

Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen 51
Volume

Número 1
Number

Enero-Marzo 2004
January-March

Artículo:

Prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en mujeres

Derechos reservados, Copyright © 2004:
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Edigraphic.com

Prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en mujeres

Palabras clave: *Ureaplasma urealyticum*, aislamiento, prevalencia, mujeres.

Key words: *Ureaplasma urealyticum*, isolation, prevalence, women's.

Recibido: 4/12/2003
Aceptado: 9/01/2004

José Antonio Rivera Tapia,* Margarita Centeno Torres,** Ma. del Rayo Santellan Olea,*** Nadia Rodríguez Preval****

- * Laboratorio de Micoplasmas del Centro de Investigaciones Microbiológicas, Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.
- ** Laboratorio de Microbiología Clínica del Hospital Universitario de Puebla.
- *** Laboratorio de Bacteriología Médica de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.
- **** Laboratorio Nacional de Micoplasmas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". Ciudad de la Habana, Cuba.

Correspondencia:

M. en C. José Antonio Rivera Tapia.
Centro de Investigaciones Microbiológicas del ICBUAP. Edificio 76
Complejo de Ciencias, Ciudad Universitaria. C.P. 72570, Puebla, Pue., México.
E-mail:jart70@yahoo.com

33

Resumen

Diversos estudios indican que la colonización vaginal con *Ureaplasma urealyticum* puede estar asociada con el desarrollo de vaginosis bacteriana, enfermedad inflamatoria pélvica, septicemia post-parto y ruptura prematura de membranas. *Ureaplasma urealyticum* presenta una prevalencia de colonización de 40 a 80% en el tracto genital bajo en mujeres embarazadas. Es cierto que 80% de mujeres pueden ser colonizadas con este microorganismo, pero sólo una pequeña proporción de estas mujeres desarrollan corioamnionitis. *Ureaplasma urealyticum* fue aislado en 31% del total de las muestras. Por medio de la técnica de PCR se detectó, en 42% de las muestras, el producto de amplificación (429 pb) que permite identificar la presencia de *Ureaplasma urealyticum*.

Summary

Several studies in women have indicated that vaginal colonization with *Ureaplasma urealyticum* can be associated with an increased risk of developing bacterial vaginosis, pelvic inflammatory disease and post-partum septicemia. Premature rupture of membranes and preterm labour and birth have also been associated with these bacteria. *Ureaplasma urealyticum* is a prevalent (40 to 80%) colonizer of the lower genital tract of pregnant women. While up to 80% of women may be colonized with *Ureaplasma urealyticum*, only a small proportion of these women develop chorioamnionitis. *Ureaplasma urealyticum* was isolated in 31% of the total samples. PCR detected in a 42% of the samples the amplification product (429 bp) that allows to identify the presence of *Ureaplasma urealyticum*.

Introducción

Los micoplasmas son un grupo de bacterias caracterizadas por un reducido tamaño celular

(0.3 a 0.8 μm), por la ausencia de pared celular y un genoma pequeño (570 a 2200 pb).¹

Diversos estudios en mujeres indican que la colonización con *Mycoplasma hominis* y *Ureaplas-*

ma urealyticum puede favorecer el desarrollo de vaginosis bacteriana, enfermedad inflamatoria pélvica y septicemia posparto.²⁻⁶ Además estos microorganismos se han asociado con corioamniotitis, uretritis, cervicitis y cistitis.⁷

Ureaplasma urealyticum puede ser adquirido por los neonatos en el útero,⁸ o por transmisión vertical durante el nacimiento,⁹⁻¹¹ y puede llegar a causar neumonía, hipertensión pulmonar, enfermedad pulmonar crónica y meningitis en los recién nacidos.¹²⁻¹⁶ En adultos, este microorganismo se adquiere por transmisión sexual, y su presencia en semen se relaciona con infertilidad.¹⁷⁻¹⁸

Además se ha establecido que en pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH-1) existen alteraciones de las células T y la disminución de linfocitos CD4⁺ favoreciendo que en las etapas más avanzadas de la enfermedad la frecuencia de infecciones oportunistas se presenten,¹⁹⁻²² destacando entre éstas la causada por *Ureaplasma urealyticum*.

El objetivo de este trabajo es conocer la prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en una población que asiste a consulta en el Hospital Universitario de Puebla (HUP).

34

Material y métodos

Material biológico

Durante el periodo de octubre de 2002 a marzo de 2003 se obtuvieron 250 muestras de exudados vaginales en el laboratorio de Microbiología Clínica del HUP. Las muestras procedieron de pacientes mayores de 20 años, VIH-1 negativas y que no fueran sexoservidoras.

Medio de cultivo

Caldo urea (2 gramos de base para micoplasmas, 0.75 mL de rojo de fenol, 65 mL de agua destilada, 10 mL de dializado de levadura, 0.1 gramo de penicilina, 5 mL de urea al 10%, 25 mL de suero de

caballo). Para preparar el agar urea se omite el rojo de fenol, y se adicionan 1.3 gramos de agar bacteriológico.

Procesamiento de las muestras

Cada una de las muestras fueron resuspendidas en 2 mL de caldo urea para el aislamiento de *Ureaplasma urealyticum*, incubándose a 37° C hasta presentarse el vire del indicador de pH. A continuación se realizaron resiembras de 5 µL en agar urea, incubándose a 37° C de 24 a 48 horas, con la finalidad de confirmar su aislamiento. Al total de las muestras (n = 250) se les realizó la técnica de PCR para confirmar los aislamientos.

Extracción de ADN

250 µL de cada muestra se centrifugaron a 16,000 rpm durante 20 minutos a 4° C. El botón resultante se resuspendió en 50 µL de solución A (10 mM Tris HCl pH 8.3, 100 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂) y 50 µL de solución B (10 mM Tris HCl pH 8.3, 2.5 mM MgCl₂, 1% Tween 20, 1% Triton X-100) y 120 µg de proteinasa K por mililitro, se incubó 1 hora a 60° C, enseguida se llevó a 4° C por 10 minutos y se transfirió a 4° C. Se incluyó también un cultivo control de *Ureaplasma urealyticum*. Cinco µL de cada muestra se utilizaron para la amplificación por PCR.

Iniciadores

Los iniciadores (primers) utilizados para la amplificación son descritos por Blanchard²³ y éstos amplifican un fragmento de 429 pb del gen de la ureasa. La secuencia de los iniciadores son: U5 (5' CAA TCT GCT CGT GAA GTA TTA C 3') y U4 (5' ACG ACG TCC ATA AGC AAC T 3').

Amplificación de la muestra

Las muestras se amplificaron en un termociclador programable (mini Cycler MJ Research, Inc. Water-

town. MA., USA). La mezcla de reacción contiene 10 mM Tris-HCl pH 8.5, 200 μ M de cada dNTP's, 50 mM de KCl, 3.5 mM de MgCl₂, 2.5 U de enzima Taq polimerasa, 0.3 μ M de cada iniciador (Gibco BRL) y una gota de aceite mineral estéril, para un volumen final de muestra de 50 μ L.

Electroforesis en gel de agarosa

20 μ L de cada muestra amplificada se analizaron en un gel de agarosa al 1%, conteniendo 5 μ g de bromuro de etidio por mililitro, el corrimiento electroforético se realizó a 70 volts durante 1.5 horas y la presencia de ADN fue revelada con una lámpara de luz ultravioleta.

Resultados y discusión

Del total de las muestras de exudados vaginales se aisló en 77/250 (31%) a *Ureaplasma urealyticum*. Este porcentaje de aislamiento es comparable con las incidencias previamente reportadas en otros países, siendo de 30 a 85% para *Ureaplasma urealyticum*.^{24,25}

Para fines prácticos en el diagnóstico clínico de *Ureaplasma urealyticum* se observó que en caldo urea se aisló en 49/77 (63%) y en agar urea 77/77

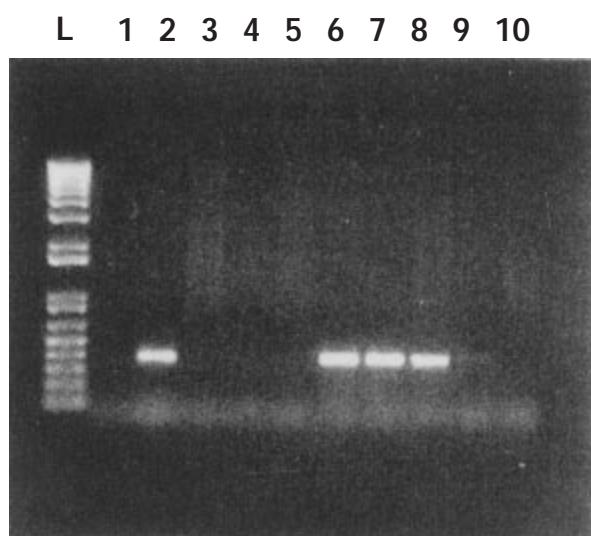


Figura 1. Aislamiento de *Ureaplasma urealyticum* en agar urea a partir de las muestras positivas de los exudados vaginales, se observan las colonias características en forma de "huevo frito" (escala de la barra 0.5 mm).

(100%), lo anterior está condicionado a la ventaja que se le proporciona al microorganismo en un medio líquido, favoreciendo así su reproducción, lo cual se confirmó en agar urea (figura 1).

Por medio de la técnica de PCR se detectó en 106/250 (42%) de las muestras el producto de amplificación (429 pb) que permite identificar la presencia de *Ureaplasma urealyticum* (figura 2).

Es importante señalar que los cultivos, tanto líquidos como sólidos, tienden a contaminarse con la propia flora que acompaña al exudado, propiciando que no se puedan obtener los aislados en su totalidad, sin embargo con la prueba de PCR fueron positivas varias muestras que en caldo y agar urea fueron negativas. Por lo anterior se sugiere adicionar a los medios de cultivo el inhibidor VCN (vancomicina 330 mg, colistin 750 mg, nistalina 1,250 unidades), para favorecer su aislamiento y



35

Figura 2. Electroforesis en gel de agarosa de los productos amplificados a partir de los extractos de ADN de las cepas aisladas a partir de los exudados vaginales. (L) marcador de peso molecular de 1,000 pares de bases, (1) control negativo, (2) control positivo del producto específico de 429 pb amplificado a partir de la cepa de referencia de *Ureaplasma urealyticum*, (3-5) muestras negativas a la amplificación en exudados vaginales, (6-8) muestras positivas al producto específico amplificado a partir de cultivos positivos a *Ureaplasma urealyticum* en exudados vaginales, (9-10) muestras negativas a la amplificación en exudados vaginales.

así poder realizar estudios posteriores con estas cepas aisladas.²⁶

En algunos estudios se ha observado que la técnica de PCR puede carecer de sensibilidad, y eso puede ser debido a la presencia de substancias inhibidoras en las muestras o que la cantidad sea < 10² microorganismos/mL.²³

Conclusión

Debido a la importancia médica que tiene *Ureaplasma urealyticum* respecto a los efectos negativos que puede producir, tanto en mujeres embarazadas como en los neonatos, y su asociación con microorganismos potencialmente patógenos o patógenos, se sugiere que en la práctica clínica se considere, en nuestro medio, como agente causal de enfermedad o cofactor que explica la causa de diversas enfermedades y por tanto solicitar su diagnóstico de forma rutinaria, principalmente cuando se inicia un seguimiento durante el embarazo.

36

Referencias

1. Razin S, Yoge D, Naot Y. Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62: 1094-1156.
2. Hill GB. Preterm birth: associations with genital and possibly oral microflora. *Ann Periodontol* 1998; 3: 222-232.
3. Holst E, Goffeng AR, Andersch B. Bacterial vaginosis and vaginal microorganisms in idiopathic premature labor and association with pregnancy outcome. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 176-186.
4. Krohn MA, Hillier SL, Nugent RP. The genital flora of women with intraamniotic infection. *J Infect Dis* 1995; 171: 1475-1480.
5. McDonald HM, O' Loughlin JA, Jolley PT, Vigneswaran R, McDonald PJ. Changes in vaginal flora during pregnancy and association with preterm birth. *J Infect Dis* 1994; 170: 724-728.
6. Taylor-Robinson D, Furr PM. Update on sexually transmitted mycoplasmas. *Lancet* 1998; 351 Suppl 3: 12-15.
7. Taylor-Robinson D. Genital mycoplasmas infections. *Clin Lab Med* 1989; 9: 501-523.
8. Quinn PA, Gillan JE, Markestad T, St. John MA, Daneman A, Lie Ki, Li HCS, Czegledy-Nagy E, Klein M. Intrauterine infection with *Ureaplasma urealyticum* as a cause of fatal neonatal pneumonia. *Pediatr Infection Dis J* 1985; 4: 538-543.
9. Abele-Horn M, Wolff C, Dressel P, Ptaff F, Zimmermann A. Association of *Ureaplasma urealyticum* biovars with clinical outcome for neonates, obstetric patients, and gynecological patients with pelvic inflammatory disease. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 1199-1202.
10. Grattard F, Soleilac B, De Barbeyrac B, Bebear C, Seffert P, Pozzetto B. Epidemiologic and molecular investigations of genital mycoplasmas from women and neonates at delivery. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 853-858.
11. Sanchez PA, Regan JA. Vertical transmission of *Ureaplasma urealyticum* in full term infants. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 825-828.
12. Waites KB, Crouse DT, Philips JB, Canupp KC, Cassell GH. Ureaplasma pneumonia and sepsis associated with persistent pulmonary hypertension of the newborn. *Pediatrics* 1989; 83: 79-85.
13. Cassell GH, Waites KB, Crouse DT, Rudd PT, Canupp KC, Stagno S, Cutler GR. Association of *Ureaplasma urealyticum* of the lower respiratory tract with chronic lung disease and death in very-low-birth weight infants. *Lancet* 1988; ii: 240-244.
14. Garland SM, Murton LJ. Neonatal meningitis caused by *Ureaplasma urealyticum*. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6: 868-870.
15. Waites KB, Rudd PT, Crouse DT, Canupp KC, Nelson KG, Ramsey C, Cassell GH. Chronic *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infections of the central nervous system in preterm infants. *Lancet* 1988; i: 17-21.
16. Rivera TJA, Santellan OR, Vega BM. *Ureaplasma urealyticum* en la enfermedad pulmonar crónica de neonatos pretermínos. *Rev Mex Pediatr* 2003; 70: 146-150.
17. Rechard M, Levi H, Kahane I, Bartov B. Dual energy metabolism-dependent effect of *Ureaplasma urealyticum* infection on sperm activity. *J Androl* 2001; 22: 404-412.
18. Rechard M, Kahane I, Bartov B. *In vivo* and *in vitro* impairment of human and ram sperm nuclear chromatin integrity by sexually transmitted *Ureaplasma urealyticum*. *Biol Reprod* 2000; 63: 1041-1048.
19. Fauci AS. Immunopathogenetic mechanisms in human immunodeficiency virus (HIV) infection. *Ann Intern Med* 1991; 114: 678-693.
20. Hawkins RE, Rickman LS, Vermund SH, Carl M. Association of mycoplasmas and human immunodeficiency virus infection: detection of amplified *Mycoplasma fermentans* DNA in blood. *J Infect Dis* 1992; 165: 581-585.
21. Lane HC. Qualitative analysis of immune function in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1985; 313: 79-84.
22. Levy JA. Human immunodeficiency viruses and the pathogenesis of AIDS. *JAMA* 1989; 261: 2997-3006.
23. Blanchard A, Hentschel J, Duffy L, Baldus K, Cassell GH. Detection of *Ureaplasma urealyticum* by polymerase chain reaction in the urogenital tract of adults, in amniotic fluid, and the respiratory tract of newborns. *Clin Infect Dis* 1993; 17: Suppl 1: 148-153.
24. Samra Z, Soffer Y, Pansky M. Prevalence of genital *Chlamydia* and mycoplasma infection in couples attending a male infertility clinic. *Eur J Epidemiol* 1994; 10: 69-73.
25. Trum JW, Mol BWJ, Pannckock Y. Value of detecting leukocytospermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men. *Fertil Steril* 1998; 70: 315-319.
26. Rivera TJA, Romero AO, Santellan OR, Román MC. Viabilidad de micoplasmas de interés médico en presencia de diferentes antibióticos. *Rev Fac Med UNAM* 2003; 46: 97-100.