

Detección de micoplasmas genitales y su sensibilidad antimicrobiana mediante una prueba rápida en muestras clínicas de parejas mexicanas con infertilidad

Jesús Reyna Figueroa,*
Graciela Villeda Gabriel,**
Federico Javier Ortiz Ibarra,***
Iyari Morales Méndez,**
Saúl Flores Medina**

Genital micoplasmas and antimicrobial susceptibility detection using a fast test in clinical samples of Mexican couples with infertility

Fecha de aceptación: febrero 2009

Resumen

Introducción. Las pruebas rápidas para detectar micoplasmas se describen como alternativas diagnósticas útiles en sitios donde el aislamiento de estas bacterias es bajo, o donde el manejo de las condiciones microbiológicas necesarias para tal aislamiento es poco accesible.

Métodos. Mediante un estudio de cohorte prospectiva, se incluyeron muestras clínicas de exudado endocervical de mujeres en edad reproductiva con diagnóstico de infertilidad y de semen en sus parejas. En ambos casos, se inocularon los caldos urea y arginina, así como el *kit* comercial Mycofast®. La eficacia se analizó mediante sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Se comparó la prueba rápida con los cultivos en caldo.

Resultados. Se consideró a 25 parejas en el estudio; encontramos sensibilidades superiores a 70%. Los valores predictivos positivos no fueron adecuados al ubicarse por debajo de 40%, mientras que el valor predictivo negativo presentó cifras superiores a 90% en todos los casos.

Conclusión. Es recomendable la prueba rápida comercial para diagnosticar *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en sitios sin infraestructura para detectar estos microorganismos por medio de cultivos o de biología molecular. Sin embargo, los caldos suplementados y la reacción en cadena de la polimerasa son aún los mejores métodos de diagnóstico.

Palabras clave: micoplasmas, diagnóstico, prueba rápida, sensibilidad

Abstract

Introduction. Detection of micoplasmas by fast a test is an alternative diagnosis in sites where the laboratory test is not available.

Methods. Means a prospective cohort study we studied clinical endocervical samples and seminal samples of women and men with infertility diagnosis. To both we inoculated the clinical samples in urea and arginine broths, as well as the Mycofast® commercial *kit*.

Sensitivity, specificity, and predictive values were analyzed; we compared the fast test vs. culture broths.

Results. Twenty-five couples were studied—we found sensitivities over 70%, and predictive positive values lower than 40%. The predictive negative value was greater than 90%.

Conclusion. The commercial fast test is recommended to be used in places without microbiological infrastructure to detect micoplasmas. The culture broth or molecular biology is still the best diagnostic method however.

Keywords: micoplasmas, diagnosis, fast test, sensitivity

Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes". Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal.

*Jefe del Departamento de Infectología e Inmunología Perinatal;

**Laboratorio de Microbiología y Parasitología;

***Subdirector de Investigación Clínica.

Todos del Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"

Introducción

Mycoplasma hominis y *Ureaplasma urealyticum* se asocian con diversas enfermedades de la mujer en edad reproductiva, como uretritis, infecciones del aparato urinario, corioamnionitis, abortos espontáneos, enfermedad pélvica inflamatoria e infertilidad.¹ En México, se reconocen como dos de los principales microorganismos aislados de pacientes con diagnóstico de infertilidad secundaria a obstrucción tubaria, con cifras superiores respecto de otros agentes, como *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae*.²⁻⁵

La naturaleza de cronicidad de la infección por micoplasmas y su evolución primordialmente asintomática, aunado a la poca disponibilidad de los recursos de laboratorios en la mayoría de los centros que atienden mujeres en edad reproductiva, dificultan el diagnóstico clínico.⁵ En la casuística de los 15 años recientes del Instituto Nacional de Perinatología, se observa la infección por micoplasmas en pacientes con infertilidad por alteraciones tubarias en el 19.4% de los casos, frente a un 6.9% de *Chlamydia trachomatis* y un 0% de aislamiento de *Neisseria gonorrhoeae*.⁴ Conforme mejora la identificación microbiológica y se incrementa el uso de biología molecular en nuestra institución, se modifica la epidemiología de estos agentes.⁶

La identificación de micoplasmas en el laboratorio presenta problemas debido a su naturaleza fastidiosa y a la necesidad de caldos especiales de transporte y de cultivo para crecer. Se han investigado varias fórmulas de agar y caldos, la mayoría difíciles de preparar.

Las pruebas rápidas para detectar micoplasmas se consideran una alternativa diagnóstica útil en sitios donde el aislamiento de estas bacterias es bajo o donde el manejo de las condiciones microbiológicas necesarias para su aislamiento es poco accesible. **Algunas ventajas son las siguientes:** 1) se pueden trabajar cinco tipos de muestras: exudados endocervical, uretral, de esperma y de orina, y secreciones gástricas; 2) el *kit* incluye un medio de transporte que conserva la muestra de 8 a 16 horas; 3) cuenta con un medio de crecimiento y un panel de reacciones con pocillos para hacer la identificación y el antibiograma; y 4) contiene un factor activador de crecimiento de *M. hominis*. Además, permite la lectura de pruebas desde las 24 horas.

De acuerdo con lo anterior, este artículo examina la eficacia diagnóstica de una prueba rápida comercial para *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* en muestras de semen y exudado endocervical provenientes de parejas con problemas de infertilidad en

comparación con los cultivos del laboratorio de microbiología del Instituto Nacional de Perinatología.

Métodos

Pacientes: Mediante un estudio de cohorte prospectiva, se incluyeron muestras clínicas de exudado endocervical de mujeres en edad reproductiva con diagnóstico de infertilidad y de semen en sus parejas. En ambos casos, se inocularon los caldos urea y arginina, así como el *kit* comercial Mycofast®.

La edad máxima de las mujeres fue de 35 años y la del esposo o compañero, de 55 años. La vida sexual debió ser activa durante dos años o más sin anticoncepción, la espermatobioscopía no debió presentar azoospermia.

Se consideró a un total de 25 parejas en el estudio; la media de edad de las mujeres fue de 30 ± 5.1 años, y en los hombres, de 34 ± 2.6 años.

De cada pareja se obtuvieron seis hisopos (tres cervicovaginales y tres de semen) para inocular en caldo urea, caldo arginina y para la prueba rápida, respectivamente, lo que sumó 150 muestras clínicas.

Procedimientos

Para la muestra de mujeres, las pacientes debieron cumplir los siguientes requisitos: no haber sostenido relaciones sexuales durante los tres días anteriores, no haber tomado o aplicado antibiótico vía vaginal los 10 días anteriores y no estar en periodo menstrual.

Con la paciente en posición Ginecológica, se introdujo el espéculo desechable a la cavidad vaginal y se eliminó, en lo posible, la secreción vaginal con ayuda de hisopos estériles. Se localizó el cérvix y se realizó un raspado de endocérvix con un hisopo, el cual se colocó en caldo urea. Se repitió la misma acción para caldo arginina. Se tomó una tercera muestra para el sistema Mycofast®.

La incubación se realizó a 37°C durante 14 días, con una revisión diaria del viraje. Cuando hubo cambio del medio a color rojo o transparente, la muestra se sembró en un nuevo caldo e inoculó en una placa de agar chocolate, que se revisó a las 24 horas. Se

interpretó como positivo a *Mycoplasma hominis* o *Ureaplasma urealyticum* cuando se presentó de nuevo el viraje en el caldo respectivo y el cultivo en placa resultó negativo.

Los varones cumplieron con el criterio de abstinencia sexual tres días previos a la obtención de la muestra y de no administración de antibióticos los 10 días anteriores.

Se obtuvieron 50 ml de la muestra de semen, que se inocularon en cada caldo. Para el sistema Mycofast®, se requería un volumen de 300 ml. Los caldos se procesaron como ya se mencionó.

Para el sistema Mycofast®, el hisopo obtenido del endocervix se colocó en un medio de transporte UTM. La suspensión se transfirió a un medio UMM1, se homogenizó y se trasladaron 100 ml de la suspensión al panel de identificación y susceptibilidad. A los pozos 6 y 7 se les adicionó un suplemento S: Mh. Después, a todos los pozos se les agregaron dos gotas de aceite de parafina. Se recubrieron los pozos con una película adhesiva y se incubaron a 37°C durante siete días, con revisión diaria. Se efectuó el mismo procedimiento con las muestras de semen.

La identificación se llevó a cabo de acuerdo con el cambio de color de pozos específicos. Los pozos 4, 5 y 6 determinaron el perfil de identificación. Los pozos 1, 2, 3 y 7 sirvieron para la interpretación de UUC/mL, y los pozos 8 a 20, para pruebas de susceptibilidad.

La eficacia se analizó mediante sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo al comparar la prueba rápida con los cultivos en caldo.

Resultados

Los principales antecedentes Ginecológicos de importancia fueron la presencia de endometriosis, 2/24; miomatosis uterina, 4/24; síndrome de ovario poliquístico, 4/24; factor endocrino ovárico, 5/10; adherencias tubarias, 8/24; y TB peritoneal, 1/24.

Identificación de micoplasmas en caldo

Se encontró *Ureaplasma urealyticum* en 5/25 muestras (20%), tres de las cuales correspondieron a muestras

cervicovaginales y dos a cultivo de semen. Se aisló *Mycoplasma hominis* en 2/25 muestras (8%) cervicovaginales y en ninguna de semen.

Sólo en una pareja (4%) se aisló *Ureaplasma urealyticum*, en otra se aislaron *Ureaplasma urealyticum* en el hombre y *Mycoplasma hominis* en la mujer.

Identificación por medio de la prueba rápida

Se detectó *Ureaplasma urealyticum* en 15/25 muestras (60%), nueve de las cuales correspondieron a muestras cervicovaginales y seis a semen. Se identificó *Mycoplasma hominis* en 5/25 muestras (20%), tres en la búsqueda cervicovaginal y dos en semen.

En cinco parejas (20%) se identificó *Ureaplasma urealyticum*, sólo en una *Mycoplasma hominis*; en una pareja más se identificó tanto *Ureaplasma urealyticum* como *Mycoplasma hominis* (Cuadro 1).

Al considerar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos, encontramos sensibilidades adecuadas en más de 70%; sólo 50% de los casos presentó sensibilidad inadecuada para detectar *Mycoplasma hominis*, la especificidad se encontró en más de 70%. Los valores predictivos positivos no fueron adecuados, pues se ubicaron por debajo de 40%. El valor predictivo negativo presentó cifras superiores a 90% en todos los casos (Cuadro 2).

La susceptibilidad antimicrobiana se muestra en el Cuadro 3; llama la atención la susceptibilidad baja a doxiciclina, azitromicina y quinolonas, en la actualidad medicamentos de elección para el tratamiento de este tipo de infecciones.

Cuadro 1
Distribución de las identificaciones de acuerdo con el método de escrutinio en muestras clínicas de parejas con infertilidad

Microorganismo	Cultivo en caldo CV Semen	Prueba rápida CV Semen
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	3 2	9 6
<i>Mycoplasma hominis</i>	2 0	3 2
Total	5 2	12 8

CV= Cervicovaginal

Cuadro 2

Eficacia de la prueba rápida en comparación con medios líquidos de cultivo para la detección de micoplasmas *sp.* en parejas con infertilidad en el Instituto Nacional de Perinatología

	Sensibilidad	Especificidad	Valor predictivo positivo	Valor predictivo negativo
	Micoplasmas			
Pareja	83	76	31	97
Hombre	100	82	33	100
Mujer	75	71	33	93
	<i>Ureaplasma urealyticum</i>			
Pareja	100	77	33	100
Hombre	100	82	33	100
Mujer	100	72	33	100
	<i>Mycoplasma hominis</i>			
Pareja	50	91	16	97
Hombre*	---	--	--	--
Mujer	50	91	33	95

* Tabla de 2 x 2 con dos casillas en 0, que no permite calcular adecuadamente los valores.

Cuadro 3

Sensibilidad antimicrobiana de micoplasmas encontrada en los aislamientos realizados de parejas con diagnóstico de esterilidad

Antibiótico		<i>Ureaplasma</i> n = 15 (%)	<i>Mycoplasma</i> n = 5 (%)	Total n = 20 (%)
Doxiciclina	S	9 (60)	2 (40)	11 (55)
	I	2 (13.3)	0	2 (10)
	R	4 (26.6)	3 (60)	7 (35)
Pristinomicina	S	11 (73.3)	3 (60)	14 (70)
	I	0	0	0
	R	4 (26.6)	2 (40)	6 (30)
Roxitromicina	S	10 (66.6)	1 (20)	11 (55)
	I	1 (6.6)	0	1 (5)
	R	4 (26.6)	4 (80)	8 (40)
Azitromicina	S	11 (73.3)	2 (40)	13 (65)
	I	0	0	0
	R	4 (26.6)	3 (60)	7 (35)
Josamicina	S	14 (93.3)	3 (60)	17 (85)
	I	0	0	0
	R	1 (6.6)	2 (40)	3 (15)
Ciprofloxacina	S	2 (13.3)	1 (20)	3 (15)
	I	4 (26.6)	0	4 (20)
	R	9 (60)	4 (80)	13 (65)
Ofloxacina	S	3 (20)	2 (40)	5 (25)
	I	3 (20)	2 (40)	5 (25)
	R	9 (60)	1 (20)	10 (50)

Discusión

Se reconoce una gran dificultad en distinguir a la paciente colonizada con micoplasmas de la que no lo está. Para resolver este problema, se ha intentado la evaluación por medio de diversas pruebas diagnósticas. La identificación de estos microorganismos en el laboratorio presenta problemas debido a sus características microbiológicas particulares, que requieren caldos especiales de transporte y de cultivo para crecer. Se han investigado varias fórmulas de agar y caldos, la mayoría difíciles de preparar.¹⁻³

En este trabajo, se utilizó el *kit* comercial Mycofast® para identificar *Ureaplasma urealyticum* y *Mycoplasma hominis* en muestras de semen y exudado endocervical provenientes de parejas con problemas de infertilidad. Los resultados fueron satisfactorios para el objetivo planteado, con cifras adecuadas de sensibilidad, especificidad y valor predictivo negativo.

Al tomar en cuenta que es preferible una prueba sensible cuando se corre el riesgo de omitir una enfermedad y dejar sin tratamiento un padecimiento grave pero tratable, es claro que la prueba rápida presenta cifras adecuadas para la detección de *Ureaplasma* pero no de *Mycoplasma hominis*, donde se encontró sensibilidad en 50%.⁵

La principal debilidad del estudio se encontró en el tamaño reducido de la muestra, aunque con cifras de identificación similares a las reportadas en otros estudios.

Con base en los resultados obtenidos, concluimos que el *kit* comercial Mycofast® es recomendable para diagnosticar *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en sitios donde se carezca de la infraestructura para detectar estos microorganismos por medio de cultivos o de biología molecular.

Este sistema ofrece un menor tiempo para el diagnóstico de micoplasmas en comparación con los métodos convencionales hasta ahora utilizados; asimismo, permite conocer la sensibilidad antimicrobiana a los antibióticos utilizados con mayor frecuencia en este tipo de infecciones. Sin embargo, los caldos suplementados y la reacción en cadena de la polimerasa son aún los mejores métodos de diagnóstico.

Bibliografía

1. Broittman LN, Floy MC, Johnson AC. "Comparison of commercially available media for detection and isolates of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis*". *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 1335-1337.
2. Ramírez IC, Casanova RG, Menocal TG, Ortiz IFJ. "Prevalencia de la infección cervicovaginal por *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en pacientes ginecológicas del Instituto Nacional de Perinatología". *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* 2004; 24.
3. Rojas RJ, Bravo GC, Tapia SR. "Las bacterias como causa de infertilidad masculina". Instituto de Medicina Reproductiva y Andrología. México, DF. Disponible en www.angelfire.com/ex2/imra/infertilidad.htm
4. Casanova RG, Ortiz IFJ, Reyna FJ. *Infecciones de transmisión sexual*. 1ª ed., México, Alfil, 2004, 149-162.
5. Renaudin H, Bébéar C, Bébéar M. "Evaluation of commercial kit for antibiotic susceptibility testing of genital mycoplasmas". *Laboratoire de Bacteriologie EA 3671*, Université Victor Segalen, Bordeaux 2, Bordeaux, Francia.
6. Koneman WE, Stephen DA, William M, Janda WM, Schreckenberger CP. 3a,ed., *Diagnóstico microbiológico*, 3a ed., Panamericana, México, 1999, 833-866.