

## Frecuencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* en mujeres atendidas por infertilidad en el Hospital “Hermanos Ameijeiras”

### Frequency of infection with *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma spp.* in women treated for infertility at the “Hermanos Ameijeiras” Hospital

NADEZHDA GONZÁLEZ GARCÍA<sup>1</sup>, MAYRENE HORTA REMEDIOS<sup>1</sup>, BISLEIDYS HERNÁNDEZ ACEA<sup>1</sup>,  
LUIS FONTE GALINDO<sup>2</sup>, GISSEL GARCÍA MENÉNDEZ<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, La Habana, Cuba.

#### Cómo citar este artículo:

González García N, Horta Remedios M, Hernández Acea B, Fonte Galindo L, García Menéndez G. Frecuencia de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* en mujeres atendidas por infertilidad en el Hospital “Hermanos Ameijeiras”. Rev Panorama. Cuba y Salud [Internet]. 2019 [citado ]; 14(3):74-77. Disponible en: <http://www.revpanorama.sld.cu/index.php/rpan/article/view/>

#### RESUMEN

**Objetivo:** determinar mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, la frecuencia de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, en mujeres atendidas por infertilidad en el Hospital “Hermanos Ameijeiras” desde febrero de 2017 hasta enero de 2019.

**Métodos:** se determinó la presencia de *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, en las muestras de exudados endocervicales, obtenidas en 436 mujeres atendidas por infertilidad en la consulta de Genética del Hospital “Hermanos Ameijeiras” desde febrero de 2017 hasta enero de 2019. Las determinaciones se realizaron mediante los estuches comerciales *Light Mix kit Chlamydia trachomatis* y *Light Mix kit Mycoplasma gen/hom and Ureaplasma de TIB MOLBIOL*, respectivamente, en un termociclador Cobas z480 (Roche). Se realizaron los análisis de frecuencia y porcentaje, mediante el programa estadístico SPSSv-20.

**Resultados:** del total de mujeres estudiadas (n=436), en 18 (4,1%) se detectaron muestras positivas para *C. trachomatis*. La detección de *Mycoplasma spp.*, mostró que 171 (39,2%) de las mujeres tuvieron exudados endocervicales con reacciones positivas para varias especies de este género. Siete muestras (1,61%) presentaron coinfecciones por ambas bacterias.

**Conclusiones:** la frecuencia de infección por *C. trachomatis* en las mujeres estudiadas por infertilidad es baja; en cambio, la positividad detectada para *Mycoplasma spp.* es más alta.

**Palabras clave:** diagnóstico; *Chlamydia trachomatis*; *Mycoplasma spp.*; PCR en tiempo real.

**Methods:** The presence of *C. trachomatis* and *Mycoplasma spp.* was determined in vaginal samples of 436 females treated for infertility in the Genetic Department of the “Hermanos Ameijeiras” Hospital since February 2016 until January 2019. The determinations were made using the *Light Mix kit C. trachomatis* and *Light Mix kit Mycoplasma gene/hom and Ureaplasma from TIB MOLBIOL*, respectively, in a Cobas z480 thermal cycler (Roche). Frequency and percentage analyzes were performed using the statistical program SPSSv-20

**Results:** Of the total of women studied (n = 436) only 18 (4.1%) were positive for *C. Trachomatis*. The detection of *Mycoplasma spp.* showed that 171 (39.2 %) were positive for several of their species. Seven samples (1.61 %) showed coinfections by both bacterial.

**Conclusions:** The frequency of infection by *C. trachomatis* in women studied for infertility is low; on the other hand, those found for *Mycoplasma spp.* are relatively high.

**Keywords:** Diagnosis; *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma spp.*, Real time-PCR.

#### INTRODUCCIÓN

Entre las infecciones de transmisión sexual (ITS) más importantes están aquellas causadas por *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma spp.* genitales.<sup>(1,2)</sup> Las secuelas que producen en el tracto genital superior, a largo plazo, son causa de infertilidad. Los estudios de la asociación entre la infertilidad y la presencia de estos microorganismos muestran resultados controversiales.<sup>(3)</sup>

*Chlamydia trachomatis* es una bacteria intracelular obligada gramnegativa, que tiene como único hospedero natural al hombre. Se distingue por permanecer asintomática en la mayoría de las mujeres infectadas.<sup>(2)</sup> Con un estimado de 131 millones de casos nuevos por año, la infección por

#### ABSTRACT

**Objective:** to determine, by Real Time PCR, the frequency of *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma infections* in women treated for infertility at the “Hermanos Ameijeiras” Hospital since February 2017 until January 2019.

*C. trachomatis* se considera la más común de las ITS de origen bacteriano. Sin embargo, entre el 70 y 90% de estas infecciones pueden permanecer silentes por un largo período,<sup>(4)</sup> lo cual puede llevar al desarrollo de secuelas como la enfermedad pélvica aguda (EPA), los embarazos ectópicos y la infertilidad, entre otras.<sup>(5)</sup> Por otra parte, son muchas las evidencias que señalan la importancia clínica de las infecciones causadas por los micoplasmas genitales.<sup>(6)</sup> Estos incluyen varias especies de *Mycoplasma* y de *Ureaplasma*. Todas, agrupadas como *Mycoplasma spp.*, estos microorganismos se asocian con el desarrollo de uretritis en el hombre y el riesgo de causar EPA, cervicitis y endometritis en la mujer, así como la infertilidad en ambos sexos.<sup>(7,8)</sup> Aunque *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.* son microorganismos diferentes, las infecciones causadas por ellos tienen aspectos similares en cuanto a su patogenia, manifestaciones clínicas, así como en su tratamiento.<sup>(7)</sup>

La detección de la infección causada por *C. trachomatis* es compleja. Los resultados obtenidos a partir de los métodos colorimétricos difieren de aquellos que emplean los métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés Polimerase Chain Reaction).<sup>(3)</sup> Sin embargo, la mayor sensibilidad y especificidad de estos últimos contribuye a que en los últimos años se implementen como métodos de diagnóstico para la detección de los genomas de *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, a partir de muestras de exudado endocervical.<sup>(3)</sup>

En el año 2016 se implementa en el Laboratorio de Genética del Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" las plataformas de termocicladores Roche. Esto permite la implemetación de técnicas diagnósticas para diversas enfermedades, basadas en la tecnología de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR) y entre ellas, la detección de los genomas de *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*

La PCR-TR es más sensible y específica que los métodos de PCR a punto final,<sup>(9)</sup> por lo que contar con estos métodos como herramienta diagnóstica ofrece una mayor seguridad para los especialistas que tratan temas tan sensibles como los trastornos de la fertilidad.

De ahí que, el presente trabajo tuvo como objetivo determinar, mediante la técnica de PCR-TR la frecuencia de las infecciones producidas por *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, en exudados endocervicales obtenidos en mujeres atendidas por infertilidad en el Hospital "Hermanos Ameijeiras" de La Habana desde febrero de 2017 hasta enero de 2019.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño general del estudio: se realizó un estudio transversal descriptivo en 436 mujeres con edades comprendidas entre 25 y 45 años, remitidas por estudio de infertilidad, al servicio de Genética Molecular del Hospital "Hermanos Ameijeiras" desde febrero de 2017 hasta enero de 2019, para la detección de los genomas de *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*

Colecta y procesamiento de las muestras: a cada una de las 436 mujeres se les tomó un exudado endocervical, mediante hisopos plásticos estériles, humedecidos con 1 mL de PBS 1X y pH de 7,2. En la toma de las muestras se siguieron las normas de esterilidad y bioseguridad establecidas para este procedimiento.

El ADN se obtuvo a partir de las muestras endocervicales colectadas en 1mL de PBS 1X. Para ello se empleó el estuche comercial High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche Applied Science), según las normas establecidas por el fabricante para su ejecución.

Se comprobó la calidad de la muestra de ADN obtenida mediante la lectura de la densidad óptica (DO) a 260/280 nm y la pureza de la misma a dicha longitud de onda en un espectrofotómetro de microgotas Nano Drop One (Thermo Scietific).

La reacción de la PCR-TR para la detección de los genomas de *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*, se realizó en un termociclador Cobas z480 (Roche), mediante los estuches comerciales *Light Mix kit Chlamydia trachomatis* y *Light Mix Kit Mycoplasma gen/hom and Ureaplasma*, ambos de TIB MOLBIOL. Las reacciones y análisis de los resultados en el equipo Cobas z480 se realizaron según las instrucciones del fabricante.

Análisis de los resultados: los análisis estadísticos descriptivos de frecuencia y porcentaje se realizaron mediante el programa SPSS Versión 20.

Consideraciones éticas: el estudio se aprobó por el Comité de Ética para la Investigación en Salud y el Consejo Científico del Hospital "Hermanos Ameijeiras". Se tuvieron en cuenta las regulaciones internacionales para las investigaciones en los seres humanos con fines diagnósticos y terapéuticos, establecido en la Declaración de Helsinki, Fortaleza, Brasil, 2013.<sup>(10)</sup> El consentimiento informado se obtuvo en cada una de las pacientes incluidas en este estudio.

## RESULTADOS

La detección de los correspondientes genomas demostró que en el 4,1% de las mujeres estudiadas se identificó una infección por *C. trachomatis* y el 39,2% mostró una reacción positiva a *Mycoplasma spp.* La infección por ambos microorganismos se detectó en las muestras de 7 pacientes (1,6%). Tabla 1

**Tabla 1.** Determinación de las frecuencias de infección por *C. trachomatis* y *Mycoplasma spp.*

<i>C. trachomatis</i>	Frecuencia	Porcentaje (%)
Negativos	418	95,9
Positivos	18	4,1
<b><i>Mycoplasma spp.</i></b>		
Negativos	265	60,8
Positivos	171	39,2
Total	436	100,0

## DISCUSIÓN

Las infecciones por *C. trachomatis* se consideran un problema de salud debido a que pueden causar secuelas severas, entre estas la infertilidad femenina. Por ello, su diagnóstico requiere de métodos sensibles, rápidos y específicos. El presente trabajo es el primero en Cuba en abordar el diagnóstico de *C. trachomatis* mediante el empleo de la técnica de PCR-TR.

Pocos son los estudios que abordan la temática de infertilidad asociada al diagnóstico de *C. trachomatis* en Cuba. De ellos, solo uno realiza el diagnóstico, empleando un método de PCR a punto final. En ese estudio, con 224 mujeres estudiadas por infertilidad, en 6,9% se detecta el genoma de *C. trachomatis*. Ese resultado muestra una baja detección del microorganismo, aunque en un porcentaje superior al identificado por los autores del presente trabajo. Esta diferencia pudo estar relacionada con una menor especificidad del método de PCR empleado en dicho estudio.<sup>(11)</sup>

Estudios que emplean PCR-TR para el diagnóstico de *C. trachomatis*, realizados en poblaciones de otros países como la República de la India,<sup>(9)</sup> España,<sup>(12)</sup> Reino Unido,<sup>(13)</sup> Estados Unidos<sup>(14)</sup> y comunidades del Medio Oriente<sup>(15)</sup> muestran resultados similares a los detectados en el presente estudio.

Una característica distintiva de *C. trachomatis* es que ante la respuesta inmune del hospedero interrumpe su ciclo replicativo y pasa a un estado de persistencia en el cual utiliza las funciones celulares para sobrevivir por largos períodos.<sup>(16)</sup> En estado de persistencia *C. trachomatis* migra al tracto genital superior, allí establece una infección crónica no detectable, por lo general asintomática. Bajo estas condiciones las mujeres afectadas permanecen sin tratamiento durante largos períodos lo cual conlleva al desarrollo de infertilidad como una secuela de la infección.<sup>(17)</sup> Esto puede explicar, al menos en parte, la baja detección de *C. trachomatis* en las mujeres asintomáticas que acuden a la consulta de infertilidad.

En las muestras de ADN estudiadas se detectó una mayor frecuencia de infección por *Mycoplasma spp.* Este resultado pudo vincularse con el mecanismo de persistencia desarrollado por *C. trachomatis*. Se plantea que, si bien en su estado de persistencia *C. trachomatis* no es detectable por técnicas de PCR ni por el cultivo, puede favorecer la susceptibilidad a la infección por otros microorganismos como *Mycoplasma spp.* y *Neisseria gonorrhoeae*, en consecuencia, el desarrollo probable de una EPA como antesala de infertilidad.<sup>(18)</sup>

## CONCLUSIONES

La frecuencia de infección por *C. Trachomatis* en las mujeres estudiadas por infertilidad es baja; sin embargo, las encontradas para *Mycoplasma* son más altas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS one*. 2015;10(12):e0143304-e.
2. Elwell C., Mirrashidi K., & Engel J. (2016). *Chlamydia cell biology and pathogenesis*. *Nature reviews. Microbiology*, 14(6), 385–400. doi:10.1038/nrmicro.2016.30.
3. Rivero D, Kourí V, Correa C, Martínez I, Llanes RI, Barreal RT, et al. Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de exudado endocervical mediante una prueba de diagnóstico rápido y dos técnicas de reacción en cadena de la polimerasa. *Revista Cubana de Endocrinología y Obstetricia [Internet]* 2014 [citado 12 jul 2019];40(1):48-57. Disponible en Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/gin/v40n1/gin06114.pdf>
4. Panzetta ME, Valdivia RH, Saka HA. *Chlamydia Persistence: A Survival Strategy to Evade Antimicrobial Effects in-vitro and in-vivo*. *Front Microbiol*. 2018;9:3101. Published 2018 Dec 12. doi:10.3389/fmicb.2018.03101
5. Akande V, Turner C, Horner P, Horne A, Pacey A, British Fertility S. Impact of *Chlamydia trachomatis* in the reproductive setting: British Fertility Society Guidelines for practice. *Human fertility (Cambridge, England)*. 2010;13(3):115-25. ISSN1742-8149/1464-7273, doi:10.3109/14647273.2010.513893
6. Taylor-Robinson D. Mollicutes in vaginal microbiology: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum* and *Mycoplasma genitalium*. *Research in Microbiology*. 2017; 168(9):875-81. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2017.02.009>.
7. Ljubin-Sternak S, Meštrović T. *Chlamydia trachomatis* and Genital Mycoplasmas: Pathogens with an Impact on Human Reproductive Health. *J Pathog*. 2014; 2014:183167. doi:10.1155/2014/183167.
8. Horner P, Donders G, Cusini M, Gomberg M, Jensen JS, Unemo M. Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? – a position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2018;32(11):1845-51. doi:10.1111/jdv.15146.
9. Dhawan B, Rawre J, Ghosh A, Malhotra N, Ahmed MM, Sreenivas V, et al. Diagnostic efficacy of a real time-PCR assay for *Chlamydia trachomatis* infection in infertile women in north India. *The Indian journal of medical research*. 2014;140(2):252-61. PubMed PMID: 25297359; PubMed Central PMCID: PMC4216500.
10. Declaración de Helsinki de la AMM: Asociación Médica Mundial; 2013 Contract No: Document Number |.
11. Frontela Noda M, Rodríguez Marín Y, Verdejas Varela OL, Valdés Martínez FJ. Infección por *Chlamydia trachomatis* en mujeres cubanas en edad reproductiva. *Revista Cubana de Endocrinología Rev Cubana Endocrinol [Internet]* 2006 [citado 12 jul 2019];17(2):1-. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/end/v17n2/end01206.pdf>

12. García-Arata MI, González C, Álvarez-Santas E, Galán JC, Jaqueti J, Molina L, et al. Diagnostic bacteriology – non-culture based, including molecular and MALDI-TOF. In: ESCMID. Tco, editor. Real-time PCR for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* from clinical samples 2017; EV015 Molecular diagnostics and MALDI-TOF. 2017.
13. Pimenta J. Screening for genital chlamydial infection. *British Medical Journal*. 2000;321:629-31.doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.321.7261.629>
14. Mertz JK. Trends in the prevalence of *Chlamydia* infections: impact of community-wide testing. *Sexually transmitted diseases*. 1997;24:169-75. PMID: 9132985 Issn Print: 0148-5717
15. Ghazal-Aswad S. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection among women in a Middle Eastern community. *BMC women's health*. 2004;4:3 doi:10.1186/1472-6874-4-3.
16. Witkin SS, Minis E, Athanasiou A, Leizer J, Linhares IM. *Chlamydia trachomatis*: the Persistent Pathogen. *Clinical and vaccine immunology* :CVI.2017;24(10):e00203-17.ISNN:1556-679X1556-6811doi: 10.1128/CVI.00203-17
17. Suchland RJ, Rockey DD, Putman TE, Dimond ZE. Demonstration of Persistent Infections and Genome Stability by Whole-Genome Sequencing of Repeat-Positive, Same-Serovar *Chlamydia trachomatis* Collected From the Female Genital Tract. *The Journal of Infectious Diseases*. 2017;215(11):1657-65.ISNN 0022-1899  
doi: 10.1093/infdis/jix155
18. Rashidi BH, Chamani-Tabriz L, Haghollahi F, Jeddi-Tehrani M, Naghizadeh MM, Shariat M, et al. Effects of *Chlamydia trachomatis* Infection on Fertility; A Case-Control Study. *Journal of Reproduction & Infertility*. 2013 Apr-Jun;14(2):67-72.ISNN 2228-5482/2251-676X URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23926567>

---

**Conflicto de intereses:** Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

**Contribución a la teoría:** Todos los autores participamos en la discusión de los resultados y hemos leído, revisado y aprobado el texto final del artículo.

---

**Dirección para la correspondencia:** Dra. Nadezhda González García, Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras" (HHA), MINSAP | Calle San Lázaro # 701 esq. a Belascoáin, Centro Habana, La Habana, C.P:10400, Cuba.

**Correo electrónico:** nadezhdagonzalez@gmail.com

Licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-Compartir Igual 4.0

