

3  
2y.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

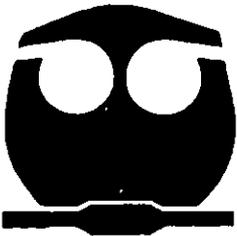


EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

UREAPLASMA UREALYTICUM COMO  
PATOGENO HUMANO.

TRABAJO MONOGRAFICO DE  
ACTUALIZACION  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
PRESENTA:  
LETICIA ALEMAN LAZARINI

267731



MEXICO, D. F.

1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

## JURADO ASIGNADO:

Presidente            Prof. Elda Peniche Quintana  
Vocal                Prof. María Elsa Escudero García  
Secretario          Prof. Raúl Garza Velasco  
1er. Suplente       Prof. Maite Astigarraga Zavaleta  
2do.Suplente       Prof. Luciano Hernández Gómez

Sitio donde se desarrolló el tema: Diversas Bibliotecas: Instituto de Investigación Biomédicas, Facultad de Medicina, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.



QFB. Elda B. Peniche Quintana  
Asesor del Tema



Leticia Alemán Lazarini  
Sustentante

A MIS PADRES. POR EL AMOR, APOYO,  
CONFIANZA Y PACIENCIA QUE ME HAN  
BRINDADO.

A MI HIJO GABRIEL POR TODO EL  
AMOR QUE ME DA.

A MIS HERMANAS SU APOYO  
INCONDICIONAL.

A MIS TIOS.

A MIS MAESTROS.

A MIS AMIGOS.

# ÍNDICE

	Páginas
-INTRODUCCIÓN	5
-OBJETIVOS	6
-CAPÍTULO I. GENERALIDADES	7
Taxonomía	7
Morfología	8
Afinidad tintoreal	10
Composición química	10
Composición antigénica	13
Requerimientos nutricionales y medios de cultivo	15
-CAPÍTULO II. PATOLOGÍA	18
Presencia de enfermedades neonatales y maternas.	22
Enfermedad crónica del pulmón	26
Infección en el tracto genito-urinario	32
Infección en el líquido amniótico	37
Transmisión vertical de la infección	40
Neumonía	44
Sistema nervioso central	46
Sepsis neonatal	47
Infección en el tracto genital femenino	49

Tratamiento	51
-CAPÍTULO III. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	55
-CONCLUSIONES	67
-BIBLIOGRAFÍA	69

## INTRODUCCIÓN

En la clase *Mollicutes* y familia *Mycoplasmataceae* se encuentra *Ureaplasma urealyticum*, el cual hidroliza urea, requiere colesterol para su crecimiento, sus colonias tienen forma de huevo estrellado, carecen de pared celular y es Gram negativo.

Se ha encontrado al microorganismo en enfermedad inflamatoria pélvica en mujeres sexualmente activas, en embarazos causando la pérdida del producto durante el segundo trimestre, o presentándose también en las últimas semanas de gestación provocando parto prematuro, bajo peso al nacer y colonización de ureaplasmas en garganta, ojos y pulmones. Se ha relacionado al microorganismo con esterilidad tanto en mujeres como en hombres. En hombres, además, se ha encontrado que puede causar uretritis y prostatitis.

Este microorganismo puede o no ocasionar síntomas clínicos pasando inadvertido tanto para el hospedero como para el médico.

Su determinación se ha realizado en medios líquidos y sólidos, así como por otras técnicas como PCR (polymerase chain reacción), Inmunofluorescencia indirecta y ELISA (enzyme-linked-immunosorbent assay)

En cuanto a su tratamiento ha sido diverso, es sensible a eritromicina y otros antibióticos sintéticos probados, pero resiste a la lincomicina.

## OBJETIVOS

- 1) Realizar una breve revisión acerca de la importancia que tienen los micoplasmas especialmente *Ureaplasma urealyticum*.
  
- 2) Reconocer la patogenia de *Ureaplasma urealyticum*.
  
- 3) Sentar las bases para que se estudie e incluya a *Ureaplasma urealyticum* en el diagnóstico del laboratorio clínico.
  
- 4) Lograr que el médico considere a *Ureaplasma urealyticum* como un patógeno en el humano.

# CAPÍTULO I

## GENERALIDADES

### Taxonomía.

Debido a que no hubo lugar en la entidad microbiana convencional simplemente se llamaron "pleuropneumonia organism" o "PPO", se aislaron otros microorganismos similares, pero diferentes de los microorganismos PPO, y un nuevo término fué introducido "pleuropneumonia-like-organism" o "PPLO", designado como el género *Mycoplasma*. Posteriormente, los estudios se intensificaron debido a su estructura y metabolismo típicos, así como también por su crecimiento, recientemente se han descubierto como parte de la flora normal de humanos, y, como es de esperarse, ésto ha causado controversia (33).

El género *Ureaplasma* se llamó originalmente cepas T o micoplasma T (tiny) debido a que las colonias son muy pequeñas (33).

*Ureaplasma urealyticum* se encuentra ubicado dentro de la clase *Mollicutes*, familia *Mycoplasmataceae*, cuyos miembros requieren esterol para su crecimiento, e incorporar el colesterol a su pared celular. Dentro de esta familia, se encuentran los géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma*, éste último con la característica de hidrolizar urea. Existen ureaplasmas de origen animal como *Ureaplasma diversum*, *Ureaplasma gallorale*, *Ureaplasma felinum* y *Ureaplasma sp.* para perro, oveja y mono. A la especie de origen humano se le denominó *Ureaplasma urealyticum* (60)

## Morfología.

Los ureaplasmas provenientes tanto de humanos como de animales son morfológicamente similares a los micoplasmas, son de tamaño muy pequeño oscilando entre 100 a 850 nm de diámetro con un promedio normal aproximado de 330 nm, observado a través del microscopio de contraste de fases. Se ha observado pleomorfismo, con filamentos extendidos en cultivos viejos. No se observa movilidad, aunque se asocie con ella, esto se comprobó a través del microscopio electrónico. En micrografías electrónicas o secciones ultrafinas, las células son usualmente redondas con un diámetro de 120 a 1,000 nm, con apariencia de huevo estrellado "fried eggs", en donde se observan solas o en pares. Las formas filamentosas de 2,000 nm de longitud y 50 a 300 nm de ancho se han observado sólo en algunos trabajos.

*U. urealyticum* está limitado por una membrana simple de 7.5 a 10 nm de grueso, con una pared no distinguible, además de una capa extramembranosa de 20 a 30 nm de grueso; se han observado en medios con rutenio rojo empleando radiación, estructuras morfológicamente similares a pequeños pili sobre la superficie membranosa. Algunos autores describen una membrana trilaminar de 8 a 10  $\mu$  de espesor, considerándose como bacteria sin pared celular. Sin embargo, otros autores <sup>(33)</sup> consideran que tiene una pequeñísima pared y debido a esta característica asumen cierto número de morfologías que varían entre cocos, cadena de cocos, cocos con túbulos, células en pera y ramificaciones filamentosas con estructuras terminales, estas últimas se han encontrado incluso en otros miembros de la familia *Mycoplasmataceae*. En general, depende de la edad del cultivo para

que se de una determinada morfología, aunque también del método de examen empleado.

Tabla 1<sub>(33)</sub>

Tabla 1 Propiedades de *Ureaplasma*.

Propiedades	Reacción o Resultados
Células esféricas u ovoides: filamentosas.	+
Diámetro de las células:	
rango, nm	100 - 850
promedio	330
Diámetro de la colonia, nm	15 - 60
Mejor crecimiento en 5-15% CO <sub>2</sub>	+
pH óptimo	6.0 +/- 0.5
No más de 10 <sup>7</sup> células viables por mL producidos en cultivos líquidos	+
Genoma en daltones	5.7 x 10 <sup>8</sup> daltones
Mol% G+C de ADN	26.9 - 30.2
Temperatura óptima °C	37
Requiere para su crecimiento colesterol	+
Actividad enzimática:	
-ureasa	+
-deaminasa arginina	-
-aminopeptidasa	+
-esterasa	+
-glicerofosfato deshidrogenasa	+
-adenosina trifosfatasa (ATPasa)	+
-ribonucleasa (RNasa)	+
-desoxirribonucleasa (DNasa)	+
-fosfatasa	+
-catalasa	-
Actividad proteolítica	+
Fermentación de carbohidratos	-
Hemólisis de eritrocitos	+
Hemadsorción de eritrocitos	+
Sensible a acetato de talio	+
Sensible a eritromicina	+
Sensible a lincomicina	-

## Afinidad tintoreal

Se demostró que los ureaplasmas poseen la actividad biológica de los típicos lipopolisacáridos (LPS) contenidos en bacterias Gram negativas (26).

Haciendo un breve recordatorio se puede mencionar que las bacterias Gram negativas presentan tres distintas capas de envoltura dispuestas de una manera no apretada. Estas incluyen la membrana externa arrugada en espiral conteniendo surcos y ondulante; una capa densa intermedia y, por último, una membrana plasmática interna de aproximadamente 0.0075mm de espesor. Los microorganismos Gram negativos presentan una estructura trilaminar típica. La capa densa intermedia puede eliminarse con lisozima: corresponde al glucopéptido de la pared celular rígida. También se encuentran lipoproteínas unidas en forma covalente a la superficie externa de la capa de la pared celular. La membrana externa, que es un complejo de fosfolípidos, proteínas y lipopolisacáridos, puede ser eliminada por distintos reactivos, tales como el EDTA y los detergentes, por ejemplo, SDS al 2% o fenol acuoso al 45%, dejando tras ellos la pared celular rígida que incluye el protoplasto. Esta membrana externa provee una barrera de permeabilidad que comúnmente protege a las bacterias Gram negativas de una amplia variedad de antimetabolitos, detergentes, drogas y enzimas.

## Composición química.

El genoma reportado para *Ureaplasma urealyticum* es de  $5.7 \times 10^8$  daltones.

Se hizo una comparación del contenido de G-C de algunos géneros de la familia *Mycoplasmataceae*, mismo que se muestra en la Tabla 2 (33).

Tabla 2. Contenido de Guanina Citosina (G-C).

Género	mol%	Forma de colonias
<i>U. urealyticum</i>	26.9 a 28.0	huevo estrellado
<i>U. diversum</i>	28.7 a 30.2	huevo estrellado
<i>Acholeplasma sp</i>	29.0 a 34.0	multilobadas
<i>Asteroplasma sp</i>	40.3 a 40.5	difusas
<i>Mycoplasma sp</i>	23.0 a 40.0	huevo estrellado
<i>Spiroplasma sp</i>	25.0 a 31.0	difusas
<i>Sacharothix sp</i>	26.0 a 35.7	huevo estrellado

Cuanto mayor es el contenido de pares de bases de G-C, mayor es el punto de fusión de ADN, debido a que los pares de bases de G-C son más estables y para poder disociarse precisan de más energía calorífica de la que necesitan los pares A-T; ello se debe en parte, a que los pares de G-C están unidos por tres enlaces de hidrógeno, mientras que los pares A-T sólo lo están por dos.

Recordando a *Ureaplasma urealyticum* como microorganismos sin pared celular <sup>(62)</sup>, los lipoglicanos contienen azúcares como manosa, glucosa y galactosa, ácidos grasos, glicerol y fósforo <sup>(33)</sup>. Estructuralmente son polisacáridos unidos covalentemente a lípidos de la superficie, éstos definen, como ya se mencionó, su afinidad tintoreal <sup>(15)</sup>.

Con respecto a algunas enzimas estudiadas en este microorganismo se mencionarán, entre otras, a la ureasa, con la cual si se comprueba su existencia, podríamos confirmar la presencia de *Ureaplasma urealyticum* <sup>(79)</sup>.

Thirkell <sup>(68)</sup> , reportó que la ureasa de los ureaplasmas está en el citoplasma y que la producción de ATP requerida por las células está en actividad concomitante, con la ureasa citosólica y la ATPasa de la membrana plasmática.

Hay estudios realizados sobre la hidrólisis de la urea llevados a cabo por Smith y colaboradores <sup>(62)</sup> , en donde plantean su participación en la síntesis dependiente de citrulina, observándose presencia exagerada de urea, sólo en células sin calentar y adicionando ornitina como sustrato. Cuando adicionaron ornitina sola los niveles de crecimiento de *U. urealitycum* eran escasos, al igual que con carbamoilfosfato, esto nos indica que existe presencia de las enzimas carbamoilfosfato sintetasa y ornitín carbamoiltransferasa siempre y cuando esté presente la urea. En ausencia de estas enzimas la vía puede cambiar hacia producción esencial de ácidos tricarbóxicos, tales como fumarato, malato y ácido oxalacético.

Continuando con enzimas, la actividad específica de la ATPasa se lleva a cabo en la membrana plasmática que tiene una estructura trilaminar; en cambio, en el citosol no existe esta actividad. Tabla 3 <sup>(13)</sup> .

Existe alta actividad de las deshidrogenasas NADH y NADPH en el citosol, estos resultados indican que la actividad de ATPasa se localiza principalmente en la membrana plasmática de *U. urealyticum* y que las actividades de las deshidrogenasa están localizadas en la fracción de citosol.

De Silva y colaboradores (13), demostraron estudios de lisado de células con actividad endógena de los fosfolípidos A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> y C en los serotipos 3, 4, y 8 de *U. urealyticum*.

Tabla 3. Características enzimáticas de fracciones celulares de serotipos de *U. urealyticum*

Serotipo	Fracción Celular	Enzima		
		ATPasa	Deshidrogenasas	
			NADH	NADPH
3	lisado de células	12.9	6.9	89.2
	membrana plasmática	116.9	21.3	0.1
	citósol	0.1	61.2	1,995.0
4	lisado de células	31.9	34.0	28.3
	membrana plasmática	53.5	33.0	24.4
	citósol	0.1	111.5	1,104.2
8	lisado de células	27.6	12.2	154.2
	membrana plasmática	33.8	4.2	0.2
	citósol	0.1	53.8	5,054.4

ATPasa, está expresada en nanomoles por Pi emitido por minuto. NADH y NADPH, están expresadas como la reducción de A<sub>340</sub> por miligramo de proteína por minuto (10<sup>-3</sup>).

Las fosfolipasas A<sub>1</sub> y A<sub>2</sub> hidrolizan fosfolípidos para producir lisofosfolípidos y ácidos grasos. Se encontraron localizadas en la membrana plasmática de los tres serotipos.

La fosfolipasa C es una fosforilhidrolasa la cual libera 1,2 diglicérido y fosfodiéster, se localiza en la membrana plasmática y en menor cantidad en el citósol.

#### Composición antigénica.

Existen 14 serotipos reconocidos de *Ureaplasma urealyticum*, éstos se dividen en dos grupos de serotipos: el grupo A formado por 2, 4, 5, 7, 8, 9, 10, 11, 12, y 13, y el B formado por 1, 3, 6, y 14 (13).

Esta división se da en base al tamaño del genoma que presentan, en donde el genoma de los serotipos del grupo B es más pequeño (60).

Se han hecho trabajos para identificar antígenos de *U. urealyticum*, como el antígeno de banda múltiple (MB) en el serotipo 3, que se conoce como antígeno de superficie y se ha identificado en pacientes infectados con el microorganismo. La secuencia nucleotídica predice que el antígeno de banda múltiple (MB) contiene un péptido y un sitio de acilación en la región N-terminal, mientras que la región C terminal está compuesta por seis aminoácidos (codificados por 18 nucleótidos), repitiéndose dos veces, ya que contienen epitopes de serotipos específicos. Se reportó no solamente el antígeno de la banda múltiple presente en todos los serotipos, también se encontró que las regiones de los genes 5' estaban marcando la especificidad y diversidad de los serotipos. Además, el análisis de esta región, encuentra relación filogenética entre serotipos de *U. urealyticum* y posiblemente sea potencialmente invasivo (28, 81).

Watson (76), trabajando con roedores que tenían una cepa de *Mycoplasma hominis*, encontró un antígeno denominado V.1 el cual se encontró que posee las mismas propiedades que el complejo antigénico (MB) observado en *Ureaplasma*. De esta manera se han usado anticuerpos monoclonales que reconocen a V.1 para reconocer epitopes de *U. urealyticum* (10, 82).

También en la ureasa se han identificado 5 epitopes distintos: UU8/1, UU8/12, UU8/16, UU8/17, UU8/25, y éstos se han encontrado en los serotipos 1, 5, 8, y 13 de *U. urealyticum* (80).

Requerimientos nutricionales y medios de cultivo.

Se obtiene un mayor crecimiento en presencia del 5 al 15% de CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> o H<sub>2</sub>, en condiciones aerobias es escaso. El pH óptimo es de 6.0 +/- 0.5, usualmente no se producen más de 10<sup>7</sup> células viables por mililitro producido en medios líquidos. Su temperatura óptima es de 37°C, requiere de colesterol para su crecimiento además de ser sensible a digitonina, a eritromicina y resistente a lincomicina.

Se sabe que requiere urea, glicerofosfato, histidina, malato, lactato, adenosín trifosfato, ácido ribonucleico, ácido desoxirribonucleico y fosfato; lleva a cabo reacciones como proteólisis, hemólisis de eritrocitos y hemadsorción de eritrocitos (9).

Se conocen varios medios para su aislamiento que ya se han utilizado: U9 Medio de Shepard y Lunceford, una modificación de este medio es el U9B que es el Medio de Shepard U9 más ácido clorhídrico, Medio de Taylor-Robinson, U4 Medio de Howard, Agar E modificado, Caldo Ureaplasma y Agar Ureaplasma, Caldo E suplementado con urea.

-U9 Medio de Shepard y Lunceford.

Consiste en caldo de carne tripticase en polvo (BBL o Difco adicionado de NaCl y KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>). Este caldo de carne se ajusta a pH de 5.5 con HCl 2N y se esteriliza a 121°C por 15 minutos. Los siguientes componentes estériles se adicionan asepticamente al caldo de carne estéril: suero de caballo, solución de urea, solución de rojo de fenol, penicilina G potásica en solución y L-Cisteína. Cuando se adiciona HCl al medio, se refiere a éste como U9B. El pH final será de 6.0 +/- 0.2 (21, 34).

-Medio de Taylor-Robinson.

Consiste en caldo de carne, corazón estéril de vaca (Difco PPLO) al cual se le adicionan componentes de un patrón de soluciones estériles, caldo de carne con solución de extracto de levadura, suero de caballo no calentado, urea en solución, solución rojo de fenol, solución de acetato de talio y solución de bencilpenicilina. El pH final se ajusta a 6.0 +/- 0.5 con HCl 0.1N. La solución del extracto de levadura se prepara suspendiendo levadura seca en agua destilada, después, calentar a vapor a 100°C durante 30 minutos y centrifugar a 600 g durante 60 minutos, se esteriliza en filtros Seitz, se guarda a -20°C.

-U4 Medio de Howard.

Consiste en la mezcla de componentes estériles como la solución salina balanceada de Hanks (10x de concentración; Caldo de carne de Hartley; suero fetal de ternera (Flow Laboratories); solución de extracto de levadura: solución de rojo de fenol; solución de urea; solución de acetato de talio; solución MgSO<sub>4</sub> con bencil penicilina y suficiente agua destilada, el pH final se ajusta a 6.0 +/- 0.2 con HCl 1N. La solución de extracto de levadura se prepara como se describió anteriormente, excepto que éste se hierve durante 2 minutos y se esteriliza en autoclave a 105°C durante 20 minutos (33).

-Caldo E suplementado con urea.

Preparado con base de caldo de Mycoplasma; solución rojo fenol, suero de caballo; levadura dializada; penicilina G y urea.

-Agar E modificado.

Contiene peptona de soya (Bioxon); NaCl; agar purificado exento de inhibidores (Merck); dializado de levadura estéril; suero de caballo desammaglobulinizado (Microlab); vancomicina; colistina; anfotericina B; lactato de trimetoprim; urea y agua desionizada. El pH se ajusta a 7.4. Sirve para realizar pruebas de sensibilidad con discos de eritromicina (20, 21).

-Caldo Ureaplasma.

Para preparar caldo base urea: Peptona de soya; NaCl; rojo de fenol; agua destilada, ajustada a un pH de 6.0 con HCl 1N, se esteriliza en autoclave 15 minutos a 121°C. Después se adiciona amortiguador MES 1M con pH de 6.0; urea 1M; suero de caballo; solución de penicilina y solución de lincomicina (5).

-Agar Ureaplasma .

Primero el agar base con: Peptona de soya; NaCl; amortiguador MES (2-(N-Morfolino) ácido etanosulfónico y ácido fórmico (Behring Diagnostics); rojo de fenol; agua destilada y agarosa (Difco), se ajusta a pH 6.0 a 37°C con NaOH 1N y se esteriliza a 121°C por 15 minutos. Aparte se prepara levadura dializada; suero de caballo estéril; urea 1M; solución de penicilina; solución de lincomicina que se adicionan al agar base preparado anteriormente (5).

## CAPÍTULO II

### PATOLOGÍA

Algunos autores sugieren que los ureaplasmas son miembros de la flora habitual, especialmente del tracto urogenital <sup>(17, 18, 44)</sup>, o un oportunista que se convierte en patógeno secundario; sin embargo, a través de los años, los reportes sugieren que los ureaplasmas se han convertido en patógenos primarios importantes. No se sabe a ciencia cierta qué enzimas y toxinas pueden estar implicadas para que *Ureaplasma urealyticum* pueda ser huésped del humano, O'Learly <sup>(44)</sup>, comenzó a investigar haciendo comparaciones entre las diferentes condiciones patológicas tanto en hombres como en animales, sin llegar a conclusiones exactas, debido a que *Ureaplasma urealyticum* es un grupo muy heterogéneo. Como ya se mencionó anteriormente, ahora se conocen 14 serotipos, probablemente más, incluyendo patógenos y no patógenos, el problema central es que no se sabe distinguir uno de otro por el padecimiento que causen <sup>(44)</sup>, porque los serotipos muestran mínima correlación con la patología. Es causa de enfermedades, si se presenta un número excesivo de microorganismos.

*Ureaplasma urealyticum*, se ha aislado en el cérvix y/o vagina de un 40 a 80% de mujeres asintomáticas, sexualmente maduras y en mujeres de estatus socioeconómico bajo, que tengan actividad sexual con múltiples parejas. Se ha encontrado igualmente en pacientes varones, aparentemente normales. Se observa con mucha frecuencia en grupos étnicos negros y se relaciona con el uso de anticonceptivos orales <sup>(17, 18, 23, 44)</sup>. Muchas de

estas características demográficas pueden indicar la presencia de otros microorganismos transmisibles sexualmente como *Chlamydia* y *Streptococcus* del grupo B <sup>(17)</sup>.

El aislamiento de micoplasmas genitales se asoció con la labor de parto prematuro, muerte fetal intrauterina, enfermedad de membranas hialinas, anomalías congénitas y presencia de neutrófilos en los espacios alveolares <sup>(18)</sup>. Los ureplasma se han encontrado causando infecciones oportunistas extragenitalmente y en pacientes inmunosuprimidos, especialmente en niños prematuros, los recién nacidos adquieren estos microorganismos antes o después de nacer, llevándose a cabo una transmisión vertical, de la madre al feto; se ha reportado esta relación en un 58% de niños prematuros.

*U. urealyticum* se ha relacionado con enfermedades respiratorias del recién nacido al igual que en el sistema nervioso central <sup>(23)</sup>.

La capacidad de adherirse es un prerrequisito para la patogénesis de muchos microorganismos. Se ha encontrado que la adherencia de *Mycoplasma pneumoniae*, tanto a células respiratorias como a eritrocitos, se realiza utilizando mecanismos similares. Por ejemplo, la adherencia de componentes proteínicos de *M. pneumoniae*, está mediada por neuraminidasa, tanto en eritrocitos como en el epitelio respiratorio. A *Ureaplasma urealyticum* se le ha observado la capacidad de adherirse a varias células, incluyendo células epiteliales de uretra, espermatozoides y células animales, sin embargo, el mecanismo de adherencia de *U. urealyticum* no está muy claro hasta este momento <sup>(61)</sup>.

Para poder comentar acerca de la posible adherencia de *U. urealyticum*, se describirá lo que hasta ahora se conoce sobre la adherencia de *M. pneumoniae*.

Estudios realizados en los cultivos de órganos han señalado que la infección se inicia con la adherencia de *M. pneumoniae* a células ciliadas, seguida de ciliostasis, pérdida de cilios y destrucción del epitelio de la mucosa. Al parecer *M. pneumoniae* es fagocitado y destruido por los leucocitos, aunque se ha observado la inhibición de la función de los macrófagos *in vitro*.

La interacción hospedero-parásito a nivel extracelular ocurre al adherirse al receptor celular del ácido neumínico de la bacteria mediante una estructura especializada en punta. Se produce daño metabólico citopático y ciliostático de la célula epitelial debido parcialmente al H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Los micoplasmas evaden la fagocitosis quizá debido a que comparten antígenos con las membranas celulares del hospedero. Los macrófagos son inmóviles cuando se encuentran adheridos y se degradan rápidamente en presencia del suero antiespecífico. Las especies de *Mycoplasma* se adhieren y recubren a los linfocitos Th 1 y a otras células, luego se desprenden llevándose los antígenos del hospedero, originando una respuesta autoinmune, que apoya la teoría de que la neumonía es, en gran parte, un fenómeno autoinmune.

Saada y colaboradores <sup>(56)</sup>, marcaron serotipos de *U. urealyticum* con metionina originándose una alta actividad metabólica específica, el marcado permite el estudio del mecanismo de adherencia a los eritrocitos humanos. Los serotipos utilizados fueron el 2, 3, 7 y 8. La temperatura óptima de ataque es de 37°C. Los receptores siálicos presentes en la superficie de las células hospederas se han reportado como mediadores de la adherencia de muchos micoplasmas. El mecanismo de adherencia es complejo y se encuentra mediado por

componentes proteínicos de superficie. También existen otros componentes de superficie que reconocen residuos de ácido siálico y/o compuestos sulfatados <sup>(56)</sup>.

En la Figura 1 se observa la adherencia de diferentes serotipos de *U. urealyticum* a eritrocitos humanos.

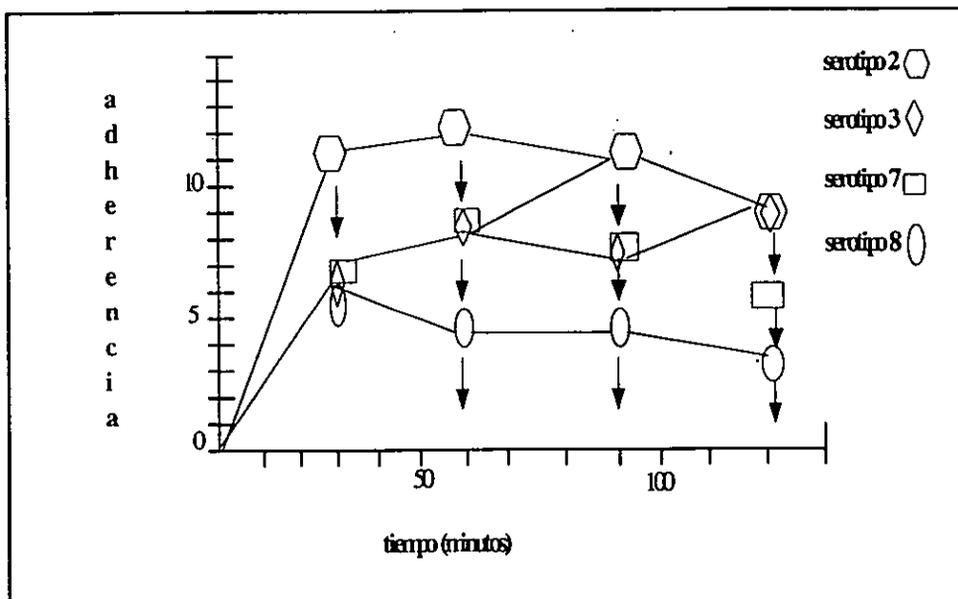


Figura 1. Adherencia de *U. urealyticum* a eritrocitos humanos.

El serotipo 2 es el que más se adhiere a las células de eritrocitos pudiendo ser el más patógeno para ellos <sup>(56)</sup>.

Se ha encontrado que el ácido N-acetilneuramínico libre no interfiere con el mecanismo de adherencia, indicando la importancia de la unión en la cual los residuos de ácido siálico son terminales. Esto es común en la adherencia de *M. pneumoniae* y *M. gallisepticum* <sup>(56)</sup>.

Otros autores encontraron que la adherencia de *U. urealyticum* a las monocapas de células eucarióticas se podía cuantificar usando ensayos en los cuales se monitorea la producción de amonio a través de la hidrólisis de la urea, realizada por la enzima ureasa ureaplásmica. La adherencia se elimina por pretratamientos de los ureaplasmas con extractos de células Hela con neuraminidasa.

El serotipo específico 8 con 96 kDa expresa en la superficie proteínas antigénicas dentro de las cuales se pueden presentar algunas adhesinas (61).

Presencia de enfermedades neonatales y maternas.

Las muertes perinatales ocurren en un 85% de los nacimientos prematuros, no se incluyen los fallecimientos por malformaciones congénitas (17).

Un cierto número de estudios, indican que la contaminación bacteriana en la cavidad endometrial ocurre durante el parto, *Ureaplasma urealyticum* se ha podido aislar con cierta frecuencia, seguido de ruptura de membranas fetales, la ruptura prolongada de éstas pueden causar corioamnionitis aguda (17, 44), presentándose como una de las enfermedades más frecuentes causadas por *U. urealyticum*.

Ha sido difícil demostrar qué existe una alta prevalencia de colonización por *U. urealyticum* sin síntomas clínicos (11, 12), como ejemplo está el tracto genital bajo y debido a esto ha sido muy problemático su aislamiento en los sitios contaminados (21).

Gail (17), realizó aislamientos de bacterias aerobias en autopsias neonatales que se habían seleccionado porque las membranas fetales estaban infectadas o había evidencias de

ruptura prolongada de las mismas. *U. urealyticum* se aisló de la flora cervical y uretral durante el embarazo (21, 45, 46, 58, 61), con un rango entre el 39% y el 98%, causando enfermedades en recién nacidos, con serias consecuencias; sin embargo, hubo dificultad para determinar si hay una relación casual entre colonización/infección con *U. urealyticum* y la enfermedad en el neonato (75). Entre las situaciones indentificadas están: nacimientos con productos muertos (18, 22, 23, 57), colonización en tejido placentario (18, 22, 44, 58, 61), ocasionando en algunos casos corioamnionitis entre las semanas 17 y 20 del embarazo (18, 44, 58, 61, 65), así como también neumonía (18, 65). Actúa como un posible factor de riesgo para el desarrollo de displasia broncopulmonar (18, 23, 43, 44, 71) y se ha aislado de sangre de la madre (57), de la sangre del cordón umbilical (57), del endometrio (18, 57), así como también de ojos, nariz, tráquea, garganta y vagina de recién nacidos (18, 24, 57). Algunas complicaciones que presentan son, el comienzo de la labor de parto antes de tiempo (19, 44), colonización del líquido cerebro espinal, colonización de niños con meningitis (43, 44, 75), aislamientos de sangre en cualquier parte del cuerpo (61), ocasiona también abortos (61, 65), nacimientos de niños con bajo peso (17, 44, 57, 61, 75, 79) en mujeres embarazadas pre y postérmino. Igualmente se ha encontrado en el hígado de infantes (17). En algunos casos existe una relación inversa entre el peso al nacer y el aislamiento de *U. urealyticum*, no obstante estas evidencias, las enfermedades clínicas y sus relaciones patogénicas han sido difíciles de establecer (22).

Con el tiempo, se han realizado más estudios con el fin de relacionar la presencia de micoplasmas con las enfermedades antes mencionadas, sin embargo, son aún pocos los estudios que relacionan a estos microorganismos (16, 52).

Se investigó un grupo de pacientes en quienes se aislaron micoplasmas genitales, encontrándose hemorragia pleural y cuenta elevada de leucocitos polimorfonucleares (43), en estos últimos existen cambios en el número total o en su morfología y se ha visto que montan una respuesta ante la infección, inclusive, ésta ocurre en los neonatos que mueren de sepsis, con frecuente leucopenia y neutropenia y en quienes la respuesta es el incremento en el número de células inmaduras.

Debido a los cambios observados en los leucocitos, tanto en el número como en la morfología, se realizó un estudio durante 21 días, los micoplasmas aislados no fueron de sangre ni de líquido cefalorraquídeo. Los leucocitos y el conteo diferencial se obtuvieron de tráquea y nasofaringe con propósitos clínicos. Estadísticamente, el incremento en el conteo de leucocitos y neutrófilos se observó en el 2º y 3er día de vida, en neonatos colonizados con *U. urealyticum* en la tráquea. También hubo diferencias significativas en el conteo de eosinófilos en el día 14 en los neonatos infectados, en comparación con los no infectados (78).

Este estudio dió a conocer que existe una relación entre la colonización con *U. urealyticum* en tráquea y nasofaringe en niños de bajo y muy bajo peso al nacer, asociado con el elevado conteo de leucocitos. Se vió también la relación entre el incremento del número total de la cuenta de leucocitos y el del número de neutrofilos maduros e inmaduros. El conteo de leucocitos es similar al que se ha visto en neonatos infectados con otros patógenos conocidos. El incremento puede indicar que *U. urealyticum* es capaz de provocar una respuesta inflamatoria (47) y posiblemente sea un patógeno en el neonato. El conteo de leucocitos puede actuar como indicador de inflamación severa y así examinarse la

intervención de una posible colonización por *U. urealyticum*. Además de leucocitos polimorfonucleares, también se han encontrado los pulmones de algunos neonatos con inflamación intersticial y linfocitos peribronquiales, aunque no fue significativamente estadístico. Hubo cambios en los túbulos quísticos y hemorragias corticales en glándulas adrenales, con decremento en el peso tímico, presentándose también con edema (17).

El aislamiento postnatal de *U. urealyticum* a partir de pulmón y tejido cerebral fue evidencia de infección congénita. Este microorganismo se ha aislado de tejido de hígado en un 21% de fetos de abortos espontáneos causando necrosis en el hígado (45).

En los micoplasmas genitales encontrados ocasionalmente en fetos o en materiales de autopsias neonatales, se encontró a menudo inflamación placentaria asociada, pero no se observan características morfológicas (17, 44).

La pregunta que ha surgido acerca del material de autopsias obtenido de niños fallecidos, ha sido si las infecciones ureaplásmicas preceden a las muertes fetales. Waites (73), demostró que la muerte fetal no tiene que originarse necesariamente de una infección ureaplásmica precedente. El aislamiento del microorganismo en múltiples órganos causa una amplia y activa respuesta inflamatoria, además de diseminación hematogena fetal (38).

Los investigadores revisaron autopsias neonatales así como neonatos vivos, en donde el aislamiento para micoplasmas genitales fue positivo, encontrándose un peso promedio entre 1,200-1,900g al nacer.

En estudios recientes, se ha encontrado que *U. urealyticum* es un microorganismo capaz de causar infecciones invasivas tanto en niños prematuros como *in utero* (45).

Syrogianopoulos <sup>(64)</sup>, ha encontrado que las niñas son más propensas a adquirir el microorganismo en un 68%, mientras que los niños lo adquieren en 45%, esto se observó porque hay un riesgo mayor de colonización en vagina, ocurriendo antes del período preescolar; la proporción que se observa en garganta y ojos es casi la misma tanto en niños como en niñas.

Se observó el curso natural de la colonización por *U. urealyticum* principalmente en mucosas, tanto en garganta y ojos como en vagina. La colonización faríngea decrece durante los primeros meses de vida. La edad implicada en la colonización de la garganta, fue de 1.4 meses en 65 niños de 75 examinados, estos mismos niños continuaban colonizados a los 3.3 meses de edad. Por el contrario, la colonización en ojos y vagina decrece durante los primeros 1.4 meses de vida y continúa prácticamente sin cambio hasta los 3.3 meses de vida <sup>(65)</sup>.

### Enfermedad crónica del pulmón

Publicaciones recientes <sup>(17, 44, 58, 59, 61,7 4)</sup>, indican que existe una asociación entre la colonización del tracto respiratorio bajo con *U. urealyticum* a partir de las 24 a 72 horas después del parto y el desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón, observada en las niñas con bajo peso al nacer <sup>(29)</sup>. Todo esto se asocia con la necesidad de ventilación asistida, con la presencia del síndrome de estrés respiratorio, con insuficiencia respiratoria y con la muerte <sup>(59)</sup>, además de neumonía neonatal, hipertensión pulmonar, infección crónica del sistema nervioso central y displasia broncopulmonar.

Como se mencionó anteriormente, la colonización en los recién nacidos se relaciona con la edad gestacional y el peso al nacer; sin embargo, otros autores (60), no comparten las mismas opiniones y por los estudios que realizaron, observaron que no hay gran diferencia en las características de la nasofaringe colonizada y la no colonizada, esto también se ha visto en niños prematuros.

Se han hecho pequeños avances para reducir la mortalidad causada por la enfermedad crónica del pulmón, la cual afecta de 15% a 38% de sobrevivientes de enfermedades pulmonares neonatales, un primer factor de riesgo es el bajo peso al nacer y un segundo es la colonización por *U. urealyticum* (36).

Gail (17), encontró la presencia de *U. urealyticum* en el aparato digestivo, nasofaringe y tráquea de neonato, contribuyendo de esta manera al desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón.

Shulamith (59), reportó una alta relación de colonización nasofaríngea. El ureaplasma se aisló endotraquealmente, sugiriendo que la colonización nasofaríngea tiene un valor pronóstico en el desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón lo que hizo que *U. urealyticum* se considerara un factor de riesgo.

Waites (71), también estudió la inoculación en ratones de 14 días de nacidos y observó que eran menos susceptibles a la colonización por *U. urealyticum* que los recién nacidos inoculados a las pocas horas del nacimiento, de donde se demuestra que la edad del paciente tiene que ver con la infección provocada por el ureaplasma. Esto es compatible con las observaciones clínicas en niños de bajo peso al nacer quienes son más susceptibles a

desarrollar la enfermedad crónica del pulmón en asociación con la infección por *U. urealyticum* (1, 17, 64, 81), que en niños nacidos de embarazos a término o niños de mayor edad.

También existen otros factores que predisponen a niños con bajo peso al nacer, al desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón, como son la ventilación y el requerimiento de O<sub>2</sub> (64). Experimentando en el laboratorio, Gail (17), demostró la presencia de infecciones ureaplásmicas en ratones recién nacidos expuestos a altas concentraciones de oxígeno por enfermedades respiratorias severas. Los ratones infectados y expuestos a un 80% de oxígeno se encontraron más susceptibles a la colonización y a la muerte. Debido a ello, se observó con un incremento de oxígeno, la persistencia de ureaplasmas en el tracto respiratorio (43). Los oxidantes son, además, un enlace en la susceptibilidad a las infecciones, causando enfermedades pulmonares y en particular, enfermedades respiratorias ureaplásmicas (69).

La pregunta importante a contestar es si existe una relación entre la colonización con *U. urealyticum* y la enfermedad crónica del pulmón y la muerte, como una coincidencia o como una consecuencia. Gail (17), entendió la fisiopatología de la enfermedad crónica del pulmón en niños prematuros, sugiriendo que *U. urealyticum* no es causa primaria, pero que puede producir neumonía que al no ser detectada ni tratada, da como resultado un incremento en el requerimiento de oxígeno y subsecuentemente el desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón. Por lo tanto, Gail mencionó que una relación causal entre la infección con *U. urealyticum* y la enfermedad crónica del pulmón será difícil de establecer.

Se concluyó que durante la terapia de ventilación y oxigenación ocurre una alta incidencia de niños afectados por la enfermedad crónica del pulmón <sup>(17)</sup>.

Desafortunadamente para el hospedero de *U. urealyticum*, este micoplasma está bien equipado para causar infección crónica en pacientes que tengan la capacidad de producir IgA proteasas y fosfolipasas, las cuales llegan bioquímicamente hasta ácido aracnoico dando como resultado la cascada de la inflamación y subsecuentemente el tejido dañado. Se puede provocar deficiencia de factores de crecimiento, como por ejemplo los esteroides, pues *U. urealyticum* compete por los sustratos del hospedero dando como resultado la prolongación del ciclo ureaplásmico y, por lo tanto, el encarecimiento del oxígeno <sup>(77)</sup> (Figura 2).

Existen varios autores que han asociado a *U. urealyticum* con el desarrollo de la enfermedad crónica del pulmón en niños prematuros, a continuación se mencionarán algunos de ellos y sus experiencias.

Wang y colaboradores <sup>(74)</sup>, trabajaron con niños de menos de 2,500g de peso al nacer en quienes la enfermedad crónica del pulmón también se determinó a los 28 días por radiografías a los pacientes con síntomas clínicos y con datos como presión sanguínea de PaO<sub>2</sub> 60mmHg y PaCO<sub>2</sub> 45mmHg.

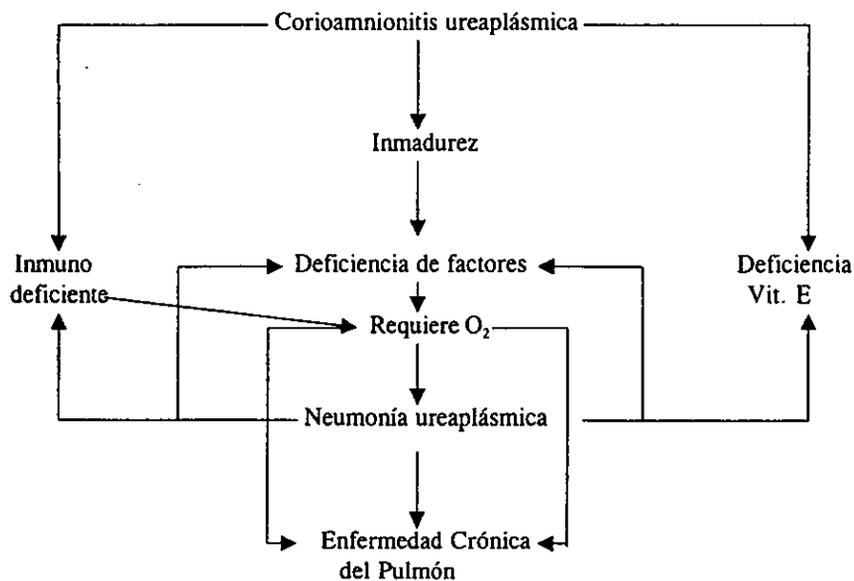


Figura 2. Ciclo de *Ureaplasma*.

Otro grupo en estudio fué el de bebés con menos de 1,000g de peso al nacer, donde se hizo una evaluación del posible riesgo de padecer enfermedad crónica del pulmón por *U. urealyticum*, el intervalo de riesgo fué de 1.54 a 2.37 y el valor del grupo control investigado fué de 1.93, de donde se concluyó que existe un doble riesgo de padecer enfermedad crónica del pulmón en niños prematuros con colonización por *U. urealyticum*, su frecuencia se ha asociado con el peso que presentan al nacer. (Tabla 4)

Tabla 4. Relación de la ECP con el peso al nacer y colonización con *U. urealyticum*.

Peso al nacer	Colonizados con <i>U. urealyticum</i> .	Enfermedad crónica del pulmón
750g - 999g	no	sí
750g - 999g	sí	sí
1,000g	sí	sí
1,250g	sí	sí
1,250g	no	sí
1,249g - 1,749g	sí	no
1,249g - 1,749g	no	no

Analizando la tabla 4 se puede observar que mientras el peso al nacer del neonato sea menor a 1,250g existe una posible relación entre el *U. urealyticum* a la presencia de la enfermedad crónica del pulmón, conforme el peso va en aumento disminuye la probabilidad de padecer dicha enfermedad asociado a *U. urealyticum* (11, 29, 58, 61, 74).

La asociación entre colonización con *U. urealyticum* y la enfermedad crónica del pulmón en niños prematuros no es específica, la colonización con este microorganismo también se ha asociado con corioamnionitis, partos prematuros, neumonía, artritis séptica y osteomielitis, deficiencia respiratoria, exposición a oxígeno, ventilación sostenida y episodios de sepsis bacteriana que se han asociado con el desarrollado de la enfermedad crónica del pulmón.

También se encontró que el desarrollo de esta enfermedad se relacionó frecuentemente con la colonización en tráquea más que la colonización nasofaríngea.

Payne (48) , quiso también averiguar una posible relación entre la colonización con *U. urealyticum* y la enfermedad crónica del pulmón, en 93 niños prematuros. Estos niños pesaron al nacer menos de 1,251g. Los aislamientos de *U. urealyticum* en nasofaringe y

tráquea se obtuvieron de 14 +/- 1 día después del nacimiento, dando positivo en 17 de 93 pacientes. Los niños nacidos por canal vaginal resultaron colonizados 4.5 veces más que aquellos que nacieron por operación cesárea. La colonización con *U. urealyticum* se asoció con 1.6 veces el riesgo de desarrollar la enfermedad crónica del pulmón y con un grado de incidencia mayor o igual a la presencia de leucocitos polimorfonucleares en los aspirados traqueales obtenidos de 2 +/-1 día de edad, comparados con niños no colonizados. La colonización con *U. urealyticum* se asoció con la enfermedad crónica del pulmón y con la presencia de células inflamatorias en los aspirados traqueales.

Panero <sup>(47)</sup>, establece el aislamiento traqueal de *U. urealyticum* que se investigó para determinar si el micoplasma está asociado con una respuesta inflamatoria en niños con peso menor a 1,301g, en donde los resultados se correlacionaron con el conteo de los leucocitos, además del diagnóstico clínico y radiografías.

#### Infección en el tracto genito-urinario

Taylor y Robinson <sup>(65)</sup>, sugieren que los ureaplasmas pueden formar parte en poca cantidad, de la flora normal tanto vaginal como uretral y se pueden encontrar causando enfermedades, si se presentan en un número excesivo.

Los reportes recientes indican la posibilidad de que las infecciones ureaplásmicas estén relacionadas con otras infecciones <sup>(44)</sup>.

Es sabido que las infecciones no gonocócicas, también llamadas uretritis no específicas, pueden causarlas una gran variedad de microorganismos, incluyendo

*Mycoplasma sp*, *Chlamydia trachomatis*, *Haemophilus vaginalis*, actualmente *Gardnerella vaginalis*, virus de Herpes simple y otras más. Existen evidencias considerables de la frecuencia de cada uno de estos agentes causales.

Los ureaplasmas se reconocieron como uno de estos agentes causantes de uretritis no gonocócica en los años de 1950. Se encontró que el 30% de las uretritis no gonocócicas se deben a ureaplasmas, tanto en hombres como en mujeres, cuando no existen más microorganismos que éste.

O`Leary, hace un estudio de la relación que existe entre *U. urealyticum* y la prostatitis crónica <sup>(44)</sup> .

También se ha encontrado uretritis causada por ureaplasmas en pacientes inmunosuprimidos y en pacientes que tienen múltiples parejas sexuales.

Taylor y Robinson <sup>(65)</sup> , asociaron a *Chlamydia trachomatis*, con infecciones secundarias; lo que sugiere que micoplasmas, ureaplasmas y virus pueden estar en simbiosis ocasionando efectos como uretritis en el humano.

Se menciona que existe el "síndrome uretral", término que se emplea cuando se presenta disuria con bacteriuria y anuria, debido a ello no se pueden usar los métodos de laboratorio convencionales, este último síntoma mencionado es por el que se guían los médicos. Al síndrome se le ha asociado con la presencia de ureaplasmas, micoplasmas y *Chlamydia*.

Se ha presentado *U. urealyticum* en el tracto urinario ocasionando la formación de cálculos. El papel preciso de los ureaplasmas en estas patologías no es muy conocido. Entre las preguntas que han surgido se encuentra la de qué clase de propiedades poseen estos

microorganismos que contribuyen a su virulencia. Se menciona que muchos microorganismos son semejantes a otros y *U. urealyticum* se absorbe en la superficie de células de mamíferos y se multiplica ahí, tiene la capacidad de realizar actividad urealítica y liberar iones amonio <sup>(43)</sup> .

Se ha establecido que los ureaplasmas son móviles y ascienden al tracto urinario desde la uretra, en la vejiga se han encontrado causando cistitis, ya que la lesionan ocasionando inflamación de su pared.

Un gran número de reportes sugieren la relación entre cepas de ureaplasma con la formación de cálculos urinarios, tanto en tracto bajo como en el alto. Hasta la fecha no se ha encontrado alguna relación entre *U. urealyticum* y pielonefritis aguda <sup>(14)</sup> .

Prostatitis. La prostatitis aguda es causada por bacterias piógenas tales como *Staphylococcus aureus*, *Neisseria gonorrhoeae* y otras. La prostatitis crónica, generalmente es el resultado de la enfermedad en estado agudo no tratada o con un mal tratamiento y también está asociada con *U. urealyticum*. La prostatitis idiopática o prostatodinia es una condición que evidencia todos los síntomas clínicos de prostatitis pero no es infecciosa, también se ha llamado prostatitis estéril <sup>(42)</sup> .

Se encontró que se aislaron ureaplasmas del 47% de pacientes y del 25.5% de controles sanos. O`Leary <sup>(44)</sup> , describió la importancia de los estudios cuantitativos en la difícil tarea de asociar infecciones ureaplásmicas con prostatitis.

Infertilidad. Los reportes sugieren que la mitad de las infecciones ureaplásmicas que se presentan en hombres, causan infertilidad idiopática afectando negativamente la función espermática.

También se ha encontrado que existe correlación estadística entre hombres infértiles y la presencia de ureaplasmas en semen.

Se notó que en tales casos hay un marcado decremento de la movilidad de los espermatozoides y algunas veces también disminuye su número. Poco después se encontró que estos microorganismos pueden unirse masivamente a los espermatozoides especialmente en el segmento intermedio, como consecuencia, los espermatozoides infectados se arrastran esforzándose para cumplir sus funciones. Esto, no sólo decrementa la movilidad, sino también puede causar recogimiento de la cola del espermatozoide enmarañándola e incluso, puede causar aglutinación multiespermática; cualquiera de los dos casos, da como resultado la pérdida total de la movilidad <sup>(66)</sup>.

Esto ha sugerido que la presencia de ureaplasma en el semen puede algunas veces suprimir la penetración ovárica. Comúnmente las infecciones ureaplásmicas en hombres también causan infertilidad, por el hecho de ser asintomáticas o a menudo no se realiza su detección. Por esta razón muchos investigadores dudan acerca de la participación de los ureaplasmas en la infertilidad masculina.

Desafortunadamente, esta condición ha demostrado que las enfermedades transmitidas sexualmente, en este caso por ureaplasmas, causan fallas en el aparato reproductor, esta consecuencia se puede pasar de un individuo sexualmente activo a otra u otras parejas, por lo cual deben de ser tratadas simultáneamente, de lo contrario, las personas se reinfectarían si solamente se trata a una de las personas.

O'Leary reportó que, mientras los ureaplasmas pueden infectar espermatozoides humanos, particularmente en su segmento intermedio, la penetración y absorción en el ovario no se afectan considerablemente.

Los últimos estudios epidemiológicos indican que *U. urealyticum* participa en las fallas reproductivas humanas, con base en las altas frecuencias de aislamientos a partir de parejas infértiles después de la terapia. Sin embargo, se cuestiona el porqué no se descubren diferencias significativas entre parejas fértiles e infértiles. Se demostró que la incidencia de *U. urealyticum* es altamente significativa en aquellas parejas en quienes la infertilidad se asocia con la presencia de un "factor masculino", cosa que no sucede con otras parejas infértiles que no poseen este factor. Son entonces pocas, las evidencias de que *U. urealyticum* actualmente causa infertilidad en hombres <sup>(66)</sup>.

Se realizó un estudio para investigar el efecto de tres serotipos de *U. urealyticum* sobre la movilidad espermática expresada en porcentaje y sobre la penetración del espermatozoide en gel de poliacrilamida.

Por los resultados de este estudio, se ve que hay diferencias significativas en el caso de la penetración en el gel de poliacrilamida, entre los espermatozoides infectados con ureaplasma y los no infectados; la infección ureaplásmica tampoco tiene efecto significativo en el porcentaje de movilidad.

Se utilizaron los serotipos 1, 4 y 11. El serotipo 4 ureaplásmico se ha reportado como el más común encontrado en hombres con uretritis.

Para elucidar el papel de *U. urealyticum* como causa de prostatitis crónica se investigó su incidencia en el tracto genital en 131 pacientes con prostatitis crónica, en 120

pacientes con síntomas y signos de prostatitis sin datos de inflamación prostática, cuentas normales de leucocitos y cultivos de orina negativos a lo cual se le ha denominado prostatodinia; también se reconoció la presencia de bacterias como *Chlamydia trachomatis*. Acordando que en 4 pruebas *U. urealyticum* se aisló de la próstata de 16 pacientes con prostatitis y 2 pacientes con prostatodinia, 5 de estos pacientes con prostatitis, mostraron otras bacterias en especímenes obtenidos después de masaje prostático (41) .

Infección en el líquido amniótico.

La corioamnionitis se ha asociado con el desarrollo de neumonía congénita y nacimientos prematuros.

*U. urealyticum* ha sido el microorganismo más común aislado en placentas inflamadas y ha generado mucho interés como patógeno, siendo capaz de causar infección diseminada.

La adquisición fetal del micoplasma puede ocurrir por infección placentaria con varios niveles de diseminación hematogena a través del cordón umbilical, el microorganismo llega al pulmón fetal y al líquido amniótico, también puede causar neumonitis bacteriana o meningitis a partir de un foco como el tracto respiratorio.

Una tercera suposición puede ser la transmisión vertical durante el período perinatal a través del paso por el canal vaginal, resultando una colonización en piel, mucosa y posiblemente vías respiratorias (69) .

Las evidencias sugieren que la infección del líquido amniótico generalmente se presenta por una infección endocervical ascendente, las mujeres con infección cérvico-vaginal por *U. urealyticum* tienen un riesgo mayor de presentar la infección del líquido amniótico (25, 32) .

En un 95% de nacimientos se encontró corioamnionitis por histología en gestantes de 25 semanas o menos, en un 35% a 40% de 25 a 32 semanas, de 11% de 34 a 35 semanas y en el 3% al 5% en nacimientos normales; cabe mencionar que no siempre se encuentra una asociación entre la infección del líquido amniótico y sus muestras histológicas. Sin embargo, es el agente más comúnmente encontrado en corioamnionitis por estudios histológicos (3) .

En un estudio (18) , se examinaron histológicamente 8 placentas en donde el resultado fué positivo para la presencia de *U. urealyticum* en el corioamnion, se encontró también en los pulmones de 7 fetos que fallecieron a causa de neumonía.

En otro estudio (21), se recolectó líquido amniótico transabdominalmente de 86 mujeres clínicamente asintomáticas, con contaminación en el tracto genital bajo, encontrándose que esta población presenta una incidencia del 97% de contaminación por *U. urealyticum*, presentándose corioamnionitis y neumonía fetal, el 80% de los casos de autopsias revisadas son muestras del pulmón o de placenta.

Entonces, en los niños que presentan corioamnionitis, se puede sospechar de una infección por *U. urealyticum* (37) .

Gauthier (18) , estudió la relación entre la colonización del líquido amniótico, la colonización vaginal y la neonatal, con *U. urealyticum*. Este investigador aisló las muestras

del líquido amniótico y de la vagina de mujeres con infección intraamniótica seguida de rompimiento de membranas por más de 10 horas. El líquido amniótico se recolectó transverticalmente por aspiración con un catéter intrauterino, 116 fueron positivas para *U. urealyticum* en la vagina, 69 en el líquido amniótico y 66 de vagina y líquido colonizado con *U. urealyticum*, que puede no estar necesariamente involucrado en los partos prematuros en pacientes con ruptura temprana de membranas.

Syrogianopoulos <sup>(64)</sup>, examinó aspirados endotranqueales de todos los recién nacidos prematuros con edad gestacional de menos de 30 semanas, encontrando que los fetos pueden colonizarse *in utero* vía contaminación del líquido amniótico después del nacimiento prematuro, otras condiciones que la favorecen pueden ser los niños con inmadurez inmunológica y los niños hipogammaglobulinémicos quienes reciben terapia antimicrobiana, siendo así favorable el crecimiento de microorganismos tales como *U. urealyticum* y *Mycoplasma hominis*.

Horowitz <sup>(27)</sup>, hizo otro estudio con el propósito de determinar la colonización amniótica por *U. urealyticum*, el aislamiento del microorganismo de la superficie coriónica de la placenta se encuentra relacionado con la alta morbilidad y mortalidad en esta población en estudio.

Estudiando las consecuencias de la colonización por *U. urealyticum* en pacientes neonatales y la ruptura prolongada de membranas en la madre, Gauthier <sup>(18)</sup> practicó amniocentesis en 225 pacientes con 34 semanas completas de gestación y con ruptura de membranas; del líquido amniótico se aislaron bacterias aerobias, anaerobias, *Mycoplasma hominis* y *U. urealyticum*. En pacientes con aislamiento positivo sólo para *U. urealyticum*,

se encontró en 33 de ellas desarrollo de corioamnionitis clínica, aunque no hubo documentación de casos con sepsis neonatal.

Se realizó un estudio en 575 mujeres gestantes aparentemente normales y con membranas intactas, la colonización con *U. urealyticum* antes del nacimiento casi siempre es asintomática y se lleva a cabo en el corioamnion, siendo así un factor de riesgo en el desarrollo de endometritis en nacimientos post-cesárea. Se aislaron del corioamnion después del nacimiento por cesárea, bacterias aerobias y anaerobias, *Mycoplasma sp.*, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis*, provocando endometritis post-operatoria. Las mujeres con labor espontánea también pueden desarrollar endometritis, ésta ocurre en un 28% de mujeres con presencia de *U. urealyticum* en el corioamnion aún siendo el nacimiento por cesárea. Otras bacterias distintas a *U. urealyticum* se han presentado con un porcentaje del 8.8, comparadas con sólo el 8.4% de aislamiento positivo para aquel. La edad gestacional promedio con presencia de *U. urealyticum* fue de 34 semanas (3, 21).

#### Transmisión vertical de la infección

La transmisión vertical se encuentra en un rango del 29% al 55% en niños prematuros y del 18 al 55% en niños que llegan a su término (57). Otros autores (17), opinan que oscila del 45% al 66%, encontrándose una relación de la transmisión vertical con el incremento en la presencia de corioamnionitis.

La transmisión vertical no se ve afectada por el tiempo de exposición cuando existe ruptura de membranas, excepto en aquellos niños que nacen por vía vaginal, se ha visto que

madres que tienen más de una hora con rompimiento de membranas corren el riesgo de incrementar la transmisión vertical por *U. urealyticum* (2).

Syrogianopoulos (64), en otro estudio realizado, encontró niños colonizados con dicho microorganismo en garganta, ojos, y vagina; se colonizaron desde los 3 meses de edad y 14 de los niños observados desarrollaron infección en el tracto respiratorio bajo.

Sin embargo, el mismo autor dice que la ruptura de membranas fetales por 12 horas o más no se asocia con el incremento de la frecuencia de aislamiento de *U. urealyticum* en los recién nacidos.

Sánchez (57), localizó los primeros indicios de la transmisión vertical de *U. urealyticum* en dos grupos de niñas, el 3.8% en niñas colonizadas, contra 6% de niñas no colonizadas con *U. urealyticum*. Sin embargo, encontró que de un 80% de madres colonizadas con *U. urealyticum*, al nacer sus niñas fueron infectadas y a la semana de vida, presentaban la vagina colonizada con *U. urealyticum* observándose así una alta frecuencia de transmisión vertical, siendo todos partos normales. Sin embargo, 9 de 11 niñas que nacieron por operación cesárea y cuyas madres presentaron rompimiento de membranas, estaban colonizadas con *U. urealyticum*.

Tratándose de nacimientos por operación cesárea Syrogianopoulos (64), encontró que la colonización por *U. urealyticum* en niños ocurre con un alto índice de relación entre la colonización y el bajo peso al nacer.

O`Leary (44), encontró en pacientes embarazadas, anticuerpos que indican la presencia de *U. urealyticum* en cavidad amniótica. El estudio se realizó en mujeres de alto riesgo como son:

- 1) Mujeres (16 a 20 semanas) de embarazo a quienes se les practicó la amniocentesis transabdominal.
- 2) Mujeres admitidas con labor prematura.

Se encontraron anticuerpos contra *U. urealyticum* en el suero a través del método de ELISA.

La presencia de *U. urealyticum* en el líquido amniótico de los dos grupos fué de 2.9% y 4.3%, respectivamente; la presencia de anticuerpos contra *U. urealyticum* en las mismas pacientes, pero colonizadas, fue de 50% y 86% respectivamente. Las consecuencias que pueden presentarse en el embarazo cuando existe colonización del líquido amniótico son, partos prematuros, niños de bajo peso al nacer y muerte fetal, cuando es significativamente alto el porcentaje de la colonización en el líquido amniótico se presenta un 90% de nacimientos con muerte fetal o niños con bajo peso al nacer <sup>(44)</sup> .

Recientemente, se ha mencionado la relación existente entre la transmisión vertical y la infección por *U. urealyticum* durante la infancia temprana, observándose con cierta frecuencia la enfermedad del tracto respiratorio bajo durante los primeros meses de vida en niños que llegaron a término en el embarazo y que aparecieron colonizados en faringe con *U. urealyticum* <sup>(64)</sup> .

Otro posible mecanismo de entrada para el microorganismo puede ser la hemorragia intraventricular, que puede llegar hasta el líquido cefalorraquídeo y, por tanto, tendría que estar el microorganismo en la circulación del niño, aunque esto aún no se ha demostrado <sup>(23)</sup> .

El microorganismo puede ser transmitido de una madre colonizada a su hijo por cualquiera de las siguientes tres vías:

- 1) *In utero* por cualquiera de las dos rutas, transplacentariamente pasa la sangre de la madre al feto, o por la ruta ascendente secundaria a la colonización del tracto urogenital de la madre.
- 2) A la hora del nacimiento, en el paso a través del canal del parto que se encuentra colonizado con *U. urealyticum*.
- 3) Postnatalmente por transmisión horizontal <sup>(57, 59)</sup> .

Tocante a la recolección de muestras, el aislamiento de *U. urealyticum* se obtuvo inmediatamente después del nacimiento, hubo exclusiones en algunos casos por muerte temprana, o mal transporte de muestras del paciente postnatal, las muestras de *U. urealyticum* no se colectaron en las primeras cuatro horas de vida, sino durante el primer día o en los primeros días de vida, pudiendo subestimar el papel de este microorganismo en la morbilidad aguda <sup>(51)</sup> .

O`Leary <sup>(44)</sup> , investigó las evidencias existentes encontradas a través de serología, como es la presencia de anticuerpos en mujeres con abortos espontáneos. Sin embargo, los ureaplasmas se han aislado del líquido cerebro espinal de niños prematuros padeciendo meningitis, sugiriendo que este microorganismo es capaz de producir este tipo de infecciones además de los problemas respiratorios. Aparentemente, la colonización del pulmón en un niño puede ocurrir de dos maneras, *in utero* o durante el nacimiento. Cualquiera de las formas de infección se ve reflejada en el título de anticuerpos tanto entre

las muestras de la madre , como en muestras sanguíneas del niño. El que un feto se infecte al nacer, se ha visto que depende aparentemente del título de anticuerpos que se encuentren en el momento del alumbramiento.

Recientemente se intentó correlacionar los serotipos de *U. urealyticum* con mujeres asintomáticas y con aquellas que han tenido complicaciones durante el parto, encontrando que en las segundas puede estar asociado a los serotipos 4 y 8, pero las condiciones definitivas no se han establecido (75) .

Como clínicamente no existen evidencias de infección por *U. urealyticum* que puedan ser comprobables rápidamente, los médicos no actúan de inmediato, poniendo en riesgo la vida de sus pacientes pediátricos.

## Neumonía

El factor predisponente que más presentan los niños, son las enfermedades respiratorias que no muestran un diagnóstico microbiológico preciso, sobre todo si existe un sinergismo con otros microorganismos o virus (17) .

Las lesiones pulmonares consisten principalmente en la acumulación intraalveolar de leucocitos polimorfonucleares con macrófagos anclados o en mezcla con células mononucleares. Gail (17) especuló sobre la presencia de membranas hialinas en asociación con un exudado inflamatorio que puede relacionarse con la interferencia de otro microorganismo que actúe con *U. urealyticum*.

El neonato prematuro es más susceptible a desarrollar neumonía, sin embargo los niños sanos y no prematuros no están exentos de presentar la enfermedad.

Reportes de casos individuales han sugerido que *U. urealyticum* puede causar neumonía en recién nacidos, de cualquier modo no existen estudios previos asociados con la presencia de fallo respiratorio agudo <sup>(46)</sup>.

En el caso de un neonato con bajo peso al nacer colonizado con *U. urealyticum*, se presentó un estado de inmunodeficiencia, que le originó neumonía además de deficiencia de vitamina E <sup>(17)</sup>, encontrándose una relación entre la inhibición del metabolismo entre la respuesta de anticuerpos contra *U. urealyticum* y la enfermedad respiratoria en niños recién nacidos. Gail descubrió un caso de neumonía ureaplásmica fatal en un neonato, asociado con un elevado título de anticuerpos contra *U. urealyticum* del serotipo 8 (el mismo serotipo aislado de pulmones), esta localización estuvo acompañada de lesiones inflamatorias en el pulmón, implicando al microorganismo como un agente causal de infección, al parecer, adquirida *in utero*. Se intentó localizar ureaplasmas en lesiones de pulmón en un caso de neumonía intrauterina fatal, usando inmunofluorescencia para el diagnóstico a lo largo del tejido. También puede ocurrir rinitis y otitis aunque con menor frecuencia que la neumonía. Los microorganismos se localizaron por inmunofluorescencia en alvéolos con áreas de inflamación.

El aislamiento de un microorganismo de las vías respiratorias altas frecuentemente no predice su presencia en el pulmón.

## Sistema nervioso central

Los neonatos, particularmente quienes nacen prematuros, adquieren infecciones *in utero* a la hora del parto por microorganismos potencialmente patógenos, incrementando el riesgo de infección diseminada.

La incidencia de meningitis bacteriana se agudiza durante el período neonatal más que ningún otro período de la vida. Aproximadamente, en 2 terceras partes de todos los niños con meningitis se ha encontrado al microorganismo en sangre, antes de que se aísle del líquido cerebro espinal. Los factores de riesgo en las manifestaciones clínicas de infecciones por *U. urealyticum* en el sistema nervioso central en niños recién nacidos no se han determinado, aunque contrariamente a lo que se pensaba, estas infecciones son de lo más común <sup>(71)</sup> .

*Ureaplasma urealyticum* se ha aislado del líquido cefalorraquídeo de niños con hemorragia intraventricular y en algunos niños con hidrocefalia. Existen evidencias que indican la presencia de infecciones ureaplásmicas en el tracto respiratorio bajo, algunos presentan neumonía clínica con derrame pleural, de donde se ha aislado *U. urealyticum*, sugiriendo así que su presencia en el tracto respiratorio es el inicio de infecciones en el sistema nervioso central. Este microorganismo se aisló de seis niñas con hidrocefalia, también se aisló del tracto respiratorio de 4 de 8 niñas con infección en el líquido cefalorraquídeo. Existe el caso de un niño con neumonía clínica y derrames pleurales de donde también se aisló el microorganismo <sup>(17)</sup>. Se ha descrito a los niños ya sea con infección subclínica o con la enfermedad moderada con un completo restablecimiento. Se

ha documentado bien el decremento en la hidrocefalia presente en niños prematuros con infección en el sistema nervioso central causada por *U. urealyticum* al darse tratamientos con antibióticos (11).

Walters (11), en sus estudios, observó la contaminación del líquido cefalorraquídeo con microorganismos provenientes de la piel, otra causa de contaminación es debido a un mal manejo en la manipulación de la muestra dentro del laboratorio, en estos casos se ha identificado a *U. urealyticum* como contaminante.

La mitad de los niños afectados por *U. urealyticum* murieron al identificar la infección en el líquido cefalorraquídeo (11).

#### Sepsis neonatal

Esencialmente, *U. urealyticum* puede establecerse *in utero*, incluyendo la circulación sanguínea, a través de la infección ascendente del líquido amniótico. Se han cuestionado los exámenes realizados a niños fallecidos y a fetos en los que se piensa que *U. urealyticum* pudo haberlos colonizado antes de su muerte.

El aislamiento del microorganismo del pulmón puede nada más representar la aspiración del fluido amniótico infectado, pero el aislamiento a partir de cerebro, corazón y/o vísceras, representa diseminación hematogena fetal (11).

El factor que se encuentra más asociado con sepsis en el neonato es el peso bajo al nacer. Otros factores que se incluyen son ruptura prolongada de membranas, nacimiento traumático, infección materna, corioamnionitis o hipoxia fetal. Alternativamente, el feto puede adquirir a los microorganismos *in utero* a través del líquido amniótico infectado por

la placenta. Las infecciones placentarias comprometen la zona umbilical como si fuera el reservorio de donde se disemina la infección al feto, aunque puede presentarse aspiración de los microorganismos en los pulmones causando neumonitis y septicemia a partir del tracto respiratorio.

Gail <sup>(17)</sup> aisló *U. urealyticum* de sangre de 19 de 34 niños prematuros con aspirados endotraqueales positivos para dicho microorganismo, encontrando que el 26% tenían en sangre al microorganismo, también lo aisló de sangre del cordón umbilical.

Los resultados sugieren que la septicemia es más común en niños prematuros y puede acompañarse de neumonía.

Hasta la fecha no se ha reportado infección por micoplasmas intrahospitalarios, la colonización en infantes disminuye después de los 3 meses de edad, aunque en los niños prematuros se ha encontrado al microorganismo en el tracto respiratorio durante muchos meses.

Como se había mencionando anteriormente, el factor más significativo asociado con infección micoplásmica circulatoria en el neonato es el bajo peso al nacer, niños prematuros con pesos menores o iguales a 2.5 Kg son los más propensos de desarrollar la infección. Las variables que predisponen a las infecciones maternas o fetales/neonatales, pueden verse en la Tabla 5 <sup>(71)</sup>

La bacteremia causada por ureaplasmas no se ha dado en niños fuera del período perinatal. En las infecciones subclínicas causadas por *U. urealyticum* comúnmente éstos se aíslan de las superficies mucosas en las mujeres y pueden transmitirse tanto a su pareja como al feto <sup>(71)</sup>.

Tabla 5. Condiciones que pueden incrementar el riesgo de infección sistémica en el feto y neonato

---

Factores maternos

- Nivel socioeconómico bajo
- Infección en el tracto urinario
- Ruptura prolongada de membranas o prematuros
- Corioamnionitis
- Labor prematura

Factores fetales/neonatales

- Bajo peso al nacer
  - Sexo masculino
  - Anormalidades congénitas. Ejem: meningomielocèle
  - Asfisia perinatal (cuenta de Apgar menor de 6 y 5 min.)
- 

Infección en el tracto genital femenino.

Los ureaplasmas se han involucrado en infecciones ascendentes del tracto genital femenino, se sabe desde hace más de medio siglo que los ureaplasmas han causado abscesos en las glándulas de Bartholin.

Los ureaplasmas causan una gran variedad de infecciones progresivas en el tracto genital femenino, que comienzan como vaginitis y pasan a cervicitis, a endometritis, a salpingitis y a ooforitis.

Como siempre la pregunta es, si los ureaplasmas son o no patógenos en el tracto genital femenino, aunque aparentemente las mujeres no presentan síntomas (19).

No obstante, O'Leary y asociados <sup>(44)</sup>, concluyeron que los ureaplasmas no pueden pasar como un inofensivo comensal en el tracto genital femenino.

Aprovechando que se han revisado y discutido los pros y los contras de este microorganismo, los consensos parecen inclinarse a que los ureaplasmas son patógenos no tan importantes; sin embargo, por la patología que presenta debe considerarse para el diagnóstico de laboratorio. Hay evidencias donde la terapia apropiada para eliminar ureaplasmas puede también eliminar cualquier otra infección.

Los ureaplasmas se han asociado con abscesos de tubo ovárico y salpingitis, endometritis, adherencias pélvicas y endometriosis en donde ésta requiere de operación cesárea <sup>(4)</sup>.

Como una de las condiciones de la presencia del microorganismo la inflamación se agudiza. Se considera menos agresivo que otros microorganismos, pero no deja de ser un peligro potencial que involucra tanto a sexo femenino como a masculino y que, además, tienen interferencias en la reproducción. Hay evidencias de que los ureaplasmas afectan la reproducción con más frecuencia en mujeres que en hombres <sup>(44)</sup>.

Algunas cepas de ureaplasmas pueden causar interfertilidad en mujeres, uno de los causantes de este problema puede ser la inseminación artificial, en donde los donadores de espermas estén infectados con ureaplasmas.

El serotipo 4 ureaplásmico se ha reportado como el más común en el cérvix de mujeres con enfermedad pélvica inflamatoria <sup>(71)</sup>.

## Tratamiento

La apreciación de *U. urealyticum* como patógeno humano y su documentación sobre la resistencia a antibióticos han tenido gran interés, presentándose distintas alternativas para pacientes infectados con este microorganismo <sup>(6, 70)</sup>.

Debido a que los ureaplasmas carecen de peptidoglicanos no se ven afectados por antibióticos betalactámicos, tampoco son susceptibles a sulfonamidas o trimetoprim porque no sintetizan ácido fólico. Sin embargo, son generalmente susceptibles a antibióticos que interfieran con la síntesis de proteínas tales como tetraciclinas y macrólidos <sup>(70)</sup>.

Comenzó a detectarse resistencia a tetraciclinas por parte *U. urealyticum* desde 1970, cuando se encontró aproximadamente en el 10% de cepas aisladas de hombres con uretritis <sup>(72)</sup>. Waites publicó los primeros reportes de la resistencia a tetraciclina por *U. urealyticum*. Cuatro años más tarde se reportó la resistencia en un 42%. También demostró que las cepas resistentes con secuencia de ADN homólogas al determinante estreptocócico *tetM*, media la resistencia a nivel ribosomal en la síntesis de proteínas.

La mayoría de los estudios *in vitro* apoyan la selección de la eritromicina como el antibiótico de elección para infecciones pediátricas causadas por ureaplasmas en donde no se involucre al líquido cefalorraquídeo. Actualmente es uno de los pocos agentes antimicrobianos adecuados para el tratamiento de infecciones en mujeres embarazadas, además de utilizarse para el tratamiento en infantes excepto, como ya se mencionó, en el

caso del líquido cefalorraquídeo, para estos casos se recomienda el uso conjunto de tetraciclina/cloranfemicol (31, 72).

La susceptibilidad *in vitro* a eritromicina de 43 muestras aisladas del aparato respiratorio de neonatos se probó junto con otros cinco antibióticos a los cuales *U. urealyticum* presenta resistencia: gentamicina (58%), ciprofloxacina (64%) y clindamicina (53%), sólo una cepa (2%) fue resistente a cloramfenicol y tres (7%) fueron resistentes a doxiciclina. La concentración mínima inhibitoria de eritromicina fue de 0.125 a 4 µg/mL, con 19 cepas (44%) se consideró susceptible y con el resto de las cepas (56%) con susceptibilidad media. Tabla 6 (70).

Tabla 6. Susceptibilidad a seis antibióticos para cepas de *U. urealyticum*, aislados del tracto respiratorio bajo en niños recién nacidos.

Antibiótico	Rango	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>90</sub>	Susceptible
Cloramfenicol	0.125-128	2	8	94%
Ciprofloxacina	1-16	4	8	10%
Clindamicina	0.125-64	4	16	21%
Eritromicina	0.125-4	1	2	44%
Doxiciclina	0.008-32	0.003	2	93%
Gentamicina	2-64	16	32	23%

Según los estudios de Eschenbach (15), se probó la susceptibilidad de la eritromicina con no muy buenos resultados. El tratamiento constó de seis semanas, 250mg cuatro veces al día, entre las 22 y 32 semanas de gestación, de donde concluyó que este antibiótico no está justificado para el tratamiento de *U. urealyticum* en el tracto genital bajo para prevenir parto prematuro (37).

Ya hace algunos años, Kenny <sup>(30)</sup> expuso a *U. urealyticum* a quinolonas como esparfloxacina y WIN 57273, en donde la concentración mínima inhibitoria para el 90% de susceptibilidad se observó con 0.25 mg/mL para WIN 57273 y 0.5 mg/mL para esparfloxacina; también probó ofloxacin 2mg/mL, sugiriendo que estas quinolonas pueden ser utilizadas para el tratamiento de dicho microorganismo.

Kenny <sup>(31)</sup>, en los dos últimos años, muestra que *U. urealyticum* es más susceptible a trovafloxacina, con un rango de susceptibilidad de 0.06 a 0.5 mg/mL comparado con 0.25 a 10 mg/mL de esparfloxacina y 1 a 4 mg/mL de ofloxacina, de aquí se observa a la trovafloxacina como la próxima promesa para infecciones genitales y respiratorias, pero esto depende de la toxicidad y farmacocinética.

Madoff y colaboradores <sup>(35)</sup>, probaron la actividad de aztreonam (AZT) contra 5 cepas coleccionadas, de *U. urealyticum*, en 3 de las cuales al exponerse a AZT no se observó susceptibilidad alguna.

La posibilidad encontrada para el fallo del tratamiento exitoso en infecciones genitales por *U. urealyticum* en adultos, se ha atribuido a la falta de actividad *in vivo* de la droga en secreciones vaginales a causa de posibles variaciones en el pH bajo que afecta su acción. Esto con base en pruebas de laboratorio en donde se varió el pH de 6.0 a 7.2-7.4 <sup>(35)</sup>.

Abele y colaboradores <sup>(1)</sup> encontraron que la doxiciclina a veces da resultado y otras veces no, debido a que no es el mismo serotipo de *U. urealyticum*. El serotipo 4 es sensible a doxiciclina y el serotipo 8 es resistente a doxiciclina, esta resistencia se observó en mujeres que han tomado antibióticos por infecciones recurrentes. Sin embargo, tanto la

claritromicina como la eritromicina presentaron un 100% de efectividad frente a *U. urealyticum*.

### CAPÍTULO III

#### DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Para el diagnóstico de laboratorio por la metodología tradicional, existen en el mercado como se mencionó en un capítulo anterior varios medios de cultivo, entre los utilizados se encuentra el U9 Medio de Shepard y Lunceford, el U9B que es el Medio de Shepard U9 adicionado de ácido clorhídrico, el Medio Taylor-Robinson, el U9 Medio de Howard, el Agar E modificado, el Caldo y Agar *Ureaplasma* y, por último, el Caldo E suplementado con urea, que hasta ahora han sido los que utilizan los laboratorios para la identificación de rutina sin embargo, la gran mayoría requiere como mínimo 8 días de incubación. Desde que se siembra en los medios de transporte o caldos para su desarrollo se observan diariamente durante 5 días y si existe un vire de color, entonces se procede a inocular en alguna de las placas incubándose y observándose durante 2 a 5 días más para que, en cuanto haya desarrollo, realizar la identificación de las colonias. Se confirma la presencia de *U. urealyticum* agregando una solución de urea al 1% y MnCl<sub>2</sub> al 0.8% en agua destilada sobre la superficie de la placa.

Estos métodos han sido los más utilizados debido a su bajo costo, sin embargo, para la identificación rápida, precisa y que requiera de rapidez por alguna emergencia no son muy útiles; los médicos tienen que actuar de inmediato sin esperar tantos días para tener el resultado de la identificación y posiblemente esto lleve a instituir un tratamiento que pueda no ser el adecuado, trayendo consecuencias inclusive mortales.

Debido a ello, es necesario implementar nuevas técnicas y procedimientos precisos para lograr su rápida y certera identificación. Actualmente, con el desarrollo de la Biología Molecular, se están empleando -aunque sólo en los laboratorios de los países desarrollados que cuentan con las facilidades- las técnicas que se mencionan a continuación.

#### Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Es una técnica que amplifica pequeños segmentos de moléculas de ADN (aproximadamente 100 - 500pb) <sup>(53)</sup>.

Una típica reacción de amplificación incluye:

- segmento de ADN.
- polimerasa (Taq polimerasa).
- dos oligonucleótidos como iniciadores
- desoxirribonucleótido
- amortiguador
- magnesio (MgCl<sub>2</sub>).
- aditivos opcionales.

Los componentes se mezclan y se colocan en un aparato automatizado de ciclos térmicos donde se efectúa la reacción a través de una serie de diferentes temperaturas, variando o no el total del tiempo. Esta serie de ajustes tanto a temperatura como a tiempo, se refieren a un solo ciclo de amplificación. Teóricamente en cada ciclo de la reacción se

duplica la secuencia que se necesita. Cada ciclo de amplificación consiste de varios pasos. Estos se optimizan para cada combinación de iniciadores.

El paso inicial de desnaturalización de ADN empieza a temperaturas altas de 95°C y puede ajustarse según reportes de 15 segundos a 2 minutos.

En el siguiente paso se reduce la temperatura aproximadamente entre 40 y 60°C, a esta temperatura hay asociación estable (alineación) de las cadenas de ADN separadas con los primers y la ADN polimerasa sirve como primer para síntesis de ADN, este paso es de aproximadamente 30 a 60 segundos.

Finalmente, la síntesis de un nuevo ADN empieza cuando la temperatura de la reacción aumenta para la optimización de la polimerasa termoestable que es de 74°C durante 1 a 2 minutos (extensión).

Con este paso se completa un ciclo y los próximos ciclos empiezan de nuevo con 95°C para desnaturalizar. Después de 20 a 40 ciclos de la amplificación del ácido nucleico, puede analizarse su secuencia, cuantificarla o usarla en otros procesos experimentales

Los productos de la PCR se pueden analizar por electroforesis en un gel de agarosa con bromuro de etidio, el corrimiento de las muestras se observa a través de UV.

Una modificación de la técnica de PCR es la RT-PCR que es la transcriptasa reversa en la reacción en cadena de la polimerasa (1, 7, 8, 20, 24, 35, 60, 65, 75). De ARNm más la enzima transcriptasa reversa se obtiene cADN (ADN complementario), en esta reacción se verifica si existe o no transcripción.

En este caso los reactivos necesarios incluyen:

-amortiguador de RT.

-desoxirribonucleótido

-MgCl<sub>2</sub>

-oligo dT.

-ARN sin inhibidor.

-ARNm problema.

-enzima RT.

-agua libre de nucleasas.

Se incubó 1 hora a 37°C.

Teng y colaboradores, para minimizar los riesgos de contaminación que se les presentaron en la PCR, posteriormente redujeron el volumen de la muestra problema, esto se dio únicamente en muestras que fueron tomadas del tracto urogenital. Además, recomendaron que cada muestra se hiciera por duplicado con diferente concentración o restando la concentración de la amplificación en la que no se obtuvo nada. De 293 muestras, 10 fueron positivas para *U. urealyticum* analizando por PCR y 4 fueron positivas por medio de cultivo, mostrando así que la PCR es más sensible que los medios de cultivos (40, 75).

### Inmunofluorescencia

La técnica de inmunofluorescencia desarrollada por Coons en 1942, es un procedimiento histoquímico para demostrar y localizar antígenos o anticuerpos en cortes de

tejido o en suspensiones celulares. Las inmunoglobulinas se acoplan a colorantes fluorescentes sin pérdida alguna en su actividad de anticuerpos; para ciertos propósitos se marca el antígeno de forma similar. La formación de complejos inmunes estables se hace visible en un microscopio para fluorescencia.

Los colorantes fluorescentes o fluorocromos son sustancias que se caracterizan por su capacidad de alcanzar niveles elevados pero inestables de energía, absorbiendo la luz a una cierta longitud de onda y emitiéndola inmediatamente a otra longitud de onda dentro del rango de luz visible.

El fluorocromo de uso más amplio es el isotiocianato de fluoresceína, que tiene un máximo de absorción entre 490 y 495 nm y emite su característico color verde a 517 nm. El isotiocianato de tetrametil rodamina muestra una fluorescencia rojo-anaranjada, es un colorante de contraste útil cuando se demuestran dos antígenos o dos anticuerpos en la misma preparación; tiene un máximo de absorción a 550 nm y un máximo de emisión a 580 nm.

El ácido dimetil-amino-naftalén-sulfónico (DANS) da una fluorescencia verde, pero se utiliza poco.

Los microscopios utilizados para visualizar una preparación por inmunofluorescencia son modificaciones simples del microscopio de luz transmitida que involucran una fuente de luz de alta intensidad, filtros de excitación o primarios, filtros de barrera o secundarios y condensador especial.

En 1970, Pelaez <sup>(49)</sup>, introdujo un sistema epiluminado que emplea un iluminador vertical y un espejo dicróico; en este sistema, la luz de excitación se enfoca directamente a

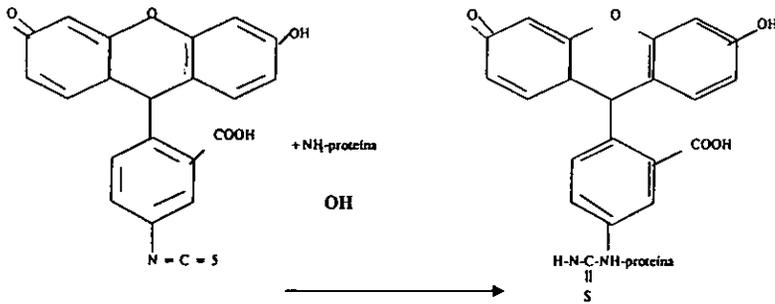
la preparación a través de la lente del objetivo, esto tiene varias ventajas ya que puede combinarse con luz transmitida para observación en contraste de fases.

Virtualmente, cualquier antígeno o anticuerpo puede detectarse por inmunofluorescencia. Los pasos involucrados son: preparación del suero inmune o gammaglobulina específicos, conjugación con el colorante fluorescente y, finalmente, el procedimiento de tinción.

Para la inmunofluorescencia son necesarios sueros heterólogos que contengan miligramos del anticuerpo por mililitros de suero, su potencia se valora por precipitación cuantitativa o por hemaglutinación pasiva. Debe asegurarse la especificidad a un nivel que excede el detectable en difusión doble o en técnicas inmunoelectroforéticas..

Es necesario obtener la fracción IgG del suero ya que la conjugación subsecuentemente debe limitarse al anticuerpo lo más posible, puesto que de este modo se incrementa la eficiencia del proceso de tinción y se evita la tinción no específica debida a proteínas conjugadas presentes en el suero.

En la conjugación con isotiocianato de fluoresceína o con tetrametil rodamina, el grupo isotiocianato se une a los grupos amino libres de la proteína en un pH alcalino, con la formación de una unión carbamido covalente.



El colorante que no ha reaccionado se elimina por filtración en gel o por diálisis exhaustiva: es necesario también separar la gamma-globulina fuertemente marcada en una columna de DEAE-celulosa. La sensibilidad de la fracción globulina conjugada a fluoresceína está en función del grado de marcado y de la concentración del anticuerpo marcado. En la práctica, casi todo el trabajo se realiza con conjugados para coloración inmunofluorescente indirecta y para algunos sistemas de coloración directa, como los que se utilizan para la detección de bacterias y para inmunofluorescencia de membrana.

Si se establece la cantidad de anticuerpos por mililitros de suero, el conjugado puede diluirse a concentraciones que se sabe se requieren para reaccionar satisfactoriamente con la coloración inmunofluorescente.

En condiciones óptimas se obtienen conjugados que contienen aproximadamente 30% de anticuerpos; en este caso, la tinción no específica depende de la concentración del fluorocromo en las diluciones correspondientes que contienen la concentración deseada de anticuerpos, ya que los conjugados están cargados negativamente y tienden a unirse de forma no específica con componentes cargados positivamente.

Los conjugados liofilizados pueden guardarse a 25°C sin una pérdida significativa del título; sin embargo, se recomienda la temperatura de 4°C. Los conjugados en estado líquido deben guardarse entre 4 y 20°C.

En la práctica, es importante caracterizar a un conjugado en cuanto a:

- Asegurar la especificidad a un nivel que exceda el detectable en difusión doble ordinaria o con técnicas inmunoelectroforéticas.
- Establecer la dilución óptima para un conjugado en un sistema antígeno-anticuerpo específico.

Además, ya que existen muchas variables que determinan la obtención de un resultado positivo y negativo, al realizar la prueba deben incluirse controles adecuados. En la interpretación de la microscopía de fluorescencia se necesita cierta precaución, debiendo darse como positivas sólo aquellas muestras que presentan una fluorescencia definida y una morfología similar a la del control.

Otro problema que se presenta en la inmunofluorescencia es la tinción no específica, debida a ciertas cepas de *S. aureus*, que ocurre porque la porción Fc, de las inmunoglobulinas se une inespecíficamente a la proteína A presente en estos microorganismos. Esto puede evitarse añadiendo suero normal al conjugado, haciendo una digestión de la inmunoglobulina con pepsina para remover el fragmento Fc o agregando el conjugado con rodamina de una inmunoglobulina dirigida contra *S. aureus*.

La tinción por inmunofluorescencia puede realizarse de diversas formas, de las cuales las más comunes son, la técnica directa en la que el suero específico conjugado se agrega directamente a la preparación y la técnica indirecta, que la utilizaron por primera vez Weller

y Coons en la que se hace reaccionar el anticuerpo específico no marcado, con el antígeno y después se adiciona la anti-globulina específica marcada. El método indirecto, en general, se utiliza para detectar anticuerpos dirigidos frente a microorganismos específicos.

Naessens modificó la técnica de inmunofluorescencia indirecta, pensando en la posibilidad de diluir el suero antiespecífico y detectar serotipos en una mezcla de los mismos, esta última se detectó fácilmente <sup>(39)</sup>.

## ELISA.

Las técnicas inmunoenzimáticas se fundamentan en el uso de reactivos inmunológicos, como antígenos o anticuerpos los cuales se encuentran marcados con una enzima (conjugado). La enzima actúa sobre su substrato y como resultado de esta interacción se forma un producto fácilmente medible espectrofotométricamente, lo que demuestra de manera indirecta la presencia del anticuerpo o del antígeno, respectivamente.

Las principales ventajas del uso de los marcadores enzimáticos son: 1) sensibilidad elevada debido al efecto amplificador de la enzima; 2) tiempo de vida media prolongado; 3) ausencia de riesgos en su manejo cuando se compara con el uso de marcadores radiactivos.

Las técnicas inmunoenzimáticas se agrupan de manera general en ensayos homogéneos y heterogéneos. Los primeros se realizan en una sola fase y no requieren etapas de separación, mientras que en los heterogéneos son necesarios varios lavados para separar los reactivos unidos de los libres.

La técnica de ELISA pertenece a los ensayos heterogéneos donde se emplean tanto reactivos unidos a una fase sólida como reactivos libres en solución, los que al ponerse en contacto llevan a cabo la reacción antígeno-anticuerpo que puede identificarse de diversas maneras a través de una serie de lavados imprescindibles para separar el material combinado (Ag/Ac) del libre <sup>(34)</sup>.

El antígeno o el anticuerpo pueden unirse a la fase sólida, las más frecuentemente utilizadas pueden ser de forma variada como son pequeños tubos, placas de 96 pozos, o perlas con diversos diámetros.

Técnica completa de ELISA y reactivos:

-microorganismos: *U. urealyticum* serotipo 7 .

-suero de conejo: obtenido por inmunización de un conejo por inyección subcutánea de 1 mL de microorganismos totales lavados y suspendidos en adyuvante de Freud completo; durante 15 días se inoculan 0.25 mg en 0.5 mL de solución acuosa. Se sangra el conejo a los 25 días y se hace un ELISA.

-Preparación del antígeno de células totales: La suspensión de la cepa de *U. urealyticum* (5 mL) se inocula en 30 mL de medio líquido de Shepard Modificado U9 conteniendo 5% de suero de caballo. Después de la incubación durante la primera noche a 37°C, se le adiciona a 3 litros del mismo medio de crecimiento y se incuba durante 18 a 20 horas. Los microorganismos se centrifugan a 48,000 x g durante 40 minutos a 4°C. El sedimento de células se lava 3 veces con amortiguador salino de fosfatos (PBS) con pH 7.3. El sedimento de células finalmente se suspende en PBS (1mg/mL) y se usa para la inmunización del conejo.

-Preparación del antígeno de membrana: las células de *U. urealyticum* se obtienen como en el procedimiento anterior, pero se sustituye el suero de caballo por el suero fetal de ternera. 5 mL de estas células se suspenden en 50/mL de amortiguador carbonato-bicarbonato en un rango de pH entre 8 y 12. La separación de fracciones de membranas citoplásmicas se lleva a cabo por centrifugación a 100,000 x g por 2 horas, se lavan 3 veces con PBS y se suspenden en PBS (pH 7.2) para su uso en ELISA. El contenido de proteína del lisado se puede determinar por el método de Markwell y todos los antígenos se almacenan en alícuotas de -70°C. La lisis de las células se realiza en amortiguador carbonato-bicarbonato a pH 10.5.

-Suero humano: el control positivo se prepara con una mezcla de sueros de individuos de quienes se sepa que sean positivos para *U. urealyticum* sin ningún otro microorganismo. El control negativo se obtiene de individuos sanos.

-Técnica de ELISA: se determina la concentración y el tiempo de incubación del antígeno, conjugado y suero humano y de conejo. La membrana y el antígeno control se diluyen con amortiguador de carbonato-bicarbonato 0.1 M con pH 9.6, se adiciona en cada pozo de la placa de microtitulación. La placa se incuba toda la noche a 37°C y posteriormente se lava tres veces con PBS conteniendo Tween 20 y albúmina sérica bovina (PBS-TB).

El suero de conejo se diluye con PBS-TB, se añade a todos los pozos y se incuba a temperatura de 37°C por 90 minutos. Las placas se lavan como se mencionó antes y se incuban a 37°C durante 60 minutos ahora con fosfatasa alcalina marcada con antiinmunoglobulina de conejo en cada pozo. El sustrato de la enzima consiste en

paranitrofenol fosfato, disuelto en amortiguador de dietanolamina pH 10. Las placas se lavan tres veces y se le adiciona la solución sustrato para cada pozo a 37°C y se guarda en papel aluminio durante 50 minutos. La reacción se detiene por adición de NaOH 0.1N y se lee a absorbancia de 460 en el espectrofotómetro.

El suero humano se diluye 1/100 y con la fosfatasa alcalina marcada con IgM o IgG antihumano, se diluye 1/70 y 1/60 respectivamente con PBS-TB a 37°C.

Por otra parte, Lee A. <sup>(34)</sup> demostró que el anticuerpo IgG de *U. urealyticum* en suero detectado por ELISA con antígeno de membrana, es sensible y proporciona un significado adicional para el diagnóstico y evaluación de *U. urealyticum* en mujeres embarazadas. Tal vez la deficiencia más obvia del método de ELISA sea la incapacidad de detectar respuestas de serotipos específicos. Una vez que el serotipo específico se defina, la purificación del antígeno será ideal para el uso del método.

## CONCLUSIONES

Los ureaplasmas son probablemente patógenos primarios importantes, pero ha sido difícil demostrarlo hasta la fecha, por existir una alta prevalencia de colonización sin síntomas clínicos.

Existe un antígeno común que permite identificar los 14 serotipos de *U. urealyticum*. Es necesario profundizar sobre los reconocidos como patógenos para el humano y saber si existen algunos otros.

*Ureaplasma urealyticum* se ha aislado durante el embarazo entre el 39% y el 98% pudiendo ocasionar infección del líquido amniótico, corioamnionitis comprometiendo la placenta y diseminándose al feto.

Factores importantes asociados al daño que se presenta en los neonatos son el bajo peso al nacer, la ruptura de membranas por más de una hora y el ser prematuros.

En tracto respiratorio bajo, 24 a 72 horas después del parto puede producir en el neonato enfermedad crónica del pulmón así como neumonía. Ambas pueden ser el inicio de la infección en el Sistema Nervioso Central.

En adultos también puede afectar ocasionando uretritis inespecíficas, en la mitad de los casos presentados puede derivar a infertilidad, sobre todo en mujeres.

*Ureaplasma urealyticum* es generalmente susceptible a antibióticos que interfieren con la síntesis de proteínas, siendo así la entromicina, el de elección para pediatría. Evidencias sugieren a las quinolonas como una buena alternativa.

Con respecto al diagnóstico de laboratorio de *Ureaplasma urealyticum*, el análisis bacteriológico no es hasta ahora un buen método, pues requiere como mínimo de 8 días.

Con respecto al diagnóstico de laboratorio de *Ureaplasma urealyticum*, el análisis bacteriológico no es hasta ahora un buen método, pues requiere como mínimo de 8 días.

Dentro de las técnicas recientes se encuentra la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite identificar al microorganismo con mayor sensibilidad y rapidez; sin embargo, este método es costoso y todavía no accesible en forma rutinaria.

También pueden buscarse anticuerpos en suero humano (sobre todo de mujeres embarazadas) para que reaccionen con los antígenos adecuados o serotipos específicos. Para la búsqueda se emplean las técnicas de inmunofluorescencia indirecta y de ELISA, ambas rápidas y no tan costosas como la PCR; sin embargo, no existe mucha especificidad con el serotipo presente.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Abele, H. M., Wolf, C., Dressel, P., Pfaff, F., Zimmermann, A. "Association of *Ureaplasma urealyticum* biovar with clinical outcome for neonates, obstetric patients, and gynaecological patients with pelvic inflammatory disease". J. Clin. Microbiol. 35(5): 1199-1202 (1997).
2. Alfa, M. J., Embree, J. C., Degagne, P., Olson, N., Leitzman, J., Macdonald, N., Hall, P.F. "Transmission of *Ureaplasma urealyticum* from mother to full and preterm infants". Pediatr. Infect. Dis. J. 14 (5):341-345 (1995).
3. Andrews, W. W., Sahah, S. R., Goldenberg, R. C. "Association of post cesarean delivery endometritis with colonization of the choriosmion by *Ureaplasma urealyticum*". Obstetr. Gynecol. 85 (4): 509-514. (1995).
4. Alzahawi, K., Sprott, M.S., Kearns, A. M. "A study of three blood culture media for isolating genital micoplasmas from obstetrical and gynaecological patients". J. Infect. 21(2): 143-150 (1990).
5. Scott's B., Finegold, S. M., Baron, E.J.  
DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY.  
Seventh Edition.  
The C.V. Mosby Company.  
St. Louis-Toronto-Princeton (1986).
6. Bauriand, R., Seror, C., Lareng, M. B., Lefevre, J. C. "Sensibilité *in vitro* aux antibiotiques des mycoplasmas genitiaux isolés á toulouse étude de nouvelles molécules". Patholog. Biolog. 40 (5): 479-482-(1992).
7. Blanchard, A., Crabb, D. M., Dybvig, K. and Cassell, G. H. "Rapid detection of *tetM* in *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* by PCR". FEMS Microbiol. Let. 74 (2-3): 277-281 (1992).
8. Brogan, J. M., Acciai, J., Gallia, G. L., MacCleskey, F. K., Delvecchio, V. "Development of a DNA probe for *Ureaplasma urealyticum*". Mol. Cell. Prob. 6(5): 411-416 (1992).
9. Broitman, N. L., Floyd, C. M., Johnson, C. A., Peterson, E. M. "Comparison of commercially available media for detection and isolation of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*". J. Clin. Microbiol. 3(5): 1335-1337 (1992).

10. Cheng, X., Nessens, A., Lauwers, S. "Identification of serotype 1-, 3-, and 6- specific antigens of *Ureaplasma urealyticum* by using monoclonal antibodies". J. Clin. Microbiol. 32(4): 1060-1062 (1994).
11. Choudhury, M. R., Mathai, E., Sridharan, G., Jasper, M. F. "Prevalence of genital micoplasmas and ureaplasma infections in pregnant and their effect on pregnancy outcome". Ind. M. Med. Res. 100:8-15 (1994).
12. Cimino, C. Borroso, A. R., Napoli, P. "Evaluation of the importance of *Chlamydia t.* and/or *Mycoplasma h.* and/or *Ureaplasma u.* genital infection and of antisperm antibodies in couples affected by moco-semen incompatibility and in couples with unexplained infertility". Act. Eur. Fert. 24 (1): 7-13 (1993).
13. De Silva, N. S., Quinn, P. A. " Localization of endogenous activity of phospholipases A and C in *Ureaplasma urealyticum* ". J. Clin. Microbiol. 29(7)- 1498-1503 (1991).
14. Dewan, B., Sharma, M., Nayak, N., Sharmask, "Upper urinary tract stones and *Ureaplasma urealyticum*". Ind. J. Med Res. 105: 15-21 (1997).
15. Eschenbach, D. A., Nugent, R. P., Rao, A. U., Cothh, M. F., Gibbs R.S. Lipscomb, K. A., Martin, D. H., Pastorek, J. G. "A randomized placebo-control ledtrial of erithromycin for the treatment of *Ureaplasma urealyticum* to prevent premature delivery". Am. J. Obstet Gynecol. 164: 734-742 (1991).
16. Forgacs, P., Kundsins, R. B., Steven, W., Silverman, W., Perkins, N. "A case of *Ureaplasma urealyticum* septic arthritis in a patient with hipogammaglobulinemia". Clin. Infect. Dis. 16 (2): 293-294 (1993).
17. Gail, H., Cassell, P., Waites, M. D. "Perinatal mycoplasmal infections". Clin. Perinatol. 18 (2): 241-262 (1991)
18. Gauthier, D. W., Meyer, W. J., Bienlarz, A. "Expectant management of premature rupture of membranes with amniotic fluid cultures positive for *Ureaplasma urealyticum* alone". Am. J. Obstetr. Gynaecol. 170- (2):587-590 (1994).
19. Gil, J. C., Calderon, B. A., Montero, J., Yañez, A. y Cedillo L. "Detection of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in women sexually active or not". Rev. Lat. Amer. Microbiol. 38:81-98 (1996).
20. González, P. A., Ortiz, Z., Inzunza, M. A., Ponce, R. E. "Frecuencia de aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en una población abierta del sur de la ciudad de México". Rev. Lat. Amer. Microbiol. 37: 79-86 (1995).

21. Gray, J. D., Robinson, H. B., Malones, J., Thomson, R. Jr. "Adverse outcome in pregnancy following amniotic fluid isolation of *Ureaplasma urealyticum*". *Prenat. Diagnost.* 12(2): 111-117 (1992).
22. Guibert, M., Lebrun, L., Magny, L. F., Coopn, E., Maneville, M. M., Vial, M. "Intéret et limites de la recherche de *Mycoplasma hominis* et *Ureapalsma urealyticum* dans le liquide gastrique des nouveau-nés". *Ann Pédiat.* 38(9): 627-629 (1991).
23. Hentschel, M., Abele, H., Peters, J. "*Ureaplasma urealyticum* in the cerebrospinal fluid of a premature infant". *Act. Pediat.* 82(8): 690-693 (1993).
24. Horowitz, S., Gal, H. "Isolation and purification of viable *Ureaplasma urealyticum* cells free from medium components". *J. Gen. Microbiol.* 137 (Pt5): 1087-1092 (1991).
25. Horowitz, S., Horowitz, J., Mazor, M., Porath, A. "*Ureaplasma urealyticum* cervical colonization as a marker for pregnancy complications". *Int. J. Gynaecol. Obstetr.* 48 (1): 9-15(1995)
26. Horowitz, S., Mazor, M., Horowitz, J., Porath, A "Antibodies to *Ureaplasma urealyticum* in women with intramniotic infection and adverse pregnancy outcome". *Act. Obstetr. Gynaecol. Scan.* 74 (2): 132-136 (1995).
27. Horowitz, S., Mazor, M., Romero, R., Horowitz, L., Glezarmen, M. "Infection of the amniotic cavity with *Ureaplasma urealyticum* in the midtrimester of pregnancy". *J. Rep. Med.* 40 (5): 375-379 (1995).
28. Jene-Lee, T., Zheng, Z., Glas, L., Watson, H. L., Tsai, J., Cassell, G. H. "*Ureaplasma urealyticum* biovar specificity and diversity are encoded in multiple banded antigen gene". *J. Clin. Microbiol.* 32(6): 1464-1469 (1996).
29. Jonhson, B., Karell, A. C., Ringertz, S., Rylander, M. "Neonatal *Ureaplasma urealyticum* colonization and chronic lung disease". *Act. Pediatr.* 83(9):927-930 (1994).
30. Kenny, G. E, Cartwright, F. D. "Susceptibilities of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* to two new quinolones, Sparfloxacin and WIN 57273". *Antimicrob. Agent. Chemother.* 35(7):1515-1516 (1991).
31. Kenny, G. E., Cartwright, F. D. "Susceptibilities of *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* to a new quinolone, Trovafloxacin". *Antimicrob. Agent. Chemother.* 40(4): 1048-1049 (1996).
32. Keski, N. L., Kirkinen, P., Katila, M. L., Ollikainen, M., Saarikuadi, S. "Cesarean delivery microbial colonization in amniotic fluid". *J. Reprod. Med.* 42 (2): 91-98 (1997).

33. Kieg, N.R., Holt, J.G.  
BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY  
VOL. 1.  
Williams & Williams  
Baltimore. Philadelphia. Hong Kong. (1984).
34. Lee, A., Ramanujam, T. "Molecular diagnosis of *U. urealyticum* septic arthritis in a patient with hipogammaglobulinemia". *Arthrit. Rheumat.* 35(4): 443-448 (1992).
35. Madoff, S., Ferraro, M. J., Merrill, P. "Lack of activity of zidovudine against *Ureaplasma*". *The Lancet.* 340 (8817): 484 (1992).
36. Martlov, A. G., Richardson, S. E., Quinn, P. A. "Isolation of *Ureaplasma urealyticum* from nonneonatal respiratory tract specimens in a pediatric institution". *Pediatr. Infect. Dis. J.* 15 (3): 272-274 (1996).
37. Mazor, M., Chaim, W., Horowitz, S., Leiberman, J. R. "Successful treatment of preterm labour by eradication of *Ureaplasma urealyticum* with erythromycin". *Arch. Gynaecol. Obstetric.* 253 (4): 208-215 (1993).
38. Meis, F. J., Kuppeveld, F., Kremer, J. A., Nijhuis, J. G., Melchers, W. "Fatal intrauterine infection associated with *Mycoplasma hominis*". *J. Clin. Infect. Dis.* 15 (4): 753-754 (1992).
39. Naessens, A., Lauwers, S. "Modified indirect immunofluorescence test for serotyping large numbers of *Ureaplasma urealyticum* clinical isolates". *J. Clin. Microbiol.* 25(1): 191-192 (1987).
40. Obsenberg, J. R., Panzara, M. A., Steinman, L. "The polymerase chain reaction and the analysis of T cell antigen receptor expression". *Med. Intellig. Unit.* 10: 160-226 (1994).
41. Onkawa, M., Yamaguchi, L., Tokunaga, S., Nakashima, T., Fujita, S. "*Ureaplasma urealyticum* in the urogenital tract of patients with chronic prostatitis or related symptomatology". *Br. J. Urol.* 72(6): 918-921 (1993).
42. Onkawa, M., Yamaguchi, L., Tokunaga, S., Nakashima, T., Shada, R. "Antimicrobial treatment for chronic prostatitis as a means of defining the role of *Ureaplasma urealyticum*". *Urol. Inter.* 51(3):129-132 (1993).
43. Ohlsson, A. Wang, E., Vearncombe, M. "Leukocyte counts and colonization with *Ureaplasma urealyticum* in preterm neonat". *Clin. Infect. Dis.* 17 suppl 1:s 144-147 (1993).

44. O'Leary, W. M. "*Ureaplasmas* and human disease". Crit. Rev. Microbiol. 17 (3): 161-168 (1990).
45. Ollikainen, J., Hiekkaniemi, H., Korppi, M., Katila, M. L., Heinonen, K. "Hidrops fetales associated with *Ureaplasma urealyticum*". Act. Pediatr. 81(10): 851-852 (1992).
46. Ollikainen, J., Hiekkaniemi, H., Korppi, M., Sarkkinen, H. "*Ureaplasma urealyticum* infection associated with acute respiratory insufficiency and death in premature infants". J. Pediatr. 112 : 756-760 (1993).
47. Panero, A., Pacifico, L., Rossi, N., Roggani, M., Chiesa, C. "*Ureaplasma urealyticum* as a cause of pneumonia in preterm infants: analysis of the white cell response". Arch. Dis. Chil. Fet. Neonat. 73(1): F37-40 (1995).
48. Payne, N. R., Steinberg, S., Ackerman, P., Chrenka, B. A., Sane, M., Anderson, K. T., Fangmen, J. M. "New prospective studies of the association of *Ureaplasma urealyticum* colonization and chronic lung disease". Clin. Infect. Dis. 17 suppl 1: s117-121 (1993).
49. Pelaez A. E. G.  
TECNICAS RAPIDAS EN LA IDENTIFICACION DE ANAEROBIOS  
PATOGENOS.  
UNAM., México D. F., 1986.
50. Pickering, W. J., Birch, D. F., Kincasis, S. P. "Biochemical and histologic findings in experimental pyelonephritis due to *Ureaplasma urealyticum*". Infect. Immun. 58 (10): 3401-3406 (1990).
51. Piagrau, C., Almirante, B., Gaser, I., Pahissa, A. "Sternotomy infection due to *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*". Eur J. Clin. Microbiol. Infect. Dis 14 (7): 597-598 (1995).
52. Quinn, A. P., Dunn, J., Bautany, M. "Serological response to *Ureaplasma urealyticum* in the neonate". Clin. Infect. Dis. 17 suppl 1: s136-143 (1993).
53. Robertson, J. A., Vekris, A., Bebear, C., Sgemke, G. W. L. "Polimerase chain reaction using 16s rRNA gene sequences distinguishes the two biovars of *Ureaplasma urealyticum*". J. Clin. Microbiol. 31(4): 824-830 (1993).
54. Roit, I. M., Delves, P. J.  
ENCYCLOPEDIA OF IMMUNOLOGY.  
Volumen 3.  
2nd. Edition.  
Academic Press. (1992).

55. Runge, M., Rykena, S., Wildhagen, K., Dieicher, H., Kirchoff, H. "Detection of *Ureaplasma urealyticum* in urine of patients with systemic lupus erythematosus and healthy individuals by culture and polymerase chain reaction". M. Med. Microbiol. 46(5): 408-413 (1997).
56. Saada, A. B., Terespolki, V., Amira, A., Itzhak, K. "Adherence of *Ureaplasma urealyticum* to human erythrocytes". Infect. Immun. 59 (1): 467-469 (1991).
57. Sanchez, J. P. "Perinatal transmission of *Ureaplasma urealyticum*. Current concepts based on review of the literature". Clin. Infect. Dis. 17 suppl 1: s107-111 (1993).
58. Saxen, H., Hakkareinen, K., Patijavuori, L., Miettinen F. "Chronic lung disease of preterm infants in Finland is not associated with *Ureaplasma urealyticum* colonization". Act. Pediatr. 82(2): 198-201 (1993).
59. Shulamith, H., Landau, D., Shinwell, E. S., Zamora, E. "Respiratory tract colonization with *Ureaplasma urealyticum* and bronchopulmonary dysplasia in neonates in southern Israel". Pediatr. Infect. Dis. J. 11(10): 847-851 (1992).
60. Scheyrlen, W., Frauendienst, G., Schord, L., Von St Stockhoausen. "Polimerase chain reaction amplification of urease genes: rapid screening for *Ureaplasma urealyticum* infection in endotracheal aspirates or ventilated newbornes". Eur. J. Pediatr. 151: 740-742 (1992).
61. Smith, D. A., Russell, W. C., Thirkell, D. "Adherence of *Ureaplasma urealyticum* to human epithelial cell". Microbiol. 140 : 2893-2898 (1994).
62. Smith, D., Rusell, W. C., Thirkell, D. " Urea hidrolisis dependent citrulline synthesis by *Ureaplasma urealyticum*" . FEMS Microbiol. Lett. 77 (1-3): 129-132 (1992).
63. Spooner, R. K. Russell, W. C., Thirkell, D. "Characterization of the immunoglobulin A protease of *Ureaplasma urealyticum*". Infect Immun. 60(6); 2544-2546 (1992).
64. Syrogiannopoulos, G. A., Zoumbos, K. K., Decavalas, G. M., Markantes, C. G., Katsarou, V. A. Beratis, N. G. "*Ureaplasma urealyticum* colonization of full term infants: perinatal acquisition and persistence during early infancy". Pediatr. Infect. Dis. J. 9 (4): 236-240 (1990).
65. Taylor, D., Robinson, J. A. "Infections due to species of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* an update". Clin. Infect. Dis. 23: 671-684 (1996).
66. Talkington, F. D., Davis, J. K., Kay, M. L., Conupp, P. C., Garret; M. A. "The effects of three serotypes of *Ureaplasma urealyticum* on spermatozoal motility and penetration *in vitro*". Fert. Steril. 55(1):170-176 (1991).

67. Teng, K., Li, M., Yu, M., Li, M., Shen, D., Liu, D. "Comparison of PCR with culture for detection of *Ureaplasma urealyticum* in clinical samples from patients with urogenital infections". J. Clin. Microbiol. 32 (9): 2232-2234 (1994).
68. Thirkell, K., Miles, A. D., Taylor-Robinson. "A comparison of four major antigens in five human and several animal strains of ureaplasma". J. Med. Microbiol. 32: 163-168 (1990).
69. Vern, L. K., Mangum, M. E., Hamrick, H. J. "*Ureaplasma urealyticum* abscess at site of an internal fetal heart rate monitor". Pediatr. Infect. Dis. J. 12(5): 410-411 (1993).
70. Waites, K. B., Crouse, D. Cassell, G. "Antibiotic susceptibilities and therapeutic options for *Ureaplasma urealyticum* infections in neonates". Pediatr. Infect. Dis. J. 11(1): 23-29 (1992).
71. Waites, K. B. Crouse, D. T., Cassell, G. H. "Systemic neonatal infection due to *Ureaplasma urealyticum* infections in neonates". Clin. Infect. Dis. 17 Suppl 1: s131-135 (1993).
72. Waites, K. T., Crouse, D. T., Cassell, G. H. "Therapeutic considerations for *Ureaplasma urealyticum* infections in neonates". Clin. Infect. Dis. 17 s208-214 (1993).
73. Waites, K. B., Crouse, T. D., Geertes, M. H., Shoup, R. E., Hamrick, E. B., Duffy, L. B., Cassell, G. H. "Serum concentration of erythromycin after intravenous infusion in preterm neonates treated for *Ureaplasma urealyticum* infection". Pediatr. Infect. Dis. J. 13 (4): 287-293 (1994).
74. Wang, E.E. L., Cassell, G. H., Sanchez, P. I., Reagan, J. A., Payne, N.R., Liu, P. P. "*Ureaplasma urealyticum* and chronic lung disease of prematurity: critical appraisal of the literature on causation". Clin. Infect. Dis. 17 suppl 1: s112-116 (1993).
75. Wang, E.E. L., Ohlsson, A. Kellner, J. D. "Association of *Ureaplasma urealyticum* colonization with chronic lung disease of prematurity: results of a metaanalysis". J. Pediatr. 127(4): 640-644 (1995).
76. Watson, H. L., Blalock, D. K., Cassell, D. H. "Variable antigens of *Ureaplasma urealyticum* containing both serovar-specific and serovar-cross-reactive-epitopes". Infect. Immun. 58(11): 3679-3688 (1990).
77. Wientzan, R. L. "Genital mycoplasmas and the pediatrician". Pediatr. Infect. Dis. J. 9(4): 232-235 (1990).
78. Wilczewki, M. D "Clinical significance of *Ureaplasma* infection in preterm neonates". J. Pediatr. 124 (5 Pt 1): 829-830 (1994).

79. Willoughby, J. J., Russull, W. C., Thirkell, D., Burdon, M. G. "Isolation and detection of urease genes in *Ureaplasma urealyticum*". *Infect. Immun.* 59(7): 2463-2469 (1991).
80. Xiaoxing, C., Naseens, A., Kaumers, S. "Identification and characterization of serotype 4-specific antigens of *Ureaplasma urealyticum* by use of monoclonal antibodies". *Infect. Immun.* 61(5): 2253-2256 (1993).
81. Zheng, X., Teng, I., Watson, H., Glass, J., Blanchard, A., Cassell, G. "Small repeating within the *Ureaplasma urealyticum* MB antigen gene encode serovar specificity and are associated with antigen size variation". *Infect. Immun.* 63(3): 891-898 (1995).
82. Zheng, X., Watson, H., Waites, K., Cassell, G. "Serotype diversity and antigen variation among invasive isolates of *Ureaplasma urealyticum* from neonates". *Infect. Immun.* 60(8): 3472-3474 (1992).