



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
"IZTACALA"**

**"IDENTIFICACION DE *Mycoplasma hominis* y
Ureaplasma urealyticum EN ENDOMETRIO Y
SALPINGES EN MUJERES CON ESTERILIDAD
DE CAUSA NO APARENTE"**

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

GEORGINA CASTAÑEDA AYALA

DIRECTOR DE TESIS: DR. EN C. LUIS E. TOCA PORRAZ



MEXICO, D. F.

JULIO 1993



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Con mi más sincero agradecimiento al Hospital de Gineco Obstetricia No.3 del C.M. "La Raza" del I.M.S.S. y a los doctores del Servicio de Biología de la Reproducción por su ayuda en la obtención de las muestras.

Dr. Gerardo Velázquez
Dr. Juan Carlos Hinojosa
Dr. Carlos Salazar
Dr. Jorge Nava Flores
Dr. Juan Norberto Uresti A.
Dr. César Augusto Anaya
Q.B.P. Dora María Hernández
Q.F.B. Georgina Torres
Q.F.B. Gerardo Torrijos
Téc. Esteban Rodríguez
Téc. Ricardo de la Fuente

A1 jurado:

M.C. Josefina Torres Gómez

Biol. Jesús Medina Soto

Dr. en C. Luis Toca Porraz

G.F.B. Gloria Luz Paniagua Contreras

M. en C. Agustín Ruíz Cabrera

A mi director de tesis:

Dr. en C. Luis E. Toca Forraz.
Por su enorme paciencia y confianza.

Al maestro y amigo:

Biol. Ramón Montoya

A mis padres:

Teresa y Donato.
Por su apoyo y comprensión

A mis hermanos:

Robertina, Leopoldo, Rigoberto,
Adela, José de Jesús, Emma,
Juan Carlos, Arturo y Alejandro.

A mi esposo:

Juan Carlos
Que siempre estuvo a mi lado
en las buenas y en las malas.

A mis hijos:

Mónica y Ulises.

A mis compañeros y amigos del grupo C:

Hilda, Miquel, Pedro, Carlos,
Marcial y demás compañeros.

A los estudiantes de Ingeniería Petrolera:

Pedro Javier López
Miquel A. Centellano Alemán

Por su ayuda en el mecanografiado
de este trabajo.

INDICE

página.

Resumen	1.
Introducción	2.
Objetivo	7.
Metodología	8.
Resultados y Cuadros	11.
Gráficas	20.
Análisis	25.
Conclusión	27.
Bibliografía	30.
Acéndice I	35.
Acéndice II	39.

RESUMEN.

Los Mollicutes (*Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*) son comunmente encontrados en el tracto genitourinario de mujeres normales en forma asintomática, sin embargo han sido implicados en enfermedades pélvicas inflamatorias, infección puerperal, abortos espontáneos, bajo peso de neonatos, uretritis no gonocócica así como infertilidad y esterilidad.

Por lo que se realizó el estudio con el fin de poder determinar hasta que punto existe relación entre los *Mycoplasmas* y la infertilidad, para ello se estudiaron 67 pacientes con problemas de infertilidad de por lo menos un año, este grupo se considero como experimental, estuvo formado por 14 pacientes pertenecientes al servicio de planificación familiar, en ambos grupos les fueron extraidos 3 tipos de muestras, líquido peritoneal de salpinges, biopsia de endometrio y exudado cérvico vaginal. En los resultados se encontró que los *Mycoplasmas* podían estar en una o en las tres muestras pero en un porcentaje bajo, en el caso del grupo control todo parece indicar que la presencia de *Mycoplasmas* es debida al DIU por lo que su porcentaje se presentó alto en la muestra de biopsia de endometrio para *Mycoplasma* (23.4%), *Ureaplasma* (30.7%), en el grupo experimental se obtuvo en el mismo tipo de muestra para *Mycoplasma* (8.5%), *Ureaplasma* (8.3%).

Por lo que nuestro estudio no apoya la función de los *Mycoplasmas* genitales como causantes de infertilidad o esterilidad.

INTRODUCCION.

El primer *Mycoplasma* encontrado en humanos fué aislado en 1937 por Dienes y Edsall y se detectó en los abscesos de Bartholin (Friberg 1988). El estudio de la infección ocasionada por estos microorganismos fue iniciada con los trabajos de Gnarpe y Friberg (Gnarpe 1973), y subsecuentes trabajos de Kudson y Driscoll 1970, quienes sugirieron que esta infección estaba asociada con bajo peso y abortos espontáneos de neonatos, así como de infertilidad de causa no aparente (Idriss 1978, Toth 1978). Shepard la denomina como la sexta enfermedad venérea. Driscoll 1969.

Los *Mycoplasmas* se consideran como patógenos primarios en el desarrollo de abscesos tuboováricos (Braun 1973). en el caso de la salpingitis aguda encontramos que presenta una etiología polimicrobiana como: *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* (Friberg 1987).

El género *Ureaplasma urealyticum* ha sido encontrado con mayor frecuencia en mujeres con historia clínica de abortos repetidos (Horne 1973). en cultivo se recupera la mayor población de este microorganismo en el canal endocervical (Graber 1959). en el caso de encontrarse en la vagina se presenta durante los años fértiles y en forma asintomática (Busolo 1985).

Ureaplasma urealyticum se encuentra como flora comensal en el 60 a 62% de *Mycoplasma hominis* del 20 al 30% (Clivde 1984).

Los estudios efectuados han demostrado una mayor incidencias de aislamiento de *Mollicutes* entre poblaciones de hombres negros que de blancos, así como en mujeres de estrato socioeconómico bajo y de raza negra (Mc Cormack 1973).

Ureaplasma urealyticum también ha sido aislado de fluido vaginal y de moco cervical de mujeres con abscesos tuboováricos pero no se encontró presente en mujeres con infección por *Trichomona vaginalis* (Gnarpe 1973).

Debido a que los *Mycoplasmas* están rodeados de una sola membrana, se les ha incluido en la clase de los *Mollicutes* (del latín = mollis, blando y cutis, piel).

Las divisiones taxonómicas están basadas en necesidades nutricionales, particularmente la referente a esteroides, actividad bioquímica, tamaño del genoma, morfología y características serológicas (Davis 1985).

TAXONOMIA.

Clase: *Mollicutes*

Orden: *Mycoplasmatales*

Familia: *Mycoplasmataceae*

(Necesitan esteroides para su crecimiento

tamaño del genoma es de 5×10^6 daltons.

NADH oxidasa localizadas en el citoplasma)

Género I: *Mycoplasma* (más de 60 especies)

No hidrolizan la urea.

Género II: *Ureaplasma*

Hidroliza la urea.

El Género *Mycoplasma-T* o *Ureaplasma urealyticum* es muy sensitivo a la clidionina, anfotericina B, y progesterona.

La sensibilidad y el contenido relativamente grande de colesterol encontrado en las células indica requerimientos de esteroides para *Mycoplasma-T*, lo cual representa gran importancia en su posición taxonómica (Rottem 1971).

Dentro de la familia *Mycoplasmataceae* que se encuentran en el tracto genital de humanos se enlistan las siguientes especies: *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma fermentans* (Clyde 1984).

Por su patogenicidad para la especie humana destacar claramente, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, así como *Mycoplasma pneumoniae* considerándose también oportunistas (Sosa 1982).

MORFOLOGIA.

A través del microscopio electrónico se ha podido observar que los *Mycoplasma* son extremadamente variables y pleomorfos en cuanto a morfología celular, incluso dentro de un cultivo puro.

Algunos microorganismos adoptan un aspecto esférico de 300 a 800 nm de diámetro uniforme (100 a 300 nm) que presentan una longitud entre 3 nm y mas de 150 nm.

Los *Mycoplasma* son gramnegativos, presentan una pobre tinción debido a la falta de pared celular. Los cortes delgados revelan una estructura simple consistente en una membrana celular y citoplasma incluyendo ribosomas y el característico nucleóide procariótico, no presentan estructuras membranosas intracelulares.

CARACTERISTICAS DE LOS MYCOPLASMAS.

- a). Las unidades reproductivas más pequeñas tienen un tamaño de 125 a 250 nm.
- b). Son microorganismos pleomórficos porque carecen de pared celular rígida y más bien están limitadas por una unidad de membrana de tres capas que contienen un esterol.
- c). Son totalmente resistentes a las penicilinas porque carecen de las estructuras de la pared celular en las que actúa este antibiótico, pero los inhiben la tetraciclina y eritromicina.
- d). Pueden reproducirse en medios libres de células, en medios sólidos el crecimiento de las colonias semeja la forma de un huevo frito.
- e). Los *Mycoplasmas* tienen afinidad por las membranas de las células de aves y mamíferos.
- f). El crecimiento se inhibe por la acción de un anticuerpo específico.
- g). Contienen los dos géneros ácido ribonucleico y ribosomal y una doble fibra de ácido desoxiribonucleico.
- h). *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* son aislados con mayor frecuencia de la orina, el meato uretral, vagina y el cérvix en mujeres asintomáticas. En el hombre es comúnmente encontrado en el meato uretral, sulcus coronal, orina y semen (Styler, M. 1985).

Por muchos años nuestro país ha sido considerado con un alto índice de población, contrariamente a esto, en la actualidad el problema que afronta la pareja en edad fértil se ve afectada en gran medida a fallas reproductivas y en algunos casos a esterilidad. La frecuencia con que este problema aparece es del 15% en las parejas en edad reproductiva (Casell 1983).

El factor que involucra la esterilidad de la mujer en la gran mayoría de los casos esta dado por el factor tubo peritoneal (FTP), el cual afecta aspectos como trompa, peritoneo y ovario desde el punto de vista de captura ovular (Uresti 1989).

Por definición la esterilidad se considera como la incapacidad de una pareja para concebir y se clasifica en dos tipos: Voluntaria e involuntaria. Méndez Oteo clasifica la esterilidad en voluntaria de acuerdo al tiempo de aparición.

Primaria.- Cuando la falta de concepción se presenta desde las primeras relaciones sexuales.

Secundaria.- Si dicha falta sobreviene después de una o varias gestaciones, aunque estas no hayan sido viables.

La infertilidad se considera como la incapacidad de llevar a cabo la viabilidad de un producto que ha sido concebido y se subdivide en:

Infertilidad primaria.- Cuando no ha habido producto viable.

Infertilidad secundaria.- Se ha logrado tener un hijo de un embarazo a término o un producto viable (Méndez 1980).

La infertilidad en la mujer es causada frecuentemente por daño tubal. *Chlamydia trachomatis* es un patógeno bien conocido en las infecciones del tracto genital y se calcula que es responsable en un 35-40% de todos los casos de enfermedades inflamatorias pélvicas, Rosas 1990, mientras que *Mycoplasma hominis* se cree que es responsable de alrededor del 25% de todos los casos (Moller 1985).

En las parejas con infertilidad secundaria la infección por *Mollicutes* no se encontró que fuera referida a la paridad, sin embargo se ha encontrado que existe mayor población de *Ureaplasma urealyticum* que de *Mycoplasma hominis* pudiendo existir asociación de ambos (Upadhvaya 1983).

El presente trabajo se realizó con la finalidad de poder determinar si *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* son posibles agentes causales de esterilidad de causa no aparente.

Diagrama de flujo para la identificación de **Mycoplasma hominis**
y **Ureaplasma urealyticum**.

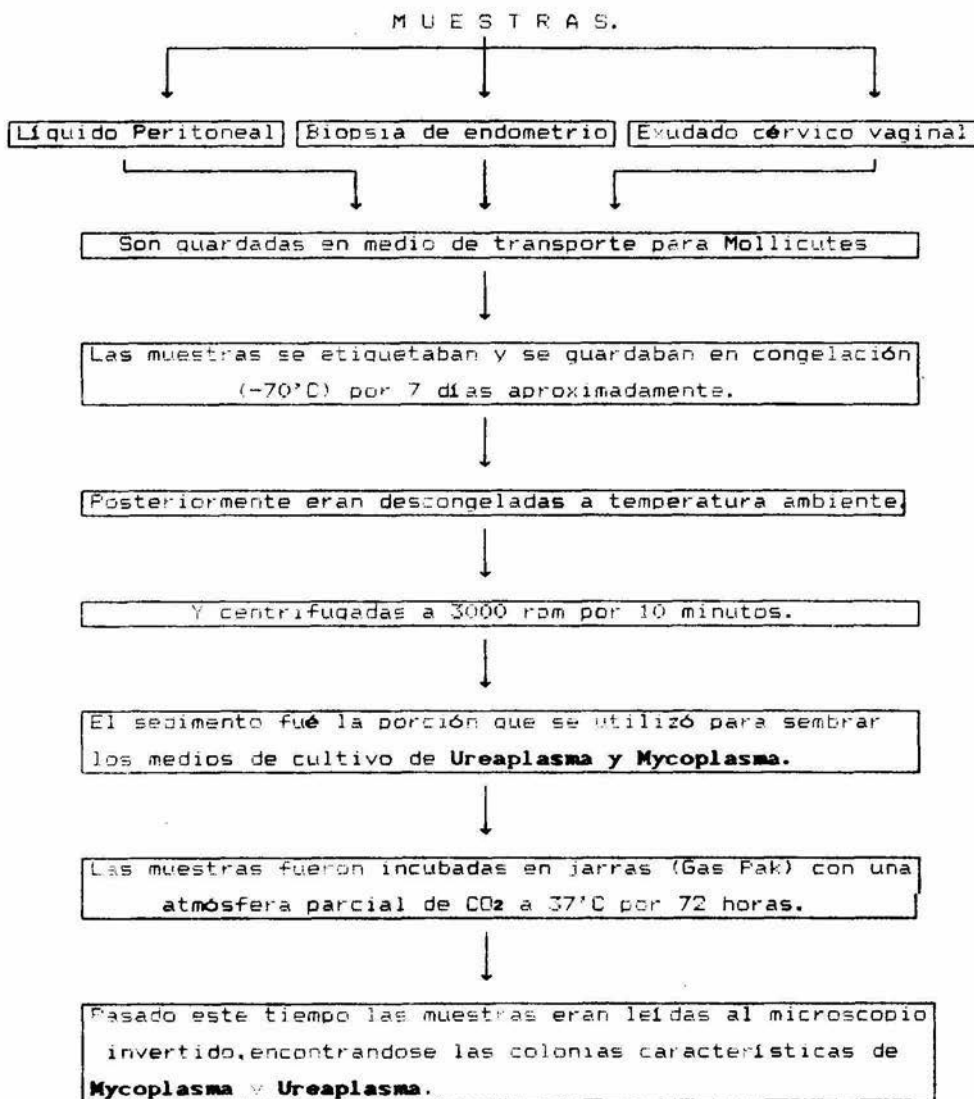
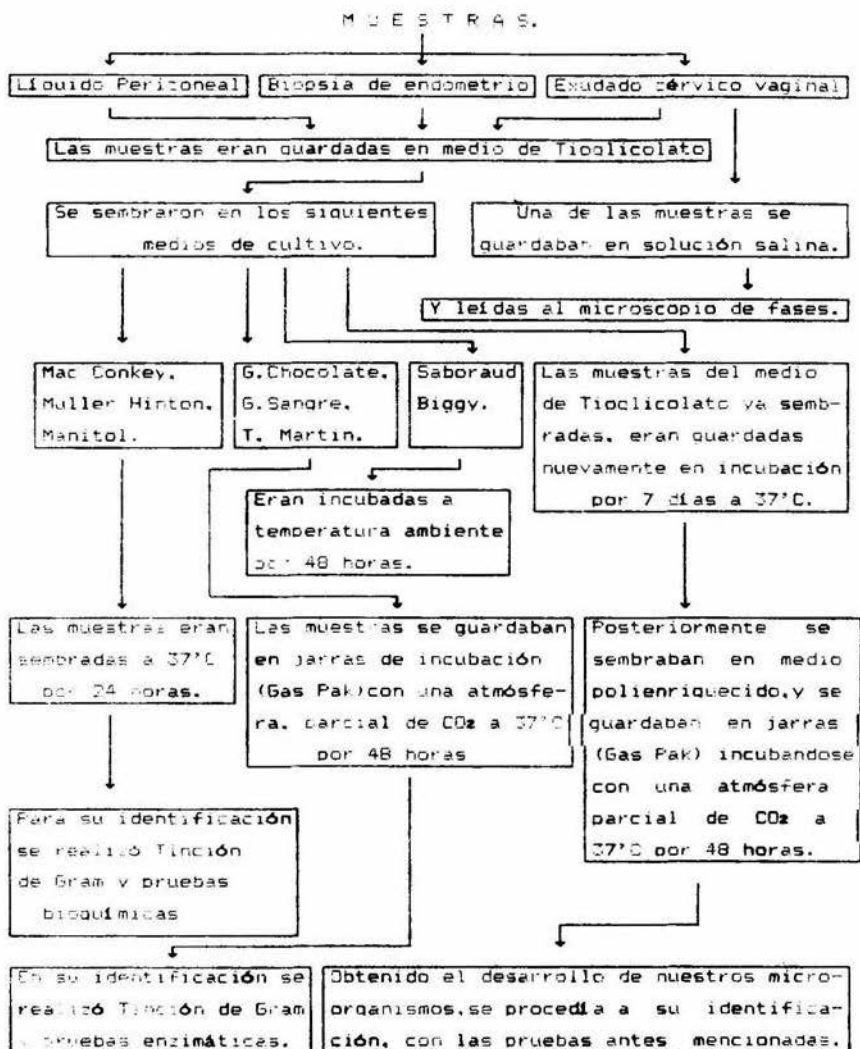


Diagrama de flujo para la identificación de microorganismos encontrados en las muestras en estudio.



METODOLOGIA.

El estudio se realizó en el H.G.O.3 del C.M. "La Raza" del I.M.S.S. En el servicio de Biología de la Reproducción.

La población que se eligió para el estudio estuvo comprendida entre los 22 y 36 años de edad, en la mayoría de los casos correspondían al grupo socioeconómico medio y bajo.

En este servicio se atendieron 67 pacientes con problemas de esterilidad e infertilidad, las cuales fueron catalogadas como grupo experimental, estos pacientes se sometieron a una serie de estudios como: histerosalpingografía, biopsia de endometrio, exudados cérvico vaginal niveles de progesterona en sangre, exámenes post-coitales y como estudio determinante la laparoscopia diagnóstica.

El grupo control estuvo formado por 14 pacientes del servicio de Planificación Familiar con paridad satisfecha, a las cuales les colocaron los anillos de Yoon como control de esterilidad.

Para la toma de muestras en quirófano, la paciente adoptaba la posición ginecológica, para las tres primeras muestras correspondientes al exudado cérvico vaginal se tomaba antes de asear a la paciente, estas muestras se recogían por medio de hisopos previamente esterilizados, la primera muestra se guardaba en solución salina, la segunda en el medio de transporte para *Mollicutes* y la última en medio de Tioqlicolato.

Para la obtención de las muestras de las biopsias de endometrio se procedió a asear a la paciente con una solución antiséptica (isodine) de la región umbilical a la zona rectal en seguida se cubría a la paciente con campos estériles dejando al descubierto la región en estudio, hecho lo anterior se procedió a tomar las muestras con una cánula (de Novak), una de las muestras se guardaba en el medio de transporte para *Mollicutes* y la otra en el medio de Tioqlicolato.

En la toma de líquido peritoneal de salpinxes, se utilizó un laparoscopia (marca KLI) con aditamentos para aspiración al localizar la presencia de líquido peritoneal era extraído y se repartía en el tubo de medio de transporte para *Mollicutes* y en el tubo del medio de Tioglicolato, aproximadamente 1 cc. en cada tubo, en el caso de que la cantidad de líquido fuera poca era repartido por partes iguales en cada tubo.

En algunos casos hubo pacientes que no ,presentaban líquido peritoneal por lo que sólo se tomaba la biopsia de endometrio y el exudado cérvico vaginal, en el laboratorio, las muestras guardadas en el medio de transporte para *Mollicutes* eran debidamente etiquetadas y guardadas en congelación (-70o C) por 7 días aproximadamente. Enseguida se procesaban las muestras en fresco de la solución salina y se leían al microscopio de fases (marca Karl Zeiss).

En tanto que las muestras del medio de Tioglicolato (líquido peritoneal, biopsia de endometrio y exudado cérvico vaginal) se procedía a sembrar cada una de las muestras en los siguientes medios de cultivo.

Medio Gelosa Sangre, Medio Chocolate, Medio Thayer Martin, Medio de Mac Conkey, Medio Muller Hinton, Medio Manitol, Medio Saboraud, medio Biqqy.

Las muestras sembradas en los medios de Gelosa Sangre, Medio Chocolate y el Medio Thayer Martin fueron incubadas en jarras (Gas Pak) con una atmósfera parcial de CO₂ por 48 horas a 37°C.

Los Medios de Mac Conkey, Medio Muller Hinton y el Medio Manitol después de sembrados eran incubados por 24 horas a 37°C. En tanto que el Medio Saboraud y el Medio Biqqy eran sembrados e incubados a temperatura ambiente por 48 horas o más.

En el caso de que en algunos de los medios se encontrara desarrollo se procedió a determinar al microorganismo por medio de pruebas bioquímicas (fermentación de azúcares, descarboxilación, desaminación de aminoácidos, hidrólisis de urea así como presencia de enzimas como coagulosa, oxidasa, catalasa y tinción de Gram.

Las muestras de Tioqlicolato fueron guardadas en incubación por 7 días para después sembrarlas en medio bolienriquecido y se incubaron en jarras (Gas Pak) con una atmósfera parcial de CO₂ y a una temperatura de 37°C. por 48 horas, de la misma forma que la anterior si existía desarrollo se procedía a hacer las pruebas antes mencionadas para su posterior identificación.

Las muestras congeladas del medio de transporte para *Mollicutes* se descongelaron a temperatura ambiente para después centrifugar a 3000 (rpm) por 10 minutos. La porción que se utilizó después de centrifugada la muestra fué el sedimento, el cual se sembraba en el medio para *Mycoplasma* y el medio para *Ureaplasma* por medio de una pipeta Pasteur estéril, la muestra depositada en la caja Petri se extendió por todo el medio, y se guardaba en jarras (Gas Pak), con una atmósfera parcial de CO₂ a 37°C por 72 horas, pasado este tiempo se sacaban y se leían al microscopio invertido (marca Karl Zeiss) identificandose la morfología colonial característica de *Mycoplasma hominis* así como la de *Ureaplasma urealyticum*.

Nuestros resultados fueron confirmados en el Departamento de Virología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" de la S.S.A. bajo la responsabilidad del Dr. Jesús Casasola.

RESULTADOS.

En el grupo experimental se realizaron 67 laparoscopias diagnósticas obteniéndose las siguientes muestras, 62 de líquido peritoneal, 60 de biopsia de endometrio y 46 de exudado cérvico vaginal. En el grupo control (anillos de Yoon), se obtuvo un total de 14 muestras de las cuales 11 corresponden al líquido peritoneal, 13 de biopsia de endometrio y 12 en los exudados cérvico vaginales. tabla Núm.1.

	Experimental.		Control.	
Líquido peritoneal	62/67	92.5%	11/14	78.5%
Biopsia de endometrio	60/67	89.5%	13/14	92.8%
Exudado cérvico vaginal	46/67	68.6%	12/14	85.7%

Tabla Núm.1. Número de muestras estudiadas v.s. número de muestras obtenidas.

Número total de muestras obtenidas contra el número de casos positivos de *Mycoplasma hominis*, en las muestras de líquido peritoneal se encontraron 16 casos en el experimental (23.8%), y 2 en el control (14.2%), en las biopsias de endometrio encontramos 5 positivos para el experimental (7.4%) y 5 en el control (35.7%), en las muestras de exudados cérvico vaginales obtuvimos 10 positivos en el experimental (21.7%) y 2 en el control (14.2%). Tabla Núm.2.

	Experimental.		Control.	
Líquido peritoneal	16/67	23.8%	2/14	14.2%
Biopsia endometrio	5/67	7.4%	5/14	35.7%
Exudados cérvico vaginal	10/46	21.7%	2/14	14.2%

Tabla Núm.2. Total de casos positivos para *Mycoplasma hominis* v.s. número de muestras obtenidas.

Casos positivos con *Ureaplasma urealyticum* contra el número de muestras. en las muestras correspondientes al líquido peritoneal encontramos 13 casos en el grupo experimental (19.4%) y 2 en el grupo control (14.2%). en las biopsias de endometrio tenemos 5 positivos en el experimental (7.4%) y 4 en el control (28.5%). en las muestras de exudado cérvico vaginal tenemos 11 casos en el experimental (16.4%) en tanto que en el control se presentan 2 que representa el (14.2%). Tabla Núm.3

	Experimental		Control	
Líquido peritoneal	13/67	19.4%	2/14	14.2%
Biopsia de endometrio	5/67	7.4%	4/14	28.5%
Exudado cérvico vaginal	11/67	16.4%	2/14	14.2%

Tabla Núm.3. Total de casos positivos con *Ureaplasma urealyticum* v.s. número de muestras obtenidas.

Relación de casos positivos a *Mycoplasma hominis* de las muestras que fueron procesadas. En las muestras de líquido peritoneal se encontró 16 positivos en el grupo experimental (25.8%) y en el control (18.8%). en las biopsias de endometrio tenemos 5 casos en el experimental (8.3%) y 5 en el control (38.4%). en las muestras de exudado cérvico vaginal se presentaron 10 casos en el experimental (21.7%) y 2 en el control (16.6%).
Tabla Núm.4

	Experimental.		Control.	
Líquido peritoneal	16/62	25.8%	2/11	18.8%
Biopsia de endometrio	5/60	8.3%	5/13	38.4%
Exudado cérvico vaginal	10/46	21.7%	2/12	16.6%

Tabla Núm.4. Número de casos positivos con *Mycoplasma hominis* v.s. número total de casos que fueron procesados.

Relación de casos positivos *Ureaplasma urealyticum* de las muestras que fueron procesadas. En líquido peritoneal se encontraron 13 casos en el grupo experimental (20.9%), 2 casos en el grupo control (18.1%), en las muestras de biopsia de endometrio tenemos 5 casos en el experimental (8.3%) y 4 en el control (30.7%) y en los exudados cérvico vaginales 11 casos en el experimental (23.9%) y 2 en el control (16.6%). Tabla Núm.5.

	Experimental.		Control.	
Líquido peritoneal	13/62	20.9%	2/11	18.1%
biopsia de endometrio	5/60	8.3%	4/13	30.7%
Exudado cérvico vaginal	11/46	23.9%	2/12	16.6%

Tabla Núm.5. Número de casos positivos con *Ureaplasma urealyticum* v.s. número total de casos que fueron procesados.

Presencia con *Mycoplasma hominis* sin asociación con *Ureaplasma urealyticum* ni otras bacterias. Se encontró en la muestra de líquido peritoneal del grupo experimental 16 casos positivos y 2 en el control. en las muestras de biopsia de endometrio obtuvimos 5 positivos en el experimental y 5 en el control. en la muestra de los exudados cérvico vaginal se presentaron 10 casos en el grupo experimental y 2 en el control. Tabla Núm.6.

	Experimental.	Control.
	Núm.de casos.	Núm.de casos.
Líquido peritoneal	16	2
Biopsia de endometrio	5	5
Exudado cérvico vaginal	10	2

Tabla Núm.6.Total de casos positivos con *Mycoplasma hominis*.

Presencia de *Ureaplasma urealyticum* sin asociación con *Mycoplasma hominis* ni otras bacterias. En la muestra de líquido peritoneal en el grupo experimental se encontraron 13 casos y 2 en el grupo control en las biopsias de endometrio se presentaron 5 casos en el experimental y 4 en el control, en los exudados cervícos vaginales se presentaron 5 casos en el experimental y 2 en el control. Tabla Núm.7.

	Experimental. Núm.de casos.	Control. Núm.de casos.
Líquido peritoneal	13	2
Biopsia de endometrio	5	4
Exudado cervíco vaginal	5	2

Tabla Núm.7. Total de casos positivos con *Ureaplasma urealyticum*.

Asociación de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* sin la presencia de alguna bacteria. En la muestra de líquido peritoneal se encontró en el grupo experimental como en el control solamente un caso, en la muestra de biopsia de endometrio solo se encontro positivo en el grupo control en una ocasión en la muestra de exudado cervíco vaginal se presentaron 4 casos en el grupo experimental y uno en el grupo control. Tabla Núm.8.

	Experimental. Núm.de casos.	Control. Núm.de casos.
Líquido peritoneal	1	1
Biopsia de endometrio	0	1
Exudado cervíco vaginal	4	1

Tabla Núm.8. Casos positivos con *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* sin asociación con alguna otra bacteria.

Relación *Mycoplasma hominis* más *Ureaplasma urealyticum* más bacterias encontradas. En la muestra de líquido peritoneal se presentó un caso en el grupo experimental, en tanto que en el grupo control no hubo desarrollo, en la muestra de biopsia de endometrio solo encontramos un caso positivo en el grupo control, el experimental fue negativo, en la muestra del exudado cérvico vaginal se presentaron 2 casos en el experimental mientras que el control resulto negativo. Tabla Núm.9.

	Experimental. Núm.de casos.	Control. Núm.de casos.
Líquido peritoneal	* 1	-
Biopsia de endometrio	-	1
Exudado cérvico vaginal	2	-

Tabla Núm.9.* Número de casos positivos con *Mycoplasma hominis* más *Ureaplasma urealyticum* más bacterias asociadas.

Relación *Mycoplasma hominis* más bacterias presentes sin asociación con *Ureaplasma urealyticum*. En la muestra de líquido peritoneal se encontró positivo solo un caso en el grupo experimental, el control resulto negativo, en la muestra de biopsia de endometrio solo hubo un caso en el grupo control el experimental no presento desarrollo, en la muestra de los exudados cérvico vaginales encontramos 2 positivos en el experimental, mientras que en el control hubo un caso. Tabla Núm.10.

	Experimental. Núm.de casos.	Control Núm.de casos.
Líquido peritoneal	1	-
Biopsia de endometrio	-	1
Exudado cérvico vaginal	2	1

Tabla Núm.10 * Número de casos positivos con *Mycoplasma hominis* más bacterias patógenas sin asociación con *Ureaplasma urealyticum*.

Presencia de *Ureaplasma urealyticum* más bacterias presentes sin asociación con *Mycoplasma hominis*. En la muestra de líquido peritoneal no se presentó ni un caso en el grupo experimental como en el grupo control, en las muestras de biopsia de endometrio se presentaron 2 casos en el experimental y uno, en el control, en la muestra de exudado cérvico vaginal se encontraron 3 casos en el experimental, el control resulto negativo. Tabla Núm.11.

	Experimental. Núm.de casos.	Control. Núm.de casos.
Líquido peritoneal	-	-
Biopsia de endometrio	2	1
Exudado cérvico vaginal	3	-

Tabla Núm.11. Número de casos positivos con *Ureaplasma urealyticum* más bacterias presentes sin asociación con *Mycoplasma hominis*.

Bacterias encontradas sin asociación con *Mycoplasma hominis* ni *Ureaplasma urealyticum*. En la muestra de líquido peritoneal se presentó un caso en el grupo experimental, mientras que el grupo control fue negativo, en la muestra de biopsia de endometrio se encontraron 15 casos en el experimental, en tanto que el control no hubo desarrollo, en las muestras de exudado cérvico vaginal se presentaron 16 casos, y uno en el control. Tabla Núm.12.

	Experimental. Núm.de casos.	Control. Núm.de casos.
Líquido peritoneal	1	-
Biopsia de endometrio	15	-
Exudado cérvico vaginal	16	1

Tabla Núm.12. Número de casos positivos de bacterias encontradas sin asociación con *Mycoplasma hominis* ni *Ureaplasma urealyticum*.

En la relación *Mycoplasma hominis* más bacterias encontradas en el medio de Tioglicolato tuvimos el siguiente desarrollo.

Staphylococcus epidermidis se encontró presente en la muestra de líquido peritoneal del grupo experimental y en la muestra del exudado cérvico vaginal del grupo experimental y del control en una ocasión.

Streptococcus β hemolítico del grupo B se desarrolló en la muestra del exudado cérvico vaginal del grupo experimental una vez.

<i>Mycoplasma hominis</i> más	Liq.peritoneal		Biopsia de endometrio		E.C.V.	
	Ex.	C.	Ex.	C.	Ex.	C.
<i>St. epidermidis</i>	1	-	1	-	1	-
<i>Strep. β hemolítico</i> grupo B	-	-	-	-	1	-

Tabla Núm.13. Número de casos encontrados.

Ex. = Experimental

C. = Control.

Relación *Ureaplasma urealyticum* más bacterias encontradas en el medio de Tioglicolato.

Staphylococcus epidermidis se encontró presente en las 3 muestras del grupo experimental en una sola ocasión mientras que los controles resultaron negativos.

Klebsiella rhinoscleromatis solo estuvo presente una vez en la muestra de biopsia endometrio del grupo control.

Staphylococcus aureus se encontró en una ocasión en la muestra de biopsia de endometrio del grupo experimental.

Streptococcus β hemolítico grupo B. se desarrollo una sola vez en las muestras de exudado cérvico vaginal del grupo experimental.

Tabla Núm.14.

<i>Ureaplasma urealyticum</i>	Líq.peritoneal		Biopsia de endometrio		E.L.V.	
	Ex.	C.	Ex.	C.	Ex.	C.
más						
<i>St. epidermidis</i>	1	-	1	-	1	-
<i>K.rhinoscleromatis</i>	-	-	-	1	-	-
<i>St. aureus</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Strep. β hemolítico</i>	-	-	-	-	1	-
grupo B.						

Tabla Núm.14. Número de casos encontrados.

Ex. = Experimental.

C. = Control.

De las muestras conservadas en el medio Tiodicolato y después sembradas en medio colienriquecido se obtuvo el desarrollo de los siguientes microorganismos.

Staphylococcus epidermidis se encontró presente en el grupo experimental en tres ocasiones en las muestras de líquido peritoneal, 2 en la biopsia de endometrio y 5 en los exudados cervícos vaginales, en el grupo control solo se presentó una sola vez en la muestra de exudados cervícos vaginales.

Staphylococcus aureus. En el grupo experimental hubo desarrollo en una ocasión en el líquido peritoneal, 2 en biopsia de endometrio y 6 en los exudados cervícos vaginales, en el grupo control se encontró positivo en la biopsia de endometrio así como en los exudados cervícos vaginales.

Klebsiella rhinoscleromatis. se desarrolló una sola vez en las muestras de biopsia de endometrio y en los exudados cervícos vaginales del grupo experimental, en el grupo control solo se presentó en una ocasión en la biopsia de endometrio.

Klebsiella ozaenae.- Creció en 2 ocasiones en la muestra de biopsia de endometrio y 1 en la de los exudados cervícos vaginales del grupo experimental.

Proteus vulgaris.- Presentó desarrollo en una ocasión en la biopsia de endometrio del grupo experimental.

Streptococcus β hemolítico del grupo B, se encontraron 2 casos positivos en la muestra de biopsia de endometrio y una en la muestra de los exudados cérvico vaginales del grupo experimental.

Candida sp.- Se obtuvieron 4 positivos en la muestra de los exudados cérvicos vaginales del grupo experimental y dos en el grupo control.

Neisseria gonorrhoeae.- Se encontró un caso en la muestra de biopsia de endometrio del grupo experimental.

Escherichia coli.- Se desarrolló en 2 ocasiones en las muestras de exudados cérvicos vaginales del grupo experimental.

Trichomona vaginalis.- Se presentaron 3 casos positivos de las muestras de los exudados cérvicos vaginales del grupo experimental.

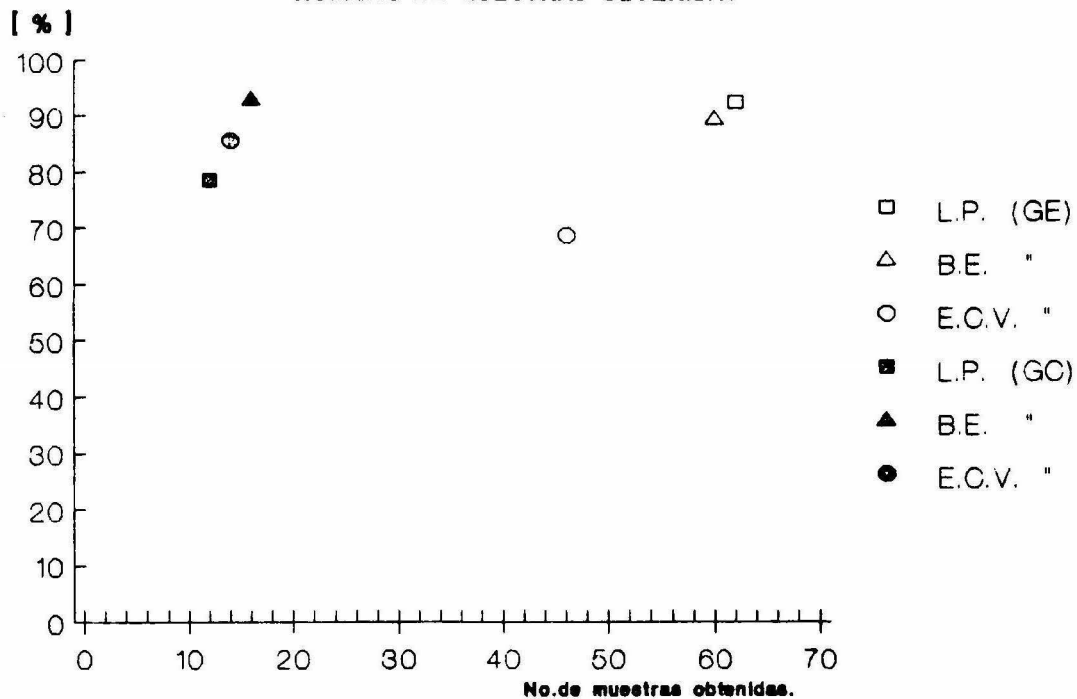
	Liq.peritoneal.		Biopsia de endometrio		E.C.V.	
	Ex.	C.	Ex.	C.	Ex.	C.
<i>St. Epidermidis</i>	3	-	2	-	5	1
<i>St. aureus</i>	1	-	2	1	6	1
<i>K. ozaenae</i>	-	-	2	-	1	-
<i>K. escleromatis</i>	-	-	1	1	1	-
<i>P. vulgaris</i>	-	-	1	-	-	-
<i>Strep β hemolítico</i>	-	-	2	-	1	-
grupo E.						
<i>Candida sp.</i>	-	-	-	-	4	2
<i>N.gonorrhoeae</i>	-	-	1	-	-	-
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	2	-
<i>T. vaginalis</i>	-	-	-	-	3	-

Tabla Núm.15.- Relación de microorganismos encontrados en las muestras que se conservaron en el medio de Tioglicolato y que después fueron sembrados en medios polienriquecidos.

Ex. = Experimental.

C. = Control.

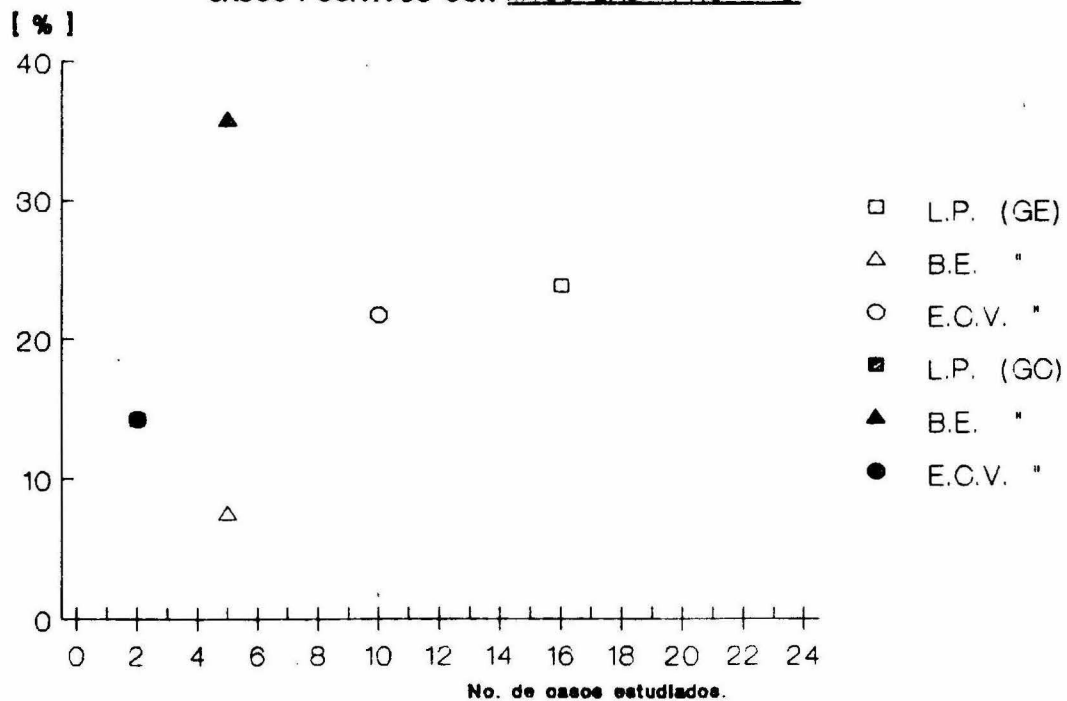
GRAFICA No.1
NUMERO DE MUESTRAS ESTUDIADAS(%) V.S.
NUMERO DE MUESTRAS OBTENIDAS



L.P. = LIQUIDO PERITONEAL.
 E.C.V. = EXUDADO CERVICO VAGINAL
 B.E. = BIOPSIA DE ENDOMETRIO

GE - GRUPO EXPERIMENTAL.
GC - GRUPO CONTROL.

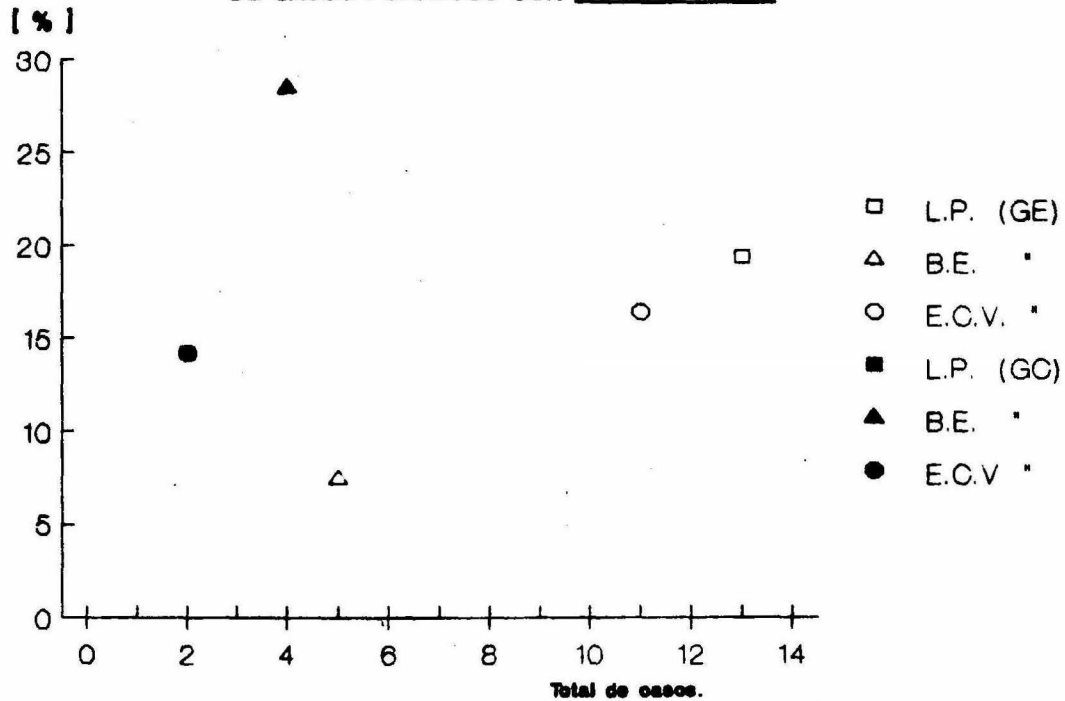
GRAFICA No.2
NUM.DE MUESTRAS OBTENIDAS(%) V.S. NUM.DE
CASOS POSITIVOS CON MYCOPLASMA HOMINIS.



L.P.=LIQUIDO PERITONEAL.
 B.E.=BIOPSIA DE ENDOMETRIA
 E.C.V.=EXUDADO CERVICO VAGINAL.

GE = GRUPO EXPERIMENTAL.
GC = GRUPO CONTROL.

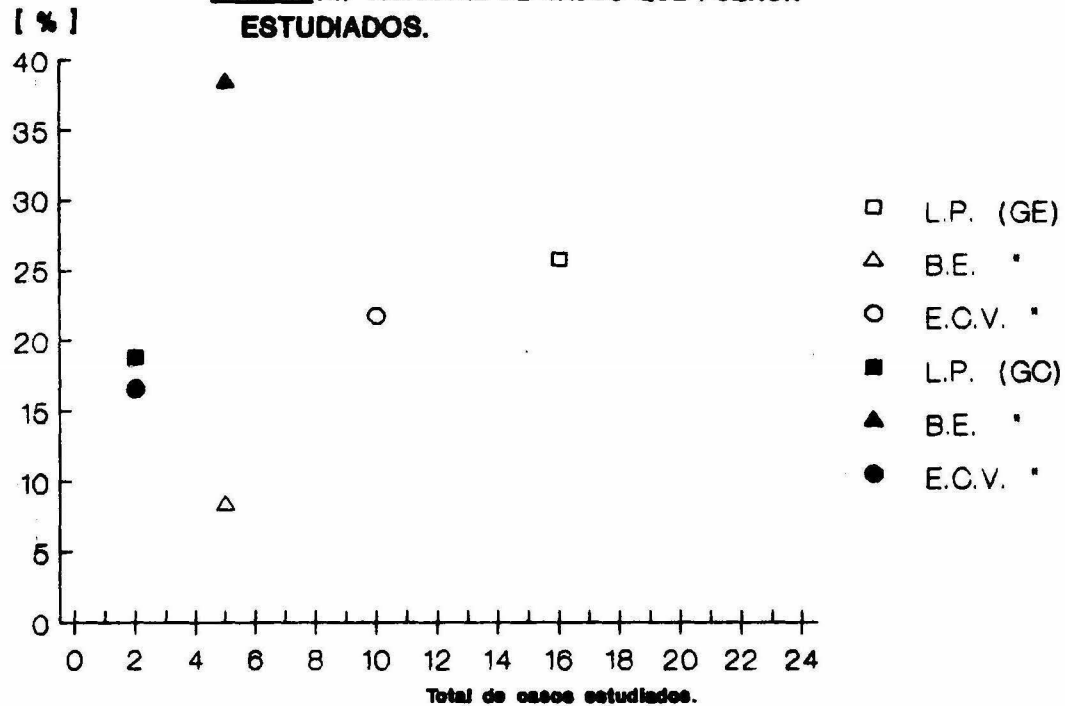
GRAFICA No.3
NUM. DE MUESTRAS OBTENIDAS(%) V.S. TOTAL
DE CASOS POSITIVOS CON U.UREALYTICUM.



L.P.-LIQUIDO PERITONEAL.
 B.E.- BIOPSIA DE ENDOMETRIO.
 E.C.V.-EXUDADO CERVICO VAGINAL.

GE - GRUPO EXPERIMENTAL.
GC - GRUPO CONTROL.

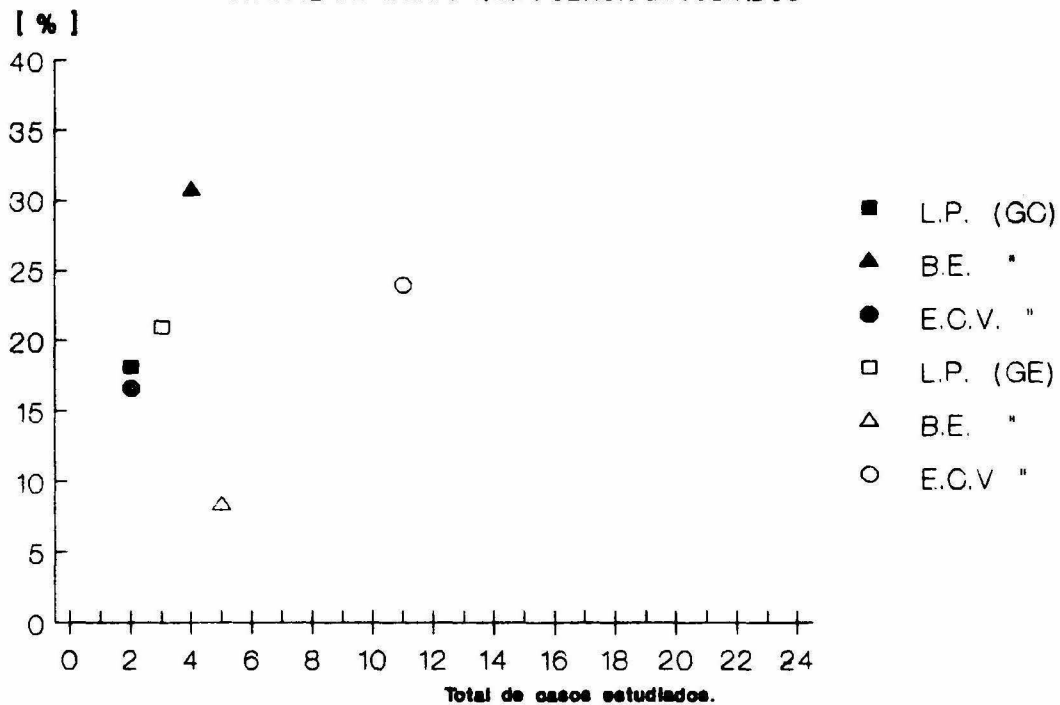
GRAFICA No.4
NUMERO DE CASOS POSITIVOS CON *MYCOPLASMA*
***HOMINIS*(%) V.S.TOTAL DE CASOS QUE FUERON**
ESTUDIADOS.



L.P.-LIQUIDO PERITONEAL.
 B.E.-BIOPSIA DE ENDOMETRIO.
 E.C.V.-EXUDADO CERVICO VAGINAL.

GE - GRUPO EXPERIMENTAL.
GC - GRUPO CONTROL.

GRAFICA No.5
NUM.DE CASOS POSITIVOS CON *UUREALYTICUM*
V.S.TOTAL DE CASOS QUE FUERON ESTUDIADOS



L.P. = LIQUIDO PERITONEAL.
B.E. = BIOPSIA DE ENDOMETRIO.
E.C.V. = EXUDADO CERVICO VAGINAL.

GE = GRUPO EXPERIMENTAL.
GC = GRUPO CONTROL.

ANALISIS Y DISCUSION.

Las pacientes tratadas con problema de esterilidad o infertilidad presentan como diagnóstico presuntivo, desordenes ovulatorios, endometriosis, endometritis, obstrucción tubal o adhesiones tumorales, anomalías uterinas, factor cervical y causas inexplicables este último motivo del estudio (Swenson 1978, Gump 1984).

La anormalidad del moco cervical es el factor responsable de infertilidad del 5 al 10% de las mujeres (Moqhissi 1976, Rewey 1978, Speroff 1983).

Otro factor en el que esta directamente involucrado el hombre se presenta cuando el *Mycoplasma* se adhiere a la mitad del cuerpo del espermatozoide y esta influencia se extiende dentro del tracto reproductor femenino, ocasionando que no haya fecundación (Fowlkes 1975).

La tasa de aislamiento de *Mycoplasma* tiende a ser baja en la niñez y años posreproductivos y muy elevada entre los adultos jóvenes, la frecuencia de colonización en el tracto genital depende en gran medida a la experiencia sexual de los sujetos así como que pertenezcan al grupo socioeconómico bajo (Toth 1983, Lumpkin 1988).

La población que se eligió para el estudio estuvo comprendida precisamente dentro de este grupo.

En relación a nuestros resultados se puede observar que el número de muestras obtenidas no corresponden al número de muestras estudiadas, como en el caso de las muestras de líquido peritoneal de salpinges, algunas de las pacientes no lo presentaban por lo que se optaba por tomar las demás muestras en el caso de los exudados cérvico vaginales del grupo experimental se contó con una muestra reducida, ya que se empezaron a coleccionar posteriormente al inicio del estudio. Por lo tanto nuestros resultados expresados en porcentajes presentan una heterogeneidad en cada una de las muestras. Gráfica N.ºm.1.

En los siguientes resultados, encontramos que las muestras que corresponden a la presencia de *Mycoplasma hominis* tenemos que en el grupo experimental los porcentajes son más bajos en relación al grupo control esto es, tomando en cuenta el número de muestras obtenidas. Gráfica Núm.2.

En el caso de la presencia de *Ureaplasma urealyticum* volvemos a encontrar que nuestros resultados en el grupo control son más altos que en el grupo experimental. Gráfica Núm.3.

En cuanto a los casos positivos para *Mycoplasma hominis* tomando en cuenta el número de muestras estudiadas se presenta la misma similitud que en los casos anteriores, Gráfica Núm.4, 5.

La explicación que damos para estos resultados la atribuimos a las diferencias existentes entre nuestra población, o que en la manipulación de las muestras pudiera existir una posible contaminación.

En las gráficas anteriores se puede observar un alto porcentaje de positividad en las muestras de biopsia de endometrio en cuanto a la presencia de uno y otro microorganismo, principalmente en el grupo control, en este grupo la mayoría de las pacientes usaban el DIU como medio de control de esterilidad, nosotros encontramos que este aparato favorece la colonización de *Mycoplasmas* en el endometrio, ya que son anaerobios facultativos y en el canal endocervical se presenta una reducción de O₂ (tensión), el DIU de cobre es un agente reductor que permite la anaerobiosis (Horne 1973).

Las mujeres embarazadas o que toman anticonceptivos orales pueden tener una alta población con *Ureaplasma urealyticum* (Lumpkin 1988).

En la relación *Mycoplasma hominis* sin asociación con *Ureaplasma urealyticum* ni bacterias nuestros resultados presentan cierta homogeneidad en las muestras.

Ureaplasma urealyticum sin asociación con *Mycoplasma hominis* ni bacterias en este caso y el anterior se encontraron resultados similares, lo que nos lleva a decidir que los dos microorganismos presentan la misma probabilidad de infección, aunque en la muestra de líquido peritoneal en el grupo experimental el resultado es mayor.

En la población de *Mycoplasma hominis* más *Ureaplasma urealyticum* la positividad disminuye en forma radical, asociando bacterias tenemos resultados aún mas bajos.

Mycoplasma hominis más bacterias asociadas tienen la misma probabilidad de colonizar el tracto reproductor y en el caso de *Ureaplasma urealyticum* más bacterias asociadas encontramos una mayor predilección hacia el endometrio.

En la muestra de biopsia de endometrio se encontraron diferentes tipos de bacterias, producidas por contaminación en el material o que la flora bacteriana del cérvix ascendiera hacia el endometrio, en el caso de los exudados cérvico vaginales algunas de las bacterias se pueden considerar hasta cierto punto parte de la flora normal.

De las bacterias que se encontraron junto con los *Mycoplasma hominis* tenemos *Staphylococcus epidermidis* que se desarrolló en los exudados cérvico vaginales de los dos grupos.

Streptococcus β hemolítico grupo B solo se encontró presente en el grupo experimental en una sola ocasión en la muestra de los exudados cérvico vaginales.

En el caso de *Ureaplasma urealyticum* resultó tener la misma población que *Staphylococcus epidermidis* en las tres muestras del grupo experimental.

De las bacterias encontradas la mayor población se obtuvo de los exudados cérvico vaginales en el grupo experimental, entre ellas tenemos: *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Candida sp.*

De las muestras que se leveron en fresco, se encontraron tres casos con *Trichomona vaginalis* en estos casos no hubo asociación con *Mycoplasma hominis* ni *Ureaplasma urealyticum* en ninguna de las tres muestras, la explicación que encontramos se refiereea que los bioproductos del primero interfieren con la presencia de los *Mycoplasmas* (Casell 1983).

CONCLUSION.

Se conocen muchos mecanismos de la infertilidad humana pero continúa el debate sobre si las infecciones por *Mycoplasmas* desempeñan un papel patógeno en la reproducción. Las portadoras persistentes o consistentemente libres de infección presentan incidencias de abortos, parto prematuro, baja de peso o morbilidad post-partum considerandose oportunistas ya que aparecen en raras ocasiones (Matthews 1975).

Otros estudios han indicado que la flora *Mycoplasmal* aparece en el 0.3% de sujetos normales (Giudice 1967). El tracto genital masculino raramente es colonizado por estos microorganismos con la excepción de la uretra por lo que esta contaminación es consecuencia de cultivos positivos en el hombre, Toth 1982. En el caso de la mujer se ha demostrado que existe una reacción inflamatoria en el endometrio asociandose con cultivos positivos de *Mycoplasma-T* (Fowlkes 1975).

Estos organismos estuvieron presentes con una gran incidencia después de histerectomias totales, indicando que la presencia de *Mycoplasmas* puede ser influenciada, por cambios hormonales, la incidencia se incrementa con la experiencia sexual, sin embargo dentro de ciertas condiciones, tales como malnutrición, decremento de la respuesta inmune y ciertos cambios endocrinológicos estos organismos pueden entrar al tracto genital superior y causar fallas reproductivas y problemas de infertilidad como bacterias oportunistas (Gnarpe 1973).

Sin embargo nosotros hemos encontrado que no influyen en la esterilidad infertilidad como se menciona anteriormente; no dudamos, que pueda ser un factor predisponente, pero no el único, es decir la presencia sola de estas bacterias no producen infertilidad o esterilidad.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Braun, P. Besdine, R. 1973 Tuboovarian abscess with recovery of *T-Mycoplasma*. Am J. Obstet Gynecol. 117:86.
- 2.- Busolo, F. Zanchetta, R. 1985 The effect of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* on hamster egg in vitro penetration by human spermatozoa. Fertil Steril. 43:110.
- 3.- Casell, GH. Younger, JB. Brown, MB. et al. 1983 Microbiologic study of infertile women at the time of diagnostic laparoscopy: association of *Ureaplasma urealyticum* with a defined subpopulation. N Engl J Med. 308:502.
- 4.- Clyde, H. [redacted], GE. Shachter, J. 1984 Laboratory Diagnosis of *Chlamydia* and *Mycoplasmal* infections. American Society for Microbiology, Washington, DC. p.1-17
- 5.- Davis, ED. Dulbecco, R. Eisen, HN. Ginsberg, HS. Tratado de microbiología. 3a. ed. Ed. Salvat. Barcelona 1985 p.640
- 6.- Del Giudice, RA. Robillard, NF. Carski, TR. 1967 Immunofluorescent identification of *Mycoplasma* on agar by use of incident illumination. J. Bacteriol. 93:1205
- 7.- Driscoll, SG. Kundsir, RB. Horne, HW. y Scott, JM. 1969. Infections and first trimester losses. Possible role of *Mycoplasmas*. Fertil Steril. 20:1017.
- 8.- Filloy, L. 1989 Departamento de bacteriología. Hospital Infantil de México. "Federico Gómez" de la S.S.A. (comunicación personal).
- 9.- Fowlkes, DM. Dooher, GB. O'Leary, WM. 1975 Evidence by scanning electron microscopy for an association between spermatozoa and *T-Mycoplasmas* in men of infertile marriage. Fertil Steril. 26:1203.

- 10.- Fowlkes, DM. MacLeod, J. O'Leary, WM. 1975
T-Mycoplasmas and human infertility: correlation of infection with alterations in seminal parameters. *Fertil Steril.* 26:1212.
- 11.- Friberg, J. 1988 Diagnosis of genital *Mycoplasma* and *Ureaplasma* infections. *J. Reprod. Med.* 30:3.
- 12.- Friberg, J. Confino, E. Juarez, M. y Gleicher, N. 1987. *Chlamydia trachomatis* attached to spermatozoa recovered from the peritoneal cavity of patients with salpingitis. *J. Reprod. Med.* 32(2):120.
- 13.- Gnarpe, H. Friberg, J. 1972 *Mycoplasma* and human reproductive failure. I the occurrence of different *Mycoplasmas* in couples with reproductive failure. *Am. J. Obstet Gynecol.* 114:127.
- 14.- Gnarpe, H. Friberg, J. 1973 *T-Mycoplasmas* as a possible causa for reproductive failure. *Nature* 242:120.
- 15.- Graber, CD. Creticos, P. Valincenti, J. Williamson, HO. 1979 *T-Mycoplasma* in human reproductive failure. *Obtet Gynecol.* 54:558.
- 16.- Gump, DW. Gibson, M. Ashikaqa, T. 1984 Lack of association between genital *Mycoplasmas* and infertility. *N. Engl. Med.* 318:937.
- 17.- Horne, HW. Hertig, AT. Kundsia, RB. Kosasa, TB. 1973 Sub-clinical endometrial inflammation and *T-Mycoplasma*. *Int. J. Fertil.* 18:126.
- 18.- Idriss, WM. Patton, WC. Taymor, ML. 1978 On the etiologic role of *Ureaplasma urealyticum* (*T-Mycoplasma*) infection in infertility. *Fertil Steril.* 30:293.
- 19.- Jawetz, E. Melnick, J. Adelberg, AE. *Microbiología Medica* Ed. El manual moderno. 12a. ed. México. 1987. p. 287.

- 20.- Koneman, EW. Allen, SD. Dowell, VR. Sommers, HM. 1989
 Diagnóstico Microbiológico. Ed. Médica Panamericana.
 México. p.201
- 21.- Kundsín, RB. Driscoll, SG. 1970 the role of
Mycoplasma in human reproductive failure. Ann. NY.
 Acad. Sci. 174:794.
- 22.- Lumpkin, T. 1988 *Mycoplasma* e infertilidad.
 Infectología. 1(2):9.
- 23.- Manual Bioxon (Medios de cultivo y Reactivos de
 Diagnóstico). Bioxon de México, S.A. de C.V. 1989.
- 24.- Matthews, CD. Elmsie, RG. Clapp, KH. Svigos, JM. 1975
 The Frecuency of genital *Mycoplasma* infection in human
 fertility. Fertil Steril. 26:988.
- 25.- Mc Cormack, WM. Braun, P. Lee, YH. Klein, JO. y Kass,
 EH. 1973 The genital *Mycoplasmas*. N. Engl. J. Med.
 288:78.
- 26.- Méndez, O. Ginecología y Obstetricia. 2a. ed.H.G.O.
 Núm.3.I.M.S.S. México 1980 p.919.
- 27.- Moghissi, KS. 1976 Postcoital test: physiologic
 basis,technique and interpretation. Fertil Steril.
 27:117.
- 28.- Moller, BR. Taylor, F. Furr, P. Toft, B. y Allen, J.
 1985 Serological evidence that *Chlamydia* and
Mycoplasma are involved in infertility of women. J.
 Reprod. Fert. 73:237.
- 29.- Rehewy, MSE. Jaszczak, S. Hafez, ESE. Thomas, A.
 Brown, WJ. 1978 *Ureaplasma urealyticum* (*T-Mycoplasma*)
 in vaginal fluid and cervical mucus from fertile and
 infertile women. Fertil Steril. 30:297.
- 30.- Rosas, AJ. Nava, FJ. Toca, PL. et al. 1990
 Identificacionde *Chlamydia trachomatis* del
 endometrio de pacientes esteriles mediante anticuerpos
 monoclonales. Rev. LAT. Fertil Steril. 4:21.

- 31.- Rottem, Ea. Hayflick, L. 1971 Sterol requeriment of T-strain *Mycoplasma*. J. Bacteriol. 105(1):323.
- 32.- Sosa, MS. Casasola, J y Nava. 1982 Estudio comparativo de dos medios de cultivo para el aislamiento de *Mycoplasmas*. Asociación de investigación Pediátrica A.C. México LIV Reunión Reclamataria.
- 33.- Speroff, L. Glass, RH. Kase, NC. Endocrinology and infertility. 3a. ed. Baltimore. Williams y Wilkins. 1983. p.469
- 34.- Styler. M. Shapiro. SS. 1985 *Mollicutes* (*Mycoplasma* in infertility. Fertil Steril. 44:1.
- 35.- Swenson, CE. O'Leary, WM. 1978 An Animal model for the study of infectious human infertility. Fertil Steril. 29:462.
- 36.- Toth, A. Lesser, ML. 1982 *Ureaplasma urealyticum* and infertility: the effect of different antibiotic regimens on the semen quality. J. Urol. 128:705.
- 37.- Toth, A. Martin, LL. Brooks, C. Labriola, D. 1983 Subsequent pregnancies among 161 couples treated for T- *Mycoplasma* genital tract infection. N. Engl. J. Med. 308:505.
- 38.- Toth, A. Swenson, CE. O'Leary, WM. 1978 Light microscopy as an aid in predicting *Ureaplasma* infection in human semen. Fertil Steril. 30:586.
- 39.- Uresti, AN. Biología de la reproducción. Hospital de Gineco Obstetricia#3 C.M. La Raza del I.M.S.S. 1989 (comunicación personal).
- 40.- Upadhyaya, M. Hibbard, BM. Walker, SM. 1983 The role of *Mycoplasmas* in reproduction. Fertil Steril. 39:814.

APENDICE I.

MEDIO DE CULTIVO PARA MOLLICUTES (Transporte).

El medio de transporte fue diseñado y elaborado en el laboratorio de bacteriología del Hospital de Ginecología y Obstetricia Núm.3 del Centro Médico la raza del I.M.S.S. y probado en el departamento de virología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" de la S.S.A. bajo la responsabilidad del Dr. Jesús Casasola.

En el caso de los medios de cultivo para *Mycoplasma hominis* como *Ureaplasma urealyticum* se contó con la valiosa ayuda del doctor L. Fillov del departamento de bacteriología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" de la S.S.A. El crecimiento en los medios de cultivo de ambos microorganismos fue confirmado por el doctor Jesús Casasola del hospital antes mencionado.

MEDIO DE CULTIVO PARA MOLLICUTES (Transportes).

Parte Núm.1

Medio PPLO (caldo).....	2.1g
Extracto de levadura.....	2.5g
Agua destilada.....	70mL

Esta primera parte se esterilizó a 121°C.15 libras de presión por 15 minutos.

Parte Núm.2

Glucosa al 50%.....	25mL
Suero fetal.....	3mL
Penicilina sódica (100.000 u).....	1mL
Estreptomicina (100.000 u).....	1mL

La glucosa al 50% se esterilizó a 110°C.8 libras de presión por 10 minutos.en tanto que el suero fetal era descongelado a temperatura ambiente.

En una área estéril se procedió a combinar con la primera parte los 3mL del suero fetal,el cual fue vertido al medio con la ayuda de una jeringa estéril,la glucosa fue medida con una pipeta previamente esterilizada y vaciada al medio de transporte,finalmente se agregó la penicilina y la estreptomicina.concluido esto se procedió a guardar el medio en tubos de tapón de rosca estériles 3mL en cada tubo,y puestos en refrigeración hasta su posterior utilización.

MEDIO DE CULTIVO PARA:

Mycoplasma hominis

y

Ureaplasma urealyticum

Parte Núm.1

Medio PFLD agar.....	3.5g
Extracto de levadura.....	2.5g
L-Cisteína.....	7.7g
Agua destilada.....	70mL

La primera parte se esterilizó a 121°C, 15 libras de presión por 15 minutos.

Parte Núm.2

Glucosa al 50%.....	25mL
Suero fetal.....	3mL
Penicilina sódica (100,000 u).....	1mL
Estreptomicina (100,000 u).....	1mL

La glucosa al 50% se esterilizó a 110°C, 8 libras de presión por 10 minutos, en tanto que el suero fetal se descongeló a temperatura ambiente. El procedimiento para este medio es el mismo que en el medio de transporte, a diferencia de que estos medios son vertidos en cajas de Petri de 10x60mm y conservadas en refrigeración.

En el caso del medio para *Ureaplasma urealyticum* cambia la L-Cisteína por urea (5.0g) y la esterilización se realizó a 110°C, 8 Lb. por 10 minutos.

A P E N D I C E I I .

Agar Biggy

Es útil en el aislamiento y la identificación presuntiva de *Cándida* por medio de la reacción de sulfuro.

Citrato de amonio y bismuto.....	5.0g
Sulfito de sodio.....	3.0g
Dextrosa.....	10.0g
Glicina.....	10.0g
Extracto de levadura.....	1.0g
Agar.....	16.0g
pH final 6.8 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 45g del medio deshidratado en 1 litro de agua destilada. Remojar de 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente y hervir durante no más de un minuto. Dejar enfriar a 45-50°C. Se agita circularmente y se vacía en placas de Petri estériles, utilizando aproximadamente 20mL para cada placa. No esterilizar en autoclave.

Agar Citrato de Simmons

Se usa para diferenciar bacterias entéricas gramnegativas basándose en la utilización del citrato.

Fosfato Dihidrogenado de Amonio.....	1.00g
Fosfato Dipotásico.....	1.00g
Cloruro de sodio.....	5.00g
Citrato de sodio.....	2.00g
Sulfato de Magnesio.....	0.20g
Agar.....	15.00g
Azúl de Bromotimol.....	0.08g
pH final 6.9 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 24.2g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar hasta completa disolución. Distribuir volúmenes de 3ml en tubos de 3x100mm. Esterilizar a 121°C, 15Lb de presión por 15 minutos, se deja enfriar en posición inclinada.

Agar de hierro de Kliqler.

El agar de hierro de Kliqler es un medio para diferenciar bacilos entéricos gramnegativos, y se basa en las propiedades de fermentar la glucosa y lactosa junto con la formación de sulfuros.

Mezcla de peptonas.....	20.0g
Lactosa.....	10.0g
Dextrosa.....	1.0g
Cloruro de Sodio.....	5.0g
Citrato de Amonio Férrico.....	0.5g
Tiosulfato de Sodio.....	0.5g
Agar.....	15.0g
Rojo de Fenol.....	0.025g
pH final 7.4 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 52g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar agitando frecuentemente hasta ebullición. Distribuir volúmenes de 3mL en tubos de 13x100mm. Esterilizar a 121°C (15 libras de presión) durante 15 minutos. Los tubos se dejan enfriar en posición inclinada de manera que el medio de cultivo en el fondo del tubo alcance una profundidad de 1.5 a 2.0 cm.

Agar de Mac Donkev.

Medio empleado ampliamente para aislar e identificar selectivamente a enterobacterias como *Salmonellas*, *Shigellas* y coliformes a partir de heces fecales, orinas, aguas negras y diversos alimentos.

Peptona de gelatina	17.0g
Mezclas de peptonas	3.0g
Lactosa	10.0g
Mezcla de sales Biliares	1.5g
Cloruro de sodio	5.0g
Agar	13.5g
Rojo Neutro	0.03g
Cristal Violeta	0.001g
pH final 7.1 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 50g en un litro de agua destilada, calentar a ebullición agitando continuamente. Hervir un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 Lb), durante 15 minutos. Enfriar a 45-50°C y vaciar en cajas de Petri unos 20 ml por placa. Dejar solidificar y luego invertir las cajas para evitar que se deposite un exceso de humedad en la superficie del medio.

Agar de Maltosa Sabouraud

Por contener maltosa en su fórmula se prefiere para el estudio de mohos.

Mezcla de peptonas	10.0g
Maltosa	40.0g
Agar	15.0g
pH final 5.6 +/- 0.2	

Agar de Mueller Hinton.

Se recomienda para el aislamiento y desarrollo de **gonococos** y **meningococos** y en pruebas de sensibilidad (antibiogramas).

Infusión de Carnes de Res	300.0g
Peptona de Caseína Ácida	17.5g
Almidón	1.5g
Agar	17.0g
pH final 7.4 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 38g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien agitando frecuentemente. Hervir durante un minuto y esterilizar a 121°C (15 lb de presión por un tiempo no mayor de 15 minutos. Enfriar a 40-45°C y vaciar en cajas de Petri.

Agar de Sal y Manitol.

Medio empleado para aislar estafilococos patógenos de materiales clínicos diversos. En la industria alimenticia se utiliza con los mismos fines.

Extracto de Carne	1.0g
Mezcla de Peptonas	10.0g
Cloruro de Sodio	75.0g
D-Manitol	10.0g
Agar	15.0g
Rojo de Fenol	0.025g
pH final 7.4 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 111g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien y calentar a ebullición durante un minuto. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Vaciar en cajas Petri.

Base de Agar GC.

Diseñada especialmente para aislar Neisserias patógenas, gonococo y meningococo cuando se le agrega hemoglobina, antimicrobianos y factores de crecimiento. Este medio constituye la base del de Thayer Martin y del "Transgrow" (Transporte y desarrollo).

Mezcla de Peptonas	15.0g
Almidón de Maíz	1.0g
Fosfato Dipotásico	4.0g
Fosfato Monopotásico	1.0g
Cloruro de Sodio	5.0g
Agar	10.0g
pH final 7.2 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 7.2g del medio deshidratado en 100 ml de agua destilada. Calentar agitando con frecuencia y hervir durante un minuto. Al mismo tiempo y en otro matraz suspender y disolver 2.0g de hemoglobina en 100 ml de agua destilada esterilizar ambos preparados (la base y la suspensión uniforme de hemoglobina) en el autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. Enfriar ambas soluciones a 50°C. Vaciar la hemoglobina a la Base GC y mezclar bien. Agregar al producto achocolatado 2.0 ml de la mezcla antimicrobiana VCN más 2.0 ml del polienricuencimiento Bioxon.

Mezclar perfectamente evitando la formación de burbujas y vaciar en cajas de Petri, o en tubos de 20X150 mm con tapa de rosca. Dejar que solidifiquen en posición inclinada. Lo anterior constituye el medio de Thayer Martin.

Base de Agar Sangre con Azida.

La base de Agar Sangre con Azida es un medio selectivo para aislar estreptococos. Puede ser usado solo o con adición de sangre.

Mezcla de Peptonas	10.0g
Extracto de Carne	3.0g
Cloruro de Sodio	5.0g
Azida Sódica	0.2g
Agar	15.0g
pH Final 7.2 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 33 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Mezclar bien. Cuando se obtenga una suspensión uniforme, calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos. La azida sódica inhibe los microorganismos Gramnegativos.

Si las placas de aislamiento se preparan con sangre puede estudiarse simultáneamente las reacciones hemolíticas al añadir al medio básico un 5% de sangre desfibrinada de carnero preferiblemente.

Caldo Urea.

El Caldo Urea se emplea para la identificación de bacterias, particularmente para diferenciar los miembros del género *Proteus* de la *Salmonella* y *Shigella*.

Urea	20.00g
Fosfato Monopotásico	9.10g
Fosfato de Sodio	9.50g
Extracto de Levadura	0.10g
Rojo de Fenol	0.01g
pH final 6.8 +/- 0.2	

Preparación: Disolver 3.87 g del medio deshidratado en 100 ml de agua destilada sin calentar; cuando el polvo se haya disuelto, pasar a través de un filtro bacteriológico estéril. Distribuir en pequeños tubos estériles en cantidades de 0.5 a 2 ml se puede esterilizar el medio en autoclave a 8 lb de presión, durante 20 minutos.

Medio MIO.

El medio MIO se utiliza para la identificación de enterobacterias sobre la base de movilidad, la producción de ornitina descarboxilasa y de indol.

Extracto de levadura	3.0g
Peptona de Gelatina	10.0g
Peptona de Caseína	10.0g
L-Ornitina	5.0g
Dextrosa	1.0g
Agar	2.0g
Purpura de Bromocresol	0.02g
pH final 6.5 +/- 0.2	

Preparación: Disolver 31 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada. Calentar hasta ebullición. Distribuir y esterilizar en autoclave a 121°C (15 lb de presión) durante 15 minutos.

Medio SIM.

Es un medio semisólido usado en la diferenciación e identificación de cultivos puros de Enterobacterias y que detecta la producción de sulfuros, indol y movilidad de las mismas.

Peptona de Caseína	20.0g
Peptona de Carne	6.1g
Sulfato de Hierro y Amonio	0.2g
Tiosulfato de Sodio	0.2g
Acar	3.5g
pH final 7.3 +/- 0.2	

Preparación: Suspender 30 g del medio deshidratado en un litro de agua destilada, agitando frecuentemente. Remojar durante 10 minutos y hervir a ebullición durante un minuto. Distribuir en tubos de ensayo a una altura de unos 4 cm y esterilizar en autoclave a 121°C, (15 lb de presión) durante 15 minutos. Manual Bioxon 1989.

PRUEBA DE LA COAGULASA.

- 1.- Colocar una gota de agua destilada o solución fisiológica estéril sobre un portaobjetos.
- 2.- Emulsionar suavemente una suspensión del organismo en estudio en la gota de agua utilizando un asa o una varilla.
- 3.- Colocar una gota del plasma reconstituido junto a la gota de la suspensión bacteriana. Mezclarlas bien.

- 4.- Inclinar el portaobjeto hacia uno u otro lado, observando la formación inmediata de un precipitado granular o grumos blancos.

PRUEBA EN TUBOS (Coagulasa libre).

- 1.- Colocar asepticamente 0.5 ml de plasma de conejo reconstituido en el fondo de un tubo estéril.
- 2.- Añadir 0.5 ml de un cultivo puro de 18 a 24 horas en caldo del organismo por investigar.
- 3.- Mezclar por rotación suave del tubo, evitando remover o agitar el contenido.
- 4.- Colocar el tubo en un baño de agua a 37°C. Observar la formación de un coágulo visible.

PRUEBA DE LA CATALASA.

La prueba de la Catalasa, llevada a cabo en portaobjeto o en tubos, es muy comunmente utilizada para diferenciar estreptococos (positivos), de estafilococos (negativos) o especies de bacilos Grampositivos de microbacterias.

Prueba en portaobjetos.

- 1.- Con una aguja de punción o un palillo aplicador con la punta aguzada transferir células del centro de una colonia bien aislada a la superficie de un portaobjeto.
- 2.- Añadir 1 o 2 gotas de peróxido de hidrógeno al 3% (diluir la solución al 30% con agua destilada). Se recomienda no añadir el organismo al reactivo (inviertiendo el orden), especialmente si se utilizan agujas o asas que contienen hierro, ya que se pueden producir resultados falsos positivos.

Método en tubos o placas de Agar.

- 1.- Diluir 1:10 el peróxido de hidrógeno al 30% en agua destilada para obtener una solución al 3%.
- 2.- Añadir unas gotas (aproximadamente 1 ml) del peróxido de hidrógeno al 3% directamente sobre la superficie del desarrollo de una placa o pico de agar.

COLORACION DE GRAM.

- 1.- Coloración primaria con cristal violeta, que suele contener un mordiente como oxalato amónico.
- 2.- Aplicación de solución yodurada diluida de Lugol.
- 3.- Decoloración casi siempre con alcohol etílico de 95 por 100.
- 4.- Coloración de contraste con otro colorante, generalmente safranina.

Tipando las bacterias con este método se puede separar en dos grupos: las grampositivas que conservan el colorante primario y presentan color violeta oscuro; las gramnegativas que se decoloran y quedan ligeramente teñidas por la coloración de contraste, rosada en el caso de la safranina. (Davis, 1985).