

Aislamiento de mollicutes en faringe y tracto urogenital

Dulce Melina Mayo Camacho*,
Edwin Barrios Villa**,
Roberto Ruiz Arenas**,
Lilia Cedillo Ramírez***,
José Antonio Rivera Tapia****

Mollicutes isolated in pharyngeal and urogenital tract

Fecha de aceptación: enero 2009

Resumen

Objetivo. Conocer el porcentaje de aislamientos de mollicutes en faringe y tracto urogenital en una población determinada de individuos procedentes de la ciudad de Puebla, México.

Material y métodos. Durante el periodo de noviembre de 2007 a mayo de 2008 se obtuvieron 291 muestras de exudados (vaginales, vulvares, uretrales y faríngeos). Las muestras se procesaron en medios específicos para mollicutes. Las muestras en agar se supervisaron por microscopía estereoscópica con la finalidad de corroborar el crecimiento característico de los mollicutes.

Resultados. De las 291 muestras, 188 (64.6%) fueron positivas a micoplasmas y ureaplasmas. De estas 188 muestras, 55 (29.25%) resultaron positivas a micoplasmas, 53 (28.19%) positivas a ureaplasmas y, para ambos mollicutes, 80 (42.5%) fueron positivas.

Conclusiones. El porcentaje de aislamientos de mollicutes obtenidos es similar al de los datos referidos por otros autores, lo cual sugiere que conviene considerar su diagnóstico de forma rutinaria en la clínica diaria, pues ha sido ampliamente documentada su participación como agentes etiológicos en diversos padecimientos.

Palabras clave: *Diagnóstico, muestras clínicas, mollicutes, micoplasma, ureaplasma.*

Abstract

Objective. To know the isolations percentage of mollicutes in pharyngeal and urogenital tract in a population of patients from Puebla city, Mexico.

Material and methods. During the period of November 2007 to May 2008, 291 samples were obtained from different anatomic sites (vagina, vulva, urethra and pharyngeal) in a population of patients from Puebla city. The samples were processed in specific mollicutes broth. Agar samples were monitored by stereoscopic microscopy in order to corroborate the characteristic growth of mollicutes.

Results. From the 291 samples, 188 (64.6%) were positive to mycoplasmas and ureaplasmas. From these 188 samples, 55 (29.25%) were positive to mycoplasmas, 53 (28.19%) positive to ureaplasmas and for both mollicutes 80 (42.5%) were positive.

Conclusion. The percentage of obtained isolations of mollicutes corroborates with the data referred by other authors, which suggests the convenience to consider its diagnosis of routine, due to their widely documented participation in diverse sufferings as aetiologic agents.

Keywords: *Diagnosis, clinical samples, mollicutes, mycoplasma, ureaplasma.*

* Escuela de Biología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

** Laboratorios "Exakta" de Puebla.

*** Centro de Investigaciones Microbiológicas del Instituto de Ciencias de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Correspondencia: M. en C. José Antonio Rivera Tapia.

Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas, Instituto de Ciencias. Edificio 103-J. Ciudad Universitaria. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. CP. 72570, Puebla, México.

Correo electrónico: jart70@yahoo.com

Introducción

Los mollicutes son los microorganismos más pequeños de vida libre. Las colonias presentan un centro denso debido al crecimiento dentro del agar y crecimiento poco denso en las zonas periféricas, con un diámetro de 300 μm ; requieren un medio de cultivo rico con ácidos nucleicos precursores. Los mollicutes son los organismos autorreplicativos más pequeños en términos de dimensiones celulares y tamaño del genoma, el cual varía entre 570 y 2200 pb; sus limitados mecanismos biosintéticos son responsables de muchas de sus características biológicas y de sus complejos requerimientos para el crecimiento en medios de cultivo *in vitro*. Estos microorganismos no sintetizan peptidoglucano y la carencia de una pared celular confiere a las células un pleomorfismo que impide la tinción por Gram y les otorga una resistencia intrínseca a algunas familias de antibióticos. Además, son susceptibles a la deshidratación, por lo que están limitados a una existencia parasitaria en asociación con otras células eucariotas de sus huéspedes; por otro lado, no es posible clasificarlos como cocos o bacilos.¹

Los géneros micoplasma y ureaplasma en asociación predominan en los tractos respiratorio y urogenital: muy pocas veces penetran en la submucosa, excepto en caso de inmunosupresión.²

Mycoplasma hominis y *Ureaplasma urealyticum* se han registrado como flora comensal en 40% de la población humana asintomática y en ciertas circunstancias. Estos organismos se multiplican considerablemente y se han aislado con frecuencia en pacientes con cervicitis, sepsis, neumonía, meningitis y artritis séptica, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginosis, prostatitis, pielonefritis, cálculos renales e infertilidad, y también en patologías obstétricas, como nacimientos prematuros, ruptura prematura de las membranas, abortos, corioamnionitis, fiebre postparto e infecciones neonatales.³⁻⁷ Estos microorganismos se han encontrado en estudios de autopsia, en vísceras y cerebros de niños recién nacidos, de los que 50% presentaba malformaciones congénitas. Unos informes sugieren que ureaplasma ejerce efectos teratogénicos en la etapa fetal y otros estudios indican que es posible asociar la colonización por *Ureaplasma urealyticum* en la superficie coriónica de la placenta, con la morbilidad y mortalidad perinatal, con nacimientos prematuros y con el desarrollo de enfermedad pulmonar crónica en infantes de bajo peso al nacer.^{8,9}

Aunque *Mycoplasma genitalium* se aisló por primera vez a partir de la zona urogenital humana, informes recientes describen la evidencia de que algunos ais-

lamientos de la garganta contienen este micoplasma e identifican la cavidad bucal humana como otro sitio de colonización.¹⁰ Los reportes analizados provienen de países europeos y de Estados Unidos, lo cual lleva a preguntarse por la frecuencia de aislamientos en países en vías de desarrollo, pues el factor socioeconómico desempeña un papel importante en la transmisión de microorganismos potencialmente patógenos. El objetivo del presente trabajo fue conocer el porcentaje de aislamientos de mollicutes en exudado faríngeo y urogenital en una población de pacientes provenientes de la ciudad de Puebla, México.

Material y métodos

De noviembre de 2007 a mayo de 2008 se obtuvieron 291 muestras de exudados genitales (vaginal y vulvares), uretrales y faríngeos en un laboratorio clínico del sector privado en Puebla, México. Las muestras provinieron de pacientes (desde recién nacidos hasta adultos mayores) que acudieron a examen microbiológico, sin que el médico solicitara la búsqueda de mollicutes. Se recabó el consentimiento del paciente para la toma de estas muestras. Cada hisopo con los exudados se resuspendió en 2 ml de caldo Eaton y caldo Urea; las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Se sembraron 5 μl de cada muestra en su respectivo agar Eaton y Urea durante los primeros tres días y se incubaron a 37 °C hasta 20 días. Las resiembras en agar se supervisaron por microscopía estereoscópica diariamente con la finalidad de corroborar el crecimiento característico de los mollicutes.

Resultados

De las 291 muestras, 188 (64.6%) fueron positivas a micoplasmas y ureaplasmas. De estas 188 muestras, 55 (29.25%) resultaron positivas a micoplasmas, 53 (28.19%) positivas a ureaplasmas y, para ambos mollicutes, 80 (42.5%) fueron positivas (cuadro 1). Una vez incubadas las muestras en los medios Eaton y Urea, presentasen o no el vire del indicador de metabolismo para mollicutes, se sembraron en sus respectivos medios sólidos, se obtuvo el aislamiento de micoplasma y ureaplasmas con crecimiento morfológico característico: colonias en forma de huevo frito, con un centro más denso respecto de la periferia (fotografía 1).

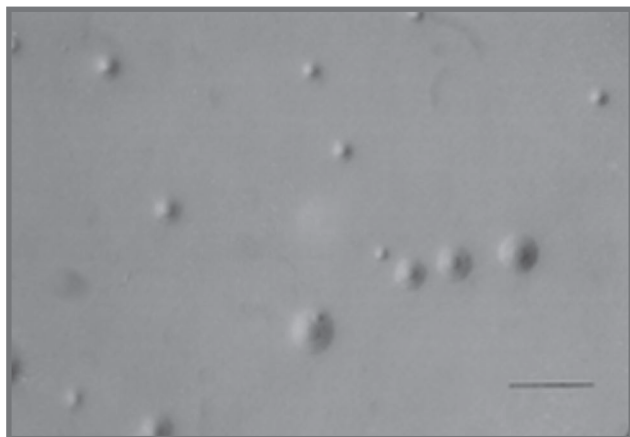
Cuadro 1
Cantidad y distribución de aislamientos de mollicutes
a partir del total de las muestras y sitios anatómicos

| | Micoplasma | Ambos | Ureaplasma |
|--------------------------|------------|-------|------------|
| Cultivo vaginal (n=134) | 32 | 26 | 30 |
| Cultivo faríngeo (n=115) | 20 | 20 | 38 |
| Cultivo vulvar (n=4) | 1 | 1 | 0 |
| Cultivo uretral (n=38) | 2 | 6 | 12 |

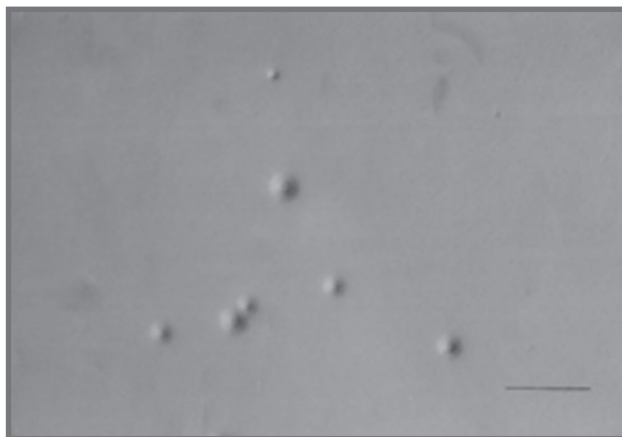
Fotografía 1

Aislamientos de micoplasmas por microscopía estereoscópica 20x (escala de la barra = 0.5 mm).
 Imágenes 1 a 3: crecimiento de micoplasmas en agar Eaton a partir de cultivos vaginales, faríngeos y uretrales,
 respectivamente. Imagen 4: crecimiento de ureaplasmas en agar Urea a partir de cultivos vulvares

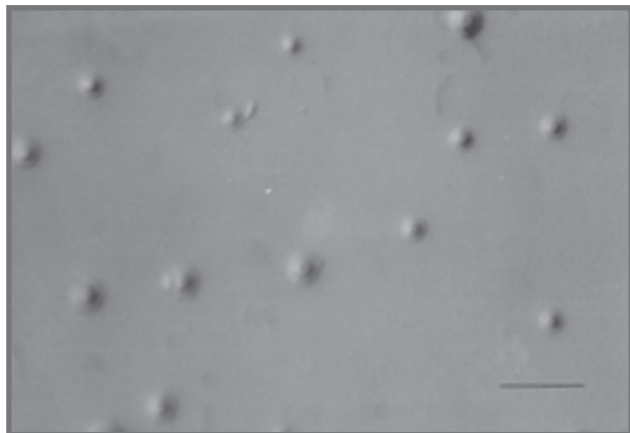
1.



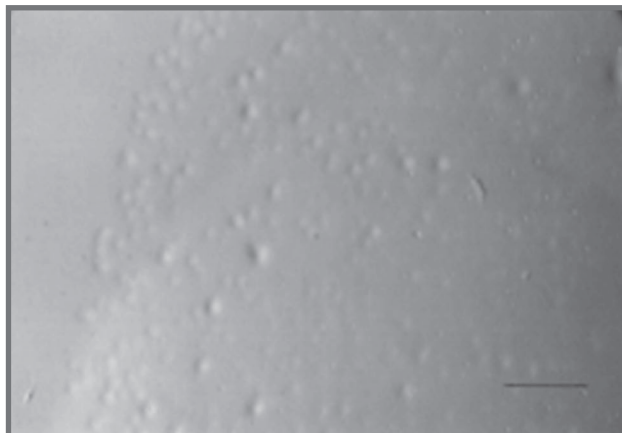
2.



3.



4.



Discusión

Los mollicutes tienen un papel importante en la práctica clínica, pues son agentes etiológicos de diversas enfermedades, en especial de los tractos genitourinario y respiratorio, así como en articulaciones.¹¹ Este trabajo es pertinente sobre todo en regiones geográficas donde hay poca información al respecto. De las 291 muestras obtenidas a partir de los exudados vaginales, vulvares, uretrales y faríngeos, 64.6% fue positivo a estos mollicutes, lo cual concuerda con lo reportado en otras regiones geográficas por Samra *et al.*, 1994, y Trum *et al.*, 1998.^{12, 13} El hecho de aislar con mayor frecuencia ambos mollicutes se explica porque la asociación entre ellos mismos y con otros microorganismos, favorece su interacción con las células hospederas e incluso con materiales inertes, como los dispositivos intrauterinos.¹⁴

La poca demanda para el diagnóstico de mollicutes, a pesar de que se relacionan con diferentes patologías, se debe al desconocimiento de su existencia por parte del médico, junto con el elevado costo por la mínima demanda. Por tal motivo, es necesario hacer hincapié en la importancia del diagnóstico de estos microorganismos. Los mollicutes participan en diversos padecimientos en el ser humano, como en tracto genitourinario, tracto respiratorio y articulaciones en general, sobre todo en mujeres embarazadas.¹⁵⁻²³ Su facilidad de asociarse con diferentes sitios anatómicos se debe a su capacidad de interactuar con las células hospederas gracias a mecanismos de adherencia a los tejidos por medio de la expresión de adhesinas (P1, P30, P40 y P90) en *Mycoplasma pneumoniae*, consideradas factores de virulencia. Estas estructuras condicionan la adherencia celular dirigida a epitelios de los tractos respiratorio y urogenital, iniciando un paso esencial en la colonización y subsiguiente patogénesis. Otros micoplasmas que presentan dicha propiedad son *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma genitalium* y *Mycoplasma penetrans*, y en ciertas condiciones pueden actuar como microorganismos intracelulares. Además, hay que considerar su ausencia de pared celular, lo que les protege de antibióticos que actúan en ese nivel; así como las especies de micoplasmas no fermentadoras, que utilizan arginina para la generación de ATP, lo que condiciona una pérdida en las reservas de las células hospederas al afectar su síntesis de proteínas, su división y su crecimiento, induciendo aberraciones cromosómicas como la translocación o la reducción del número de cromosomas. En el entendido de que las histonas son ricas en arginina, se sugiere que la utilización de este aminoácido por

los micoplasmas puede inhibir su síntesis debido a la alteración en los cromosomas.^{20,24}

Conclusión

Los porcentajes de aislamientos de mollicutes, tanto micoplasmas como ureaplasmas, obtenidos en este trabajo concuerdan con lo reportado en otras regiones geográficas, lo cual sugiere que es conveniente considerar su diagnóstico de forma rutinaria por parte de la clínica diaria, pues ha sido ampliamente documentada su participación como agentes etiológicos o cofactores en diferentes padecimientos del ser humano.

Bibliografía

1. Razin S, Yogev D, Naot Y. "Molecular biology and pathogenicity of mycoplasmas". *Microbiol Mol Biol Rev* 1998; 62:1094-1156.
2. Tully JG. "Current status of the Mollicutes flora of humans". *Clin Infect Dis* 1993; 17sSuppl. 1): 2-9.
3. Mardh PA. "*Mycoplasma hominis*: a neglected human pathogen". *Eur J Clin Microbiol* 1983; 2: 303-308.
4. Plummer DC, Garland SM, Gulbert GL. "Bacteraemia and pelvic infection in women due to *Ureaplasma urealyticum*". *Scand J Infection Dis* (suppl. 1) 1988; 53: 46-49.
5. Rivera JA, Centeno TM, Santellan OM, Rodríguez PN. "Prevalencia de *Ureaplasma urealyticum* en mujeres". *Rev Mex Patol Clin* 2004; 51: 33-36.
6. Guzman BS. "Nepomniashchaia EM. Possible teratogenic effect of mycoplasmas on the human fetus". *Arkh Patol* 1979; 41: 22-27.
7. Shurin PA, Alpert S, Bernard RB, Driscoll SG, Lee YII. "Chorioamnionitis and colonization of the newborn infant with genital mycoplasmas". *N Engl J Med* 1975; 293: 5-8.
8. Kundsinn RB, Driscoll SC, Pelletier PA. "*Ureaplasma urealyticum* incriminated in perinatal morbidity and mortality". *Science* 1981; 213: 474-475.
9. Quinn PA. "Mycoplasma infection of the fetus and newborns". *Prog Clin Biol Res* 1988; 281:107-151.
10. Tully JG, Taylor-Robinson D, Rose DL, Cole RM, Bové JM. "*Mycoplasma genitalium*, a new species from the human urogenital tract". *Int J Syst Bacteriol* 1983; 33:387-396.
11. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. "Mycoplasma and Ureaplasma as neonatal pathogens". *Clin Microbiol Rev* 2005; 18:757-789.
12. 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.
13. Trum JW, Mol BWJ, Pannekoek Y. "Value of detecting

leukocytospermia in the diagnosis of genital tract infection in subfertile men". *Fertil Steril* 1998; 70:315-319.

14. Pal Z, Urban E, Dosa E, Pal A, Nagy E. "Biofilm formation on intrauterine devices in relation to duration of use". *J Med Microbiol* 2005; 54:1199-1203.

15. Shahin NP, Reza SY, Habib Z. "Association of *Ureaplasma urealyticum* infection with varicocele-related infertility". *J Infect Developing Countries* 2007; 2:116-119.

16. Reyna FJ, Flores MS, Morales MC, Ortiz IF. "Identificación de *Ureaplasma urealyticum* en líquido cefalorraquídeo (LCR) de recién nacidos con sospecha de neuroinfección mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Fase de estandarización". *Rev Enfer Infec Pediat* 2007; 21:42-45.

17. Silver RM. "Fetal death". *Obstet Gynecol* 2007; 109:153-167.

18. Reilly SD, Fayne-Petersen O. "Chorioamnionitis and funisitis: their implications for the neonate". *Neo Reviews*

2008; 9:411-417.

19. Bose CL, Dammann, Laughon MM. "Bronchopulmonary dysplasia and inflammatory biomarkers in the premature neonate". *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2008; 93:455-461.

20. Ueno PM, Timenetsky J, Centenoze VE, Wewer JJ, Cagle M, Stein A, Krishnan M, Baseman JB. "Interaction of *Mycoplasma genitalium* with host cells: evidence for nuclear localization". *Microbiol* 2008; 154:3033-3041.

21. Pich OQ, Burgos R, Ferrer-Navarro M, Querol E, Piñol J. "Role of *Mycoplasma genitalium* MG317 cytoskeletal proteins in terminal organelle organization, gliding motility and cytoadherence". *Microbiol* 2008; 154:3188-3198.

22. Rivera Tapia JA, Rocha Gracia RC, Muñoz Zurita G. "*Mycoplasma genitalium* e implicaciones en tracto genital femenino". *Rev Enfer Tract Gen Infer* 2007; 1:63-65.

24. Rottem S. "Interaction of mycoplasmas with host cells". *Physiol Rev* 2003; 83:417-432.