este estudio se pudieron encontrar signos importantes que ayudan al diagnóstico clínico de UNG aunque desafortunadamente, no fueron significativamente estadístico. Es muy probable que estos signos lleguen a mostrar datos significativos si se cuenta con una mayor población de pacientes enfermos.

El signo más común que se encontró fue el Exudado uretral, el cual se valoró en base a sus características físicas como: olor, color, cantidad y presencia del flujo (Tabla 10), y como un criterio clínico a la citología uretral o presencia de polimorfonucleares por campo de alta resolución, variable estadísticamente significativa como se puede apreciar en la Tabla 11

El exudado uretral fue una variable independiente del aislamiento de *Ureaplasma*, porque tiene relación con una serie de factores que afectan su presencia tales como 1) tratamiento médico que haya ingerido el paciente o si éste fue administrado por vía parenteral, por vía cutánea o local; 2) si el paciente ha orinado recientemente, pues ello provoca un arrastre y una disminución de bacterias viables; y 3) las propias características clínicas de la enfermedad, ya que en el caso de la Uretritis no gonocócica, comúnmente el exudado se presenta por la mañana y generalmente desaparece por el resto del día.

A pesar de todo lo antes mencionado, la presencia de exudado uretral no deja de ser un signo que sugiera infección por *Ureaplasma* y algunos otros microorganismos. En lo referente a las características físicas del exudado, encontramos que si se presenta será en cantidad moderada, ligeramente amarillo o blanquecino y que surge de manera espontánea.

En la Tabla 11 se manejó la información obtenida a partir del frotis directo teñido con la técnica de Gram y muestra ser una variable dependiente del aislamiento de *Ureaplasma*, además de ser considerado como un criterio clínico en el hallazgo. Dicha tabla nos muestra que el valor predictivo de esta variable es alto ($X^2 = 7.86$) en comparación con el valor teórico de tablas ($X^2 = 3.84$), lo que nos da un importante significado estadístico que pueden apoyar el diagnóstico de UNG. Con esto podemos proponer que si encontramos más de 4 polimorfonucleares por campo de alta resolución, en un frotis teñido, es seguro que tenemos una Uretritis y si el aislamiento de *U. gonorrhoeae* es negativo, podemos hablar de una Uretritis no gonocócica, que para el caso tenemos como un importante agente causal a *U. urealyticum*. La Tabla 11 también muestra que existe la posibilidad de hallazgo de *Ureaplasma* con menos de 4 polimorfonucleares por campo, esta situación se presenta por el hecho de que existen portadores asintomáticos del microorganismo e incluso se le ha llegado a considerar, hasta hace algunos años, como parte de la flora normal urogenital. También se pudo detectar en la población estudiada que algunos pacientes ya habían tomado tratamiento antimicrobiano o algunos remedios caseros, lo que con seguridad calmaba los síntomas tan molestos y provocaba una disminución de la respuesta de los polimorfonucleares a la infección.

Hemos observado que la citología es un aspecto clínico importante en el diagnóstico de UNG, desde el punto de vista que presenta una alta significancia estadística que es digna de tomarse en cuenta para este tipo de enfermedad. Pero no solo se quiso que tuviera significado estadístico, sino que también se manejara su potencia o confiabilidad diagnóstica, mediante el uso del Teorema de Bayes. Los resultados obtenidos en la Tabla 13, nos muestran que considerando la citología presente en el exudado uretral como criterio de diagnóstico, se tendrá una sensibilidad del 53% y una especificidad del 87%, con una confiabilidad diagnóstica del 75%. Estos datos nos informan de que si existe exudado uretral con citología (+) tendrá un 53% de probabilidad de que el cultivo sea positivo, dato que para fines prácticos es bajo; quizás porque la existencia de asociaciones microbianas causantes de ETS y la reducida población manejada hacen que este parámetro sea poco sensible.

En cambio se tiene que si no se observa celularidad, tenemos el 87% de probabilidad de que el cultivo de *Ureaplasma urealyticum* es negativo, con una confiabilidad diagnóstica del 75%.

Por último, hasta ahora hemos dicho que la citología, la disuria y el prurito son aspectos clínicos capaces de indicar una Uretritis no gonocócica con suficiente fundamento estadístico (Tablas 9 y 11). Pero también quisimos saber mediante el análisis por el Teorema de Bayes si estas 3 variables poseían todos los atributos de confiabilidad de un método diagnóstico (Sensibilidad, Especificidad y Potencia diagnóstica). En la Tabla 12 se encontró que las variables en conjunto poseen una sensibilidad del 63% y una especificidad del 42%; esto nos habla de una potencia diagnóstica regular al unir estos 3 aspectos y no es muy útil como para generalizar a toda una población, por lo que se recomienda una población más grande para observar si mejora la confiabilidad diagnóstica, ya que debido a la existencia de infecciones mixtas el valor diagnóstico de estos 3 aspectos carece de la fuerza necesaria para considerarlos una regla. Los resultados arrojados por el análisis se deben también a que existen otras enfermedades de transmisión sexual que pueden presentar síntomas similares -como por ejemplo UNG por *C. trachomatis*- que según el agente causal y dependiendo de todo un proceso de escrutinio y análisis, el que incluya una buena historia clínica, una exploración física y métodos bacteriológicos de rutina y complementarios, se podrá diferenciar con mayor exactitud y precisión al agente causal de la UNG y tratar de dar medidas preventivas para evitar recidivas o contagios múltiples e incluso una complicación del cuadro clínico por la asociación con otros microorganismos causantes de ETS, que a la larga provocan un grave problema de salud en el país y en todo el mundo. Por estos motivos la atención médica debe ser más eficiente, por lo que también se hace necesario implementar métodos diagnósticos menos complejos y auxiliares en el diagnóstico de ETS.

CONCLUSIONES

En la identificación de *Ureaplasma urealyticum* como agente causal de UNG no se tiene una técnica accesible que permita su aislamiento. Con la metodología propuesta y con el uso del medio PPLO especial se puede aislar *U. urealyticum* de manera confiable ya que el medio posee características físicas y bioquímicas en las que muchas bacterias no son capaces de desarrollar, haciéndolo un medio diferencial y específico en el aislamiento de dicho microorganismo, además de brindar resultados en un corto periodo (24 a 48 hrs.).

El medio de cultivo propuesto fue eficiente para el aislamiento e identificación de *Ureaplasma urealyticum* y es útil para confirmar o descartar el diagnóstico presuntivo de UNG realizado por el médico, si éste sospecha de una infección por *U. urealyticum*.

Se encontró una frecuencia de aislamiento del 33% de *U. urealyticum* en pacientes jóvenes (28 a 37 años) sexualmente activos, en su mayoría varones. En este mismo grupo encontramos una mayor frecuencia (55%) de otras enfermedades de transmisión sexual que desde un punto de vista epidemiológico adquieren gran importancia por la existencia de infecciones mixtas, que cada vez son más frecuentes y se hace necesario complementar el estudio con una investigación más profunda y más amplia de los factores de riesgo, tomando en cuenta el manejo de grupos control.

Podemos proponer como primer criterio útil para sospechar el diagnóstico de UNG la citología presente en el exudado uretral o vaginal al realizar un frotis directo de la muestra, así como al cultivo negativo de *N. gonorrhoeae* con una confiabilidad diagnóstica del 75%, por lo que pueden ser considerados como una herramienta importante en este tipo de infecciones.

Otro criterio de diagnóstico es el conjunto de disuria, prurito y presencia de flujo aunado a la citología directa con más de 4 polimorfonucleares por campo. Estas 4 variables presentan una confiabilidad diagnóstica del 47%, dato que no proporciona suficiente valor diagnóstico como para ser considerado estadísticamente, aunque sí clínicamente.

Por lo tanto es importante la comunicación médico-laboratorio para un buen manejo del paciente con Enfermedades de Transmisión Sexual capaces de ocasionar daños a la salud e implicaciones socioeconómicas importantes, ya que estas enfermedades están consideradas dentro de las 10 causas más comunes de morbilidad en pacientes femeninos y masculinos que acuden a atención médica.

MEDIOS DE CULTIVO PROPUESTOS

INGREDIENTES	AGAR E	AGAR A7B	AGAR PPLO	CALDO BOSTON	AGAR A-7	AGAR NYC	CALDO UB9
1) Caldo soya triptícas		24 g			24 g		7.5 g
2) MnSo ₄ H ₂ O		0.155 g			0.155 g		
3) Agar (bacto-agar)	6.5 g	10.5 g	9.8 g		10.5 g	10 g	
4) Suero agamma de caballo	250 ml	200 ml	200 ml		200 ml	120 ml	40 ml
5) Extracto de levadura al 25%		10 ml	100 ml	25 ml	10 ml		
6) Urca "ultrapura" al 10%		10 ml		25 ml	10 ml		5 ml
7) L-Cisteína hidrocioruro al 4%		2.5 ml		2 ml	2.5 ml		
8) Penicilina G potásica o sódica	100,000 u/ml	200,000 u/ml	500 u/ml	100,000 u/ml	5 ml		100,000 u/ml
9) Putrescina hidrocioruro		1.65 g					
10) Enriquecimiento CVA		5 ml		2 ml	5 ml		
11) Peptona No. 110 (bacto-peptona)	13 g		7 g				
12) Na Cl (Cloruro de sodio)	3.25 g		3.5 g				5 g
13) Agua desionizada	650 ml			200 ml			
14) Caldo PPLO con C.V.				4.2 g			
15) Rojo de fenol al 0.4%				1.2 ml			
16) Infusión de corazón			35 g				
17) Polimixina			25 mg/ml				
18) Anfotericina B			5 mg/ml			1.2 mg/ml	
19) GC-medio base						36 g	
20) Eritrocitos de caballo soln. al 1%						200 ml	
21) Solución glucosa al 50%						10 ml	
22) Levadura dializada	100 ml					25 ml	
23) Vancomicina						2 mg/ml	
24) Colistina							
25) Lactato de trimetoprim						3 mg/ml	
26) Fosfato monobásico de potasio							0.2 g
27) Solución rojo de fenol al 1%							1 ml
28) Suero de caballo				25 ml			
29) PH del medio	7.4	6		5.5	6	7.1	6

* Nota: Todos los ingredientes son para preparar un litro de medio

ANEXO 2

PRUEBA DIRECTA PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD UREASICA DE LAS COLONIAS DE *Ureaplasma urealyticum*

REACTIVOS:

1. Desarrollo en placas de Agar PPLO especial de colonias sospechosas de ureaplasma.
2. Solución de urea al 1% (grado reactivo)- solución 0.08% de $MnCl_2$.

EQUIPO:

Pipetas graduadas de 1 ml

Microscopio invertido

PROCEDIMIENTO:

1. Las colonias que serán probadas para actividad de ureasa, se cubren con la solución (2) y se permite que reaccione por un tiempo de 5 a 10 seg. a temperatura ambiente.
2. Observar las colonias al microscopio con el objetivo de 100x, las colonias oscuras, teñidas color café oro, indican que la actividad ureásica es positiva.

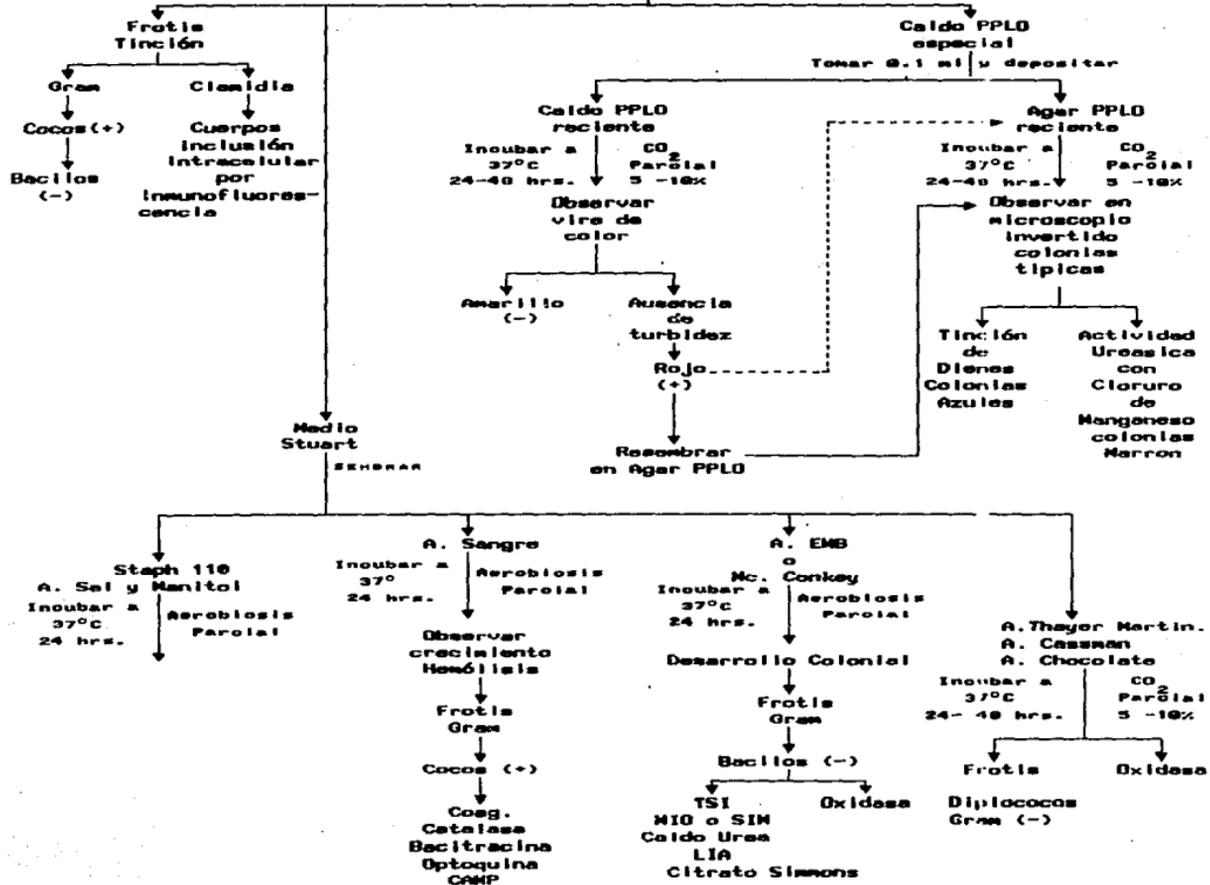
INTERPRETACION:

La actividad ureásica de la colonia es detectada por su habilidad para llevar a cabo la hidrólisis de urea, dando como resultado la liberación de amoníaco, el cual participa en la reacción de oxidación del cloruro de manganeso a dióxido de manganeso. La reacción produce un precipitado café oro sobre la superficie de la colonia.

La reacción positiva de ureasa es específica de las colonias de *Ureaplasma urealyticum*.

MUESTRA
(Exudado Uretral o Cervico Vaginal)

Hisopo
(Alginato de Calcio o Algodón)



BIBLIOGRAFIA

1. Llewellyn-Jones D. "Enfermedades de Transmisión Sexual". 2ª edición. México, D. F. Ed. Grijalbo, 1987: 43-96.
2. Wingaarden JB and Smith. CECIL "Tratado de Medicina Interna" 16ª edición. México, D. F. Ed. Interamericana, 1985: 1492-1493; 1629-1631.
3. Perea EJ. "Enfermedades de Transmisión Sexual". Tratado de Medicina Práctica. España. MEDICINE, 1984.29 (4): 1684-1703.
4. Braude AI. "Clinical Microbiology and Infectious Diseases. U.S.A. Ed. Panamericana, 1984: 594-602.
5. Kovacs, GT. "Microbiological profile of the cervix in 1000 sexually active women". Aust N Zeland J Obst Gynecol 1988. 28(3): 216-220.
6. Bowie WR. "Non Gonococcal Urethritis". Urologyc Clinics of North Am. 1984.11(1): 55-63.
7. Sosa González IE y cols. "Aspectos Clínicos Microbiológicos de *Ureaplasma urealyticum*". INFECTOLOGIA. 1987. 7(10): 491-504.
8. Luna SM. "Infecciones Cervicovaginales". INFECTOLOGIA. 1982. 5(7): 331-344.
9. Couch RB. "Mycoplasma Diseases". Braude AI. Medical Microbiology and Infections Diseases. 1987; 145-147: 1064-1080.
10. Lennette, EK. "Manual of Clinical Microbiology". Fourth Edition. U.S.A. 1985: 446-451.
11. "Manual of Laboratory diagnosis of Micoplasma Infections". U.S.A.1980: no publicado.
12. Tay-Zavala J. "Nociones elementales de Microbiología Médica. 1ª edición. México, D. F. Ed. Méndez Soteo. 1975: 251-254.

13. Davis, BD and Dulbecco R. "Tratado de Microbiología". 2ª edición. España: Salvat Editores. 1982;
14. Manual de BioMérieux. "ETS y Micoplasmas urogenitales". México, D. F. 1990.
15. Ozuna TA. "Estudio bacteriológico de uretritis y vaginitis gonocócica y no gonocócica". Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Guadalajara. México 1989.
16. Youmans GR. "Infectología Clínica". 2a. edición. México, D. F.: Ed. Interamericana 1982: 566-585
17. Norman FJ. "Gonococcal and Non gonococcal Urethritis in men". Ann Inter Med. 1975.82.: 7-12
18. Bernal JN. "Diagnóstico de Enfermedades de Transmisión Sexual en Adolescentes Embarazadas Chilenas". Rev Chilena Obst Ginecol. 1989.54 (2): 66-70
19. Taylor-Robinson D. "The Genital Mycoplasmas". N Eng J Med . 1980. 302(18-19): 1003-1010, 1063-1067.
20. Taylor-Robinson D. "Mycoplasma Disease. Ureaplasma urealyticum (T-strain mycoplasma) and Mycoplasma hominis". En: Braude AI. Medical Microbiology and Infectious Diseases. U.S.A. 1984: 147: 1076-1080.
21. Thirker D. "The Urease of Ureaplasma Urealyticum. J. Genetic. Microb. ". 1989. 135(pt 2): 315-323.
22. Busolo F, Zanchetta R, Bertoloni G. "Mycoplasmic localization patterns on spermatozoa form infertile men". Fertil and Steril. 1984; 42 (3): 412-416.
23. Berkow R and Letcher A. "El Manual Merck de Diagnóstico y Terapéutica." 8a. edición. Barcelona. Ed. Doyma. 1989: 253-276.
24. Krupp MA, Chatton MJ. "Diagnóstico Clínico y Tratamiento. 21a. edición. México, D. F. Ed. Manual Moderna. 1986.
25. Friberg JM. "Diagnosis of Genital Mycoplasma and Ureaplasma urealyticum infections." J. Reprod. Med. 1985; 30 (3): 258-260.

26. Shepard MC. "Possible Role of T-Strain Mycoplasma in Non-gonococcal Urethritis." *J. Am. Med. Assoc.* 1964; 188 (8): 729-735.
27. Gammon H. "Ureaplasma urealyticum and its role in neonatal lung disease." *Neon Network.* 1993; 12(3): 13-18.
28. Cassell, GH. "Association of Ureaplasma urealyticum infection of the lower respiratory tract with chronic lung disease and death in very low birth weight infants." *Lancet.* 1988; 30(2): 8605, 240-245.
29. Sánchez PJ. "Perinatal transmission of Ureaplasma urealyticum: current concepts based on review of the literature." *Clin. Infect. Dis.* 1993; 17 Suppl 1: s107 -111.
30. McCormack WM. "Susceptibility of mycoplasmas to antimicrobial agents: clinical implication." *Clin. Infect. Dis.* 1993; 17 Suppl 1: 200-201.
31. Waites KB. "Systemic neonatal infection due to Ureaplasma urealyticum" *Clin. Infect. Dis.* 1993; 17 suppl: 131-135.
32. Espinosa FRG. "Estudio de confiabilidad de un método simplificado para el diagnóstico de Cervicovaginitis infecciosa." Tesis de Licenciatura. FES Zaragoza, México. 1991.
33. Phillip IT. "Comparison of methods for the isolation of genital mycoplasmas from men." *J. Infect. Dis.* 1976; 133 (4): 419-423.
34. Stephen LS. "Diagnosis and etiology of Nongonococcal Urethritis." *J. Infect. Dis.* 1978; 138 (4) : 445-453.
35. Méndez RI. "Sensibilidad, Especificidad y valor de predicción en el protocolo de investigación." México: Ed. Trillas 1984; 170-171.
36. Yajko MD. "Evaluation of PPLO, A7B, E and New York City agar media for the isolation of Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma species from the genital tract." *J. Clin. Microb.* 1983; 17 (6): 1077-1080.
37. Leland DS. "Comparative evaluation of media for isolation of Ureaplasma urealyticum and genital mycoplasmas species." *J. Clin. Microb.* 1982; 16 (4): 709-714.

38. Granato PA. "New York City Medium for enhanced recovery of *Mycoplasma pneumoniae* from clinical specimens." *J. Clin. Microb.* 1983; 17(6): 1077-1080.
39. Russo JF. "*Mycoplasma hominis*, *U. urealyticum* and *Corynebacterium genitalium*, recovered from the lower genital tracts of adolescent women." *Inter J. Gynecol. Obstet.* 1981; 19:461-466.
40. Kundain BR. "Significance of appropriate techniques and media for isolation and identification of *Ureaplasma urealyticum* from clinical specimens." *J. Clin. Microb.* 1980; 8(4): 445-453.
41. Richard CB. "Urethral isolation of the genital mycoplasmas and *C. trachomatis* in women with chronic urologic complaints." *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1985; 152: 38-41.
42. Ahmed-Jushf IH. "Incidence of *U. urealyticum* in endourethral swabs compared with first voided urine from men." *Genitourinary. Med.* 1988; 64(2): 78-80.
43. Cano VF, Moreno AL. "Epidemiología Clínica" México: Fac. Med. UNAM :1988.
44. De la Cruz CD, Mendoza NV. "Manual para elaborar proyectos de investigación en ciencias de la salud" 1a. ed. México: FES Zaragoza UNAM: 1990.
45. Bioxon. "Manual de medios de cultivo". México: 1989.
46. Koneman EW. "Diagnóstico Microbiológico". México: Médica Panamericana: 1985.
47. Hawkey PM, Lewis DA. "Medical Bacteriology a practical approach". England: Iri Puess.: 76-80:1989.
48. Shigel HG. "Microbiología General". Barcelona España: Omega.:96-98,1988.
49. Murray PR, Lawrence DW, Kobayashi G. "Microbiología Médica". España: Wolfe Publishing.: 249-250, 1992.
50. Holt JG, Krieg NR, Sneath PH. "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology". Williams and Wilkins, Baltimore. 9a. ed. 707-708, 1994.
51. Kingsbury DT, Wagner GE, Segal GP. "Manual de Microbiología Médica". México: Limusa : 433-446,1991.