

Investigación de tres patógenos de transmisión sexual en diferentes patologías ginecológicas

Dr. José T. Núñez Troconis*

Hospital Manuel Noriega Trigo (Instituto Venezolano del Seguro Social). Maracaibo Edo. Zulia.

RESUMEN

Objetivo: Investigar la incidencia de *Mycoplasma hominis* (*M hominis*), *Ureaplasma urealyticum* (*U urealyticum*) y *Chlamydia trachomatis* (*Ct*) en pacientes con diferentes patologías ginecológicas.

Método: Se practicó cultivo para *M hominis* y *U urealyticum* en muestras del endocervix de 133 pacientes y determinación de antígenos antichlamydiales en el cuello uterino de 109 pacientes.

Ambiente: Hospital Manuel Noriega Trigo, Maracaibo.

Resultado. Fueron positivas 47 pacientes (42%); 26 a *M hominis* y 21 a *U urealyticum*; el *Chlamydiazyme* fue positivo en 12 pacientes (12,8%).

El *M hominis* se encontró en el 61% de las nulíparas y el *U urealyticum* en el 71% de las múltiparas. Hubo significancia estadística en las pacientes con enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) ($p=0,03$). En la biopsia del cuello uterino se encontró neoplasia intraepitelial cervical (NIC) en 49 (94%) pero sólo 24 (49%; $p=0,4$) fueron positivas a *Mycoplasma* y 4 (8,2%) a la *Ct*.

Conclusiones: En nuestra población, encontramos *Mycoplasma* en casi el 50% aunque no hubo predominio de ninguna cepa; el *M hominis* fue más frecuente en nulíparas y hubo una relación estadísticamente significativa entre EIP y *mycoplasma* genital.

Palabras clave: *Mycoplasma hominis*. *Ureaplasma urealyticum*. *Chlamydia trachomatis*. Patología ginecológica.

SUMMARY

Objective: To investigate the incidence of *mycoplasma hominis* (*M hominis*), *Ureaplasma urealyticum* (*U urealyticum*) and *Chlamydia trachomatis* (*Ct*) in patients with different gynecological problems.

Method: Culture for *M hominis* and *U urealyticum* in endocervical samples of 133 patients and determination of antichlamydial antigen in uterine cervix from 109 patients were performed.

Sitting: Hospital Manuel Noriega Trigo, Maracaibo.

Results. Were positive 47 patients (42%); 26 *M hominis* and 21 *U urealyticum*; *Chlamydiazyme* was positive in 12 patients (12.8%).

M hominis was found in 61% of nuliparous and *U urealyticum* in 71% de multiparous. There was statistical significance in patients with pelvic inflammatory disease (PID) ($p=0.03$). In cervix biopsy there was cervical intraepithelial neoplasia (CIN) in 49 (94%) but only 24 (49%; $p=0.4$) were positive for *Mycoplasma* and 4 (8.2%) to *Ct*.

Conclusions: In our population, we found *Mycoplasma* in almost 50% without predominance of any strain; *M hominis* was more evident in nuliparous and there was a statistical significance between PID and genital *Mycoplasma*.

Key words: *Mycoplasma hominis*. *Ureaplasma urealyticum*. *Chlamydia trachomatis*. Gynecological pathology.

INTRODUCCIÓN

El primer *mycoplasma* aislado en humano fue específicamente en un absceso de la glándula de Bartholin en 1937 por Dienes y Edsall (1) y es el

único grupo de microorganismos que comúnmente habitan el tracto genital y respiratorio del humano (2). Estos organismos están filogenéticamente entre bacterias y virus, todos ellos tienen en común las siguientes características: 1. ausencia de pared celular; 2. crecen en un medio libre de células; 3. dependen de los esteroides para crecer; 4. su crecimiento es inhibido por un anticuerpo específico;

* Adjunto al Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Manuel Noriega Trigo del Instituto Venezolano de los Seguros Sociales (IVSS).
Profesor Titular del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad del Zulia.

5. susceptible a un antibiótico que inhiba la síntesis proteica y resistentes a aquellos que atacan la pared celular, pero difieren de las bacterias porque no tienen pared celular y son conocidos como los microorganismos más pequeños, se diferencian de los virus porque tienen ADN y ARN y pueden crecer en un medio libre de células (2).

Los mycoplasmas llamados genitales (MG) son aquellos que se han aislado en tracto genital humano y entre ellos tenemos al *Mycoplasma hominis* (*M hominis*), *Ureaplasma urealyticum* (*U urealyticum*), *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma primatum* y el *Mycoplasma genitalium* (2-4), de ellos los más importantes son el *M hominis* y el *U urealyticum* implicados en una serie de patologías de la mujer gestante tales como aborto espontáneo, aborto séptico, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis e infección intraamniótica (2,5-9) y en la no gestante produce absceso de la glándula de Bartholin, vaginitis, cervicitis, endometritis, salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) e infertilidad (2,6,8,9); sin embargo, diferentes autores (10,11) refieren que los MG forman parte de la flora normal del tracto genital femenino de las mujeres sexualmente activas sin sintomatología clínica, por lo que su papel en las diferentes patologías mencionadas es controversial. La *Chlamydia trachomatis* (*Ct*), una bacteria de vida intracelular (12-15), ha adquirido cada vez más importancia en el mundo occidental desde la década de los 80 (12,13,15,16) y en la presente década se considera como la enfermedad de transmisión sexual más frecuente tanto en diferentes países de Europa como en Estados Unidos de Norteamérica (13,15-28); según el Centro de Prevención y Control de Enfermedades (26). Para 1993 reportan más de 4 millones de infecciones genitales, los cuales generan varios billones de dólares en gastos médicos cada año (14,17,29-32).

Existen 15 tipos serológicos identificados de *Ct* (2,13-15,18-20,30); los serotipos 11,12 y 13 son los reponsables del Linfogranuloma venéreo; los a, b, ba y c del tracoma endémico y los restantes serotipos tales como: d, e, f, g, h, i, j y k producen en el niño: conjuntivitis, neumonía, otitis medias; en el hombre: uretritis, proctitis, epididimitis; en la gestante: endometritis posparto, ruptura prematura de membranas, parto prematuro y en la no gestante: cervicitis, proctitis, bartholinitis, síndrome uretral agudo, endometritis, salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), síndrome de Fitz-Hugh-Curtis, asimismo, se ha mencionado a la *Ct* como posible factor o co-factor en el origen y evolución

de las lesiones precancerosas y cancerosas del cuello uterino (17).

En este trabajo quisimos estudiar la frecuencia o prevalencia del *M hominis*, *U urealyticum* y la *Ct* en pacientes que asisten a la consulta de ginecología.

MATERIAL Y MÉTODO

El material de estudio comprende 113 pacientes que acudieron a la consulta de ginecología y patología de cuello uterino del Hospital Manuel Noriega Trigo, del IVSS (72 casos), de la ciudad de Maracaibo y consulta privada del autor (41 casos).

La patología ginecológica encontrada fue atipia colposcópica, citología sospechosa o positiva, flujo vaginal, trastornos menstruales, enfermedad pélvica inflamatoria, citología con inclusiones intracitoplasmáticas sugestiva de *Chlamydia trachomatis* y esterilidad.

A todas las pacientes se tomó muestra para cultivo de MG previa historia clínica, igualmente se tomó muestra para la determinación de antígenos de *Chlamydia trachomatis* usando la técnica de anticuerpos monoclonales del Chamydiazyme. Estos hisopos se colocaron en un tubo con medio de transporte y enviado al laboratorio.

Para el cultivo, identificación y recuentos del MG, se utilizó un equipo de Laboratorios Biomerieux llamado también Mycoplasma Lyo, el cual, combina un medio sólido (Agar Mycoplasma) o uno Líquido (Caldo Urea- Arginina) aportando un método más sensible para su aislamiento.

Las muestras eran inmediatamente resuspendidas en el caldo Urea-Arginina y luego inoculadas en el agar en forma de gotas no confluentes, sin extender; las placas inoculadas se incubaron a 37°C por 48 horas en atmósfera microaerofílica (método de la vela).

Transcurrido el tiempo de incubación, se procedió a la lectura del cultivo, basándose en el cambio de color del indicador de pH en el caldo y confirmado por la morfología de las colonias en el agar, observada al microscopio con el objetivo de 10x.

En el caso de *M hominis*, el caldo originalmente amarillo-naranja se torna rojo-frambuesa, puesto que este microorganismo metaboliza la arginina hasta amoníaco produciendo una elevación del pH, el cual, provoca el cambio del indicador a rojo; en presencia de *U Urealyticum*, la enzima ureasa degrada la urea a amoníaco, aumentando el pH del medio, el cual, cambia a rojo-naranja.

En el agar, el *M hominis* crece embebido en él,

INVESTIGACIÓN DE TRES PATÓGENOS

sus colonias son grandes y miden de 100 a 300 μm , con una parte central densa y una periférica más clara presentando una apariencia de “huevo frito”, el *U. urealyticum* produce colonias marrones, pequeñas de 10 a 50 μm en forma de erizo de mar.

Cuando el cultivo es negativo, el caldo se observa del color original y en el agar no se observan colonias; cuando existe infección mixta por *M. hominis* y *U. urealyticum*, el caldo se observa como para *M. hominis*: rojo-frambuesa pero en el agar se observan los dos tipos de colonias.

Una vez identificado el microorganismo en género y especie, se procedió a realizar el recuento de las colonias; el título de la muestra se expresa en Unidades Formadoras de Colonias (UFC), según la siguiente escala:

Colonias x campo	Título de la muestra (UFC)
<1	10(3)
1 a 5	10(4)
6 a 15	10(5)
>15	10(6)

El papel patógeno de los mycoplasmas se acepta con un título de 10 a la 4 UFC o más.

El estudio estadístico utilizado fue la prueba de hipótesis de proporciones del programa de computación MSTAT.

RESULTADOS

Los MG fueron aislados en 47 pacientes (42%; $p = 0,04$) de las 113 mujeres investigadas; de ellas 26 (55,31%) fueron positivas para *M. hominis* y 21 (44,68%) positivas para *U. urealyticum* ($p = 0,2$); la prueba de Chlamydiazyme fue positiva en 14 (12,8%) mujeres de 109 a quienes se les tomó la muestra ya que se excluyeron 4 del análisis porque no se les practicó la investigación. El 64% fueron pacientes de la consulta privada y 36% pertenecían a la consulta hospitalaria (72vs 41; $p = 0,00009$); 29 casos positivos a los MG eran de la consulta privada y 18 fueron de la consulta hospitalaria (40,2% vs 43,9%) $p = 0,04$. El *M. hominis* se encontró en 15 pacientes (51,7%) de la consulta privada y en 11 pacientes (61,11%) de la consulta hospitalaria ($p = 0,2$); el *U. urealyticum* se aisló en 14 mujeres de consulta privada (48,7%) y 7 mujeres (38,88%) pertenecientes a la consulta hospitalaria ($p = 0,04$). El número de casos positivos para *Ct* hallados en la consulta privada fue 9 (20,9%) y 5 (21,73%) en la consulta hospitalaria.

En el Cuadro 1 se encuentra la distribución de los MG en las diferentes patologías ginecológicas estudiadas y en el Cuadro 2 la distribución de las especies en dichas patologías; en el cuadro 3 se observa la distribución de la *Ct* por patologías.

Cuadro 1
Patología ginecológica

Patologías	Positivos		Negativos		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Atipias colposcópicas	14*	29,78	15	22,72	29	25,66
Citologías positivas	4*	8,51	9	13,63	13	11,50
Flujo vaginal	5*	10,63	12	18,18	17	15,04
Trastornos menstruales	0*	-	2	3,03	2	1,76
EIP	10**	21,27	4	6,06	14	12,38
Sospecha Ct	2*	4,25	1	0,6	3	2,65
Esterilidad	12*	25,53	23	34,84	35	30,97
Total	47***	41,6	66	58,4	113	

EIP. Enfermedad Inflamatoria Pélvica. *Ct*: *Chlamydia trachomatis*.

* $p = \text{NS}$; ** $p = 0,03$; *** $p = 0,04$

Cuadro 2

Distribución de las especies en diferentes patologías

Patologías	Mycoplasma hominis		Ureaplasma urealyticum		Total	
	N°	%	N°	%	N°	%
Atipias colposcópicas	8	30,76	6	28,57	14*	29,78
Citologías positivas	1	3,84	3	14,28	4*	8,51
Flujo vaginal	2	7,69	3	14,28	5*	10,63
EIP	6	23,07	4	19,04	10*	21,27
Sospecha de Ct	-	-	2	9,52	2*	4,25
Esterilidad	9	34,61	3	14,28	12**	25,53
Total	26	55,3	21	44,7	47*	

EIP. Enfermedad Inflamatoria Pélvica. *Ct*: *Chlamydia trachomatis*.

* $p = \text{NS}$; ** $p = 0,02$.

Cuadro 3

Distribución de resultados por patologías

Patologías	Positivo		Negativo		Resultados	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Atipias colposcópicas	1	7,2	27	28,4	28	25,7
Citologías positivas	1	7,2	11	11,6	12	11,0
Flujo vaginal	5	35,6	12	12,6	17	15,6
Trastornos menstruales	2	14,3	-	-	2	1,8
EIP	2	14,3	11	11,6	13	11,9
Sospecha Ct	-	-	3	3,2	3	2,8
Esterilidad	3	21,4	31	32,6	34	31,2
Total	14		95		109	

EIP: Enfermedad inflamatoria pélvica, Ct: *Chlamydia trachomatis*.

El sesenta y siete por ciento de las pacientes eran casadas, el número promedio de compañeros sexuales fue de $1,7 \pm 1,1$ (promedio \pm DS) (rango: 1- 5); el 55%-26 casos de las pacientes que resultaron positivas a MG refirieron haber tenido un solo compañero sexual, el 21% (n = 10) refirieron haber tenido dos compañeros y el 23,4% (n = 11) reportaron 3 o más parejas sexuales, si analizamos que 17 de las pacientes estudiadas que habían tenido 3 o más compañeros sexuales, 11 fueron positivas para MG, representan el 65% de ese grupo (p = 0,0003). Con respecto a las especies, se encontró que en las pacientes que habían tenido un solo compañero sexual, predominó el *M hominis* 55,3%; en las que habían tenido 2 se halló en un 50% el *M hominis* y en el otro 50% el *U urealyticum* (p = 0,5) pero en las que habían tenido 3 o más se encontró 8 casos de *U urealyticum* y 3 de *M hominis* (73% vs 27%; p = 0,04). Las cifras para Ct en relación con el estado civil (68%) y el número promedio de compañeros sexuales fue similar; el 50% (7 casos) de las pacientes con Chamydiazyme positivo refirieron haber tenido un solo compañero sexual pero de las 92 mujeres que refirieron haber tenido entre 1 y 2 compañeros sexuales sólo el 11% sólo fueron positivas a Ct y de las 12 pacientes que refirieron 4 y 5 compañeros, 33,3% fueron Chamydiazyme positivo.

La edad promedio de las pacientes estudiadas fue de $32,1 \pm 7,7$ (rango:17-58). En el Cuadro 4 se

puede observar la distribución de los MG en los diferentes grupos etarios; la mayor incidencia de cultivos positivos se observó en el grupo de 26 a 30 años (34%) pero si agregamos el grupo de 21 a 25 años, el porcentaje sube a un 51% en dicha década. Sin embargo, el número de casos negativos en el grupo de 26-30 años fue igual que los positivos (34%) mientras que al comparar la década de los 20 fue mayor el número de casos positivos que los negativos, pero no se encontró significancia estadística (p = 0,3). La edad promedio de las 109 mujeres a quienes se les investigó la Ct fue de $31,2 \pm 6,9$ y el grupo etario con mayor incidencia de Ct fue de 21-25 años (35,71%) pero si sumamos el grupo de 26-30 años, encontramos un porcentaje elevado (64%) que nos dice que en nuestro universo de pacientes estudiadas la Ct es más frecuente en dicha década (Cuadro 5).

Cuadro 4

Mycoplasmas
Distribución de cultivos por edad

Grupos etáreos (años)	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
20 o <	1	2,12	3	4,54	4	3,53
21-25	8	17,02	8	12,12	16	14,15
26-30	16	34,04	23	34,84	39	34,51
31-35	5	10,63	16	24,24	21	18,58
36-40	9	19,14	8	12,12	17	15,04
41-45	6	12,76	4	6,06	10	8,84
46 o >	2	4,25	4	6,06	6	5,30
Total	47		66		113	

Cuadro 5

Chlamydia
Distribución de resultados por edad

Grupos etáreos (años)	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
20 o <	-	-	4	4,21	4	3,66
21-25	5	35,71	10	10,52	15	13,76
26-30	4	28,57	33	34,73	37	33,94
31-35	3	21,42	18	18,94	21	19,26
36-40	1	7,14	16	16,84	17	15,69
41-45	-	-	9	9,47	9	8,25
46 o >	1	7,14	5	5,26	6	5,50
Total	14	12,84	95	87,2	109	

INVESTIGACIÓN DE TRES PATÓGENOS

El Cuadro 6 muestra la distribución de los cultivos de los MG con relación a la edad de las primeras relaciones sexuales (RS); el mayor porcentaje de cultivos positivos (57,5%) se encontró en aquellas mujeres que habían tenido relaciones sexuales antes de los 20 años ($p = 0,03$). Asimismo, el número de mujeres cuyos cultivos resultaron negativos en dicho grupo etáreo fue también del 53% ($p = 0,3$). El mayor número de casos positivos a *Ct* en relación con las RS fue en aquellas que habían iniciado la actividad sexual a los 20 años o menos (71,4%) y el 28,5% de ellas comenzaron a tener RS a los 15 años o menos (Cuadro 7).

Cuadro 6
Mycoplasma. Cultivos y edad de la primera relación sexual

Grupos etáreos (años)	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
15 o <	6	12,76	7	10,60	13	11,50
16-20	21	44,68	28	42,42	49	43,36
21-25	13	27,65	18	27,27	31	27,43
26-30	6	12,76	9	13,63	15	13,27
31 o >	1	2,12	4	6,06	5	4,42
Total	47		66		113	

Cuadro 7
Chlamydia
Cultivos y edad de la PRS

Grupos etáreos (años)	Positivos		Negativos		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
15 o <	4	28,5	9	9,5	13	11,9
16-20	6	42,9	41	43,1	47	43,1
21-25	2	14,3	28	29,5	30	27,5
26-30	2	14,3	13	13,7	15	13,8
31 o >	-	4	4,2	4	3,7	
Total	14		95		109	

De las pacientes con cultivos positivos a los MG, 19 eran nulíparas (40%; $p = 0,08$) y representaron el 39% de las 49 nulíparas estudiadas ($p = 0,0003$); en *M hominis* se encontró en un 68% ($n = 13$) de nulíparas pero el *U urealyticum* se aisló en el 71% ($n = 15$) de las multíparas y 32% ($n = 6$) de nulíparas; no se encontró que el número de partos tuviese

influencia en dicha distribución. De los 14 casos positivos para *Ct*, 6 casos (43%) eran nulíparas, representaron el 14% de las 42 nulíparas estudiadas y al igual que en los MG, el número de partos no tuvo influencia en la presencia de *Ct*.

De las 31 mujeres que reportaron haber tenido abortos, 10 (32%) fueron positivos a los MG ($p = 0,01$); se notó que 7 de las 10 pacientes (70%) habían tenido 3 o más abortos ($p = 0,0001$). De los 10 cultivos positivos, 6 (60%) lo fueron al *M hominis* y 4 (40%) al *U urealyticum* ($p = 0,2$). Sólo 5 (36%) de los casos de *Ct* positivos reportaron abortos y de las 30 que presentaron esta patología de la gestación, la *Ct* fue positiva en el 16,6% ($n = 5$).

Veintinueve pacientes que tenían flujo vaginal, 13 (45%) fueron positivos a los MG ($p = 0,2$): 8 casos (62%) fueron *M hominis* y 5 casos (38%) *U urealyticum* y 7 (24,1%) fueron positivos para *Ct*.

Se halló flujo endocervical en 23 mujeres y sólo 9 fueron positivas a MG (39%; $p = 0,1$), de éstas, cinco eran positivas a *M hominis* y 4 a *U urealyticum*; estas nueve pacientes representaron el 19% del total de los 47 cultivos positivos. Con respecto a la *Ct*, fue positiva en 6 casos (26%).

Se estudiaron 14 pacientes con EIP y hubo detritus positivos en 10 de ellas (71,4%) la diferencia fue estadísticamente significativa ($p = 0,03$), 6 casos (60%) fueron positivos a *M hominis* y 4 (40%) ($p = 0,2$) al *U urealyticum*; los antígenos del *Ct* fueron investigados en 13 casos en EIP con resultados positivos en 2 casos (5,5%).

En cincuenta y dos mujeres (46%) se tomó biopsia de cuello uterino, que reportó neoplasia intraepitelial cervical (NIC) en 49 de ellas (94%). Los MG fueron encontrados en 24 vasos con NIC (49%; $p = 0,4$), el *M hominis* se aisló en un 54% (13 casos) y el *U urealyticum* en un 46% (11 pacientes) no se halló diferencia estadísticamente significativa entre las especies ($p = 0,3$) y el Chlamydiazyme fue positivo en 4 casos (8,2%): 3 casos con NIC I y 1 caso NIC II. En el Cuadro 8 se observa la distribución de los resultados de los cultivos de los MG y los diferentes diagnósticos anatomo-patológicos.

En las 35 pacientes con infertilidad se observó que 12 fueron positivos (34%) a los MG y todos en los casos con esterilidad primaria ($p = 0,05$). *Ct* fue investigada en 34 pacientes con esterilidad y sólo 3 casos (8,8%) resultaron positivos.

La histerosalpingografía (HSG) fue reportada en 29 pacientes de ellas 9 casos positivos (31%) a Mycoplasmas: 7 casos a *M hominis* y 2 a *U urealyticum*; *Ct* fue positivo en una paciente (3,4%);

5 casos (17%) tenían obstrucción tubárica uni o bilateral, de ellos 2 casos (40%) fueron positivos a *M hominis*.

Cuadro 8
Mycoplasmas
Cultivos y resultados anatomo-patológicos

Resultado anatomo-patológico	Positivo	
	Nº	%
Condiloma plano	-	-
Cervicitis crónica	-	-
NIC I	14	45
NIC II	5	71
NIC III	5	50
Ca microinvasivo	-	-
Total	24	46*

NIC: Neoplasia intraepitelial cervical.

*p = NS.

Se practicaron 3 laparoscopias en las pacientes con infertilidad y se encontró obstrucción tubárica en un caso (33,3%) pero el cultivo fue positivo para *M hominis* en los 2 casos restantes, los antígenos de *Ct* no se hallaron en ninguna paciente sometida a laparoscopia.

Siete casos positivos a *Ct* también positivos a los MG: 5 al *M hominis* (71,4%) y 2 *U urealyticum* (28,6%).

DISCUSIÓN

Los MG pueden ser aislados en todas las mucosas de tracto genito-urinario tales como uretra distal, vestíbulo, vagina y orificio cervical externo, siendo la vagina el área más frecuente; sin embargo, la uretra distal, vejiga, útero y trompas están libre de ellos (6).

En el presente estudio, las muestras para los cultivos fueron tomadas del canal endocervical obteniéndose un 42% de positividad para los 2 MG investigados; porcentaje muy similar reportó Castellano y col. (10) en 93 mujeres de nuestra ciudad. De Moreno y col. (33) reportan en 70 mujeres que asistieron a un Centro de Salud una positividad del 33% y McComarck (6) en 1972 una incidencia de 29,5%. Mardh y col. (34) más reciente (1997) en cultivos obtenidos de vagina encontraron

una incidencia de 12,3%.

En cuanto a las especies, no hubo predominio de una de ellas sobre la otra; ninguna de nuestras pacientes fue portadora de ambos microorganismos. De Moreno y col. (33) encuentran predominio del *U urealyticum* en su grupo de pacientes igual que McCormack (6) y Gibbs (5) que reportan una incidencia del 60% a 80% mientras que el *M hominis* lo encuentran en un 30% al 50%. Lefevre y col. (35) en Toulouse, Francia, consiguen una incidencia del 23,8% de *M hominis* en 392 mujeres, porcentaje similar al encontrado en este estudio; Castellano y col. (10) en Maracaibo, Venezuela, en 93 casos estudiados reportan una incidencia de 39,9% de *M hominis* y 21,54% *U urealyticum*. Unzeitig y col. (36) en Checoslovaquia encontraron una incidencia en 456 mujeres de 34,6% de *M Hominis*, 64,7% de *U urealyticum* y 27,3% de ambas especies; Kovacs y col. (37) en 1 000 pacientes que asistieron a una consulta de planificación familiar en Australia, aislaron el *U urealyticum* en un 48,8% y el *M hominis* en un 16,4%; Orduna y col. (38) una incidencia de *U urealyticum* de 24,6% y *M hominis* 25% en 5 076 mujeres que acudieron a la consulta de enfermedades de transmisión sexual en España; como vemos la frecuencia y predominio de las especies varían de un autor a otro y diferentes países, sin seguir un patrón definido.

Bajares de Lilue y col. (39) reportan una incidencia de *U urealyticum* del 41,2% y *M hominis* 3,9% cifras algo dispares al compararlas con las de esta investigación, sin embargo, en su estudio, los MG fueron investigados sólo en pacientes privados no coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación puesto que en nuestro universo no hubo predominio de una cepa sobre otra, indiferentemente de la condición socioeconómica. McCormack y col. (6) y Taylor y col. (8) reportan estos MG más frecuente en pacientes hospitalarios, mayor el *U urealyticum* no coincidiendo con nuestros resultados; probablemente se debe a que en nuestra investigación el número de pacientes privadas fue mayor influyendo el factor económico de las pacientes.

La incidencia de *Ct* coincide con resultados obtenidos por nosotros en investigaciones previas del 13,9% (16) y 12,8% (17); valores parecidos a los reportados por Sweet y col. (13), Watts y Eschenbach (15) y Harrison y col. (22). El Kader y col. (4) en Maracaibo dan una incidencia del 8% en el grupo de mujeres que sirvieron de control mientras que en prostitutas hubo un 21,3% de *Ct*, valores bastantes

similares a los hallados por otros autores en consultas de enfermedad de transmisión sexual (13) mientras que Nayyar y col. (41) en el mismo grupo poblacional en dos diferentes ciudades encontraron valores del 25,3% y 16,6%.

Smith y col. (42) en adolescentes de bajos recursos socioeconómicos de la ciudad de Nueva York, que asisten a la consulta de planificación familiar encontró una incidencia del 27,4%. Bajares de Lilue y col. (39) la reportan bastante más baja, sin embargo, en nuestro grupo el resultado del chlamydiazyme no mostró diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos socioeconómicos.

McCormack y col. (43) encontraron una clara relación entre la actividad sexual y la presencia o colonización vaginal por los MG, por lo tanto, se asume que se disemina o propaga por vía del contacto sexual; en China, Wang (44) encuentra la misma relación entre el comportamiento sexual y la colonización de la vagina por los MG. Sin embargo, los MG a menudo se aíslan de muestras de orina y del área genital en niñas prepuberales; el *M hominis* se ha reportado en ellas en 8% a 9% y el *U urealyticum* en 9% a 22% (8,9,34,43,45). En otras palabras, la colonización ocurre principalmente como resultado de la actividad sexual y esta colonización depende del número de compañeros sexuales (6,8,43), más recientemente otros autores como Kovacs y col. (37) y Unzeitig y col. (36) encuentran esta asociación. En nuestra investigación observamos que esta premisa está presente porque los MG fueron aislados en el grupo de mujeres que reportan haber tenido 3 o más compañeros sexuales, de ellos el *U urealyticum* en un 73% de las pacientes; igualmente McCormack (43) consigue la misma relación; sin embargo, Elshibly y col. (46) dan una prevalencia más elevada del *M hominis* pero en mujeres que hubiesen tenido 10 o más compañeros sexuales.

Asimismo, Unzeitig y col. (36) refieren que el número de relaciones sexuales aumenta 4 veces el riesgo de colonización de la vagina por *M hominis* y mencionan que el riesgo de colonización de la vagina por *U urealyticum* es 7,7 veces más alto en aquellas mujeres con un número elevado de compañeros sexuales (más de 4) que con una sola pareja sexual.

Por el contrario, Bump y col. (47) en adolescentes vírgenes y mujeres sexualmente activas no encontraron ninguna diferencia estadísticamente significativa con relación a la prevalencia de *M hominis* y *U urealyticum* pero para la *Ct*, el mismo

autor reportó una incidencia del 19% en mujeres sexualmente activas contra un 2% en vírgenes, lo que demuestra claramente la importancia de la transmisión sexual para la *Ct*.

Respecto al número de compañeros sexuales en las pacientes con *Ct* positiva encontramos que el 50% refirió haber tenido una sola pareja pero el 33,3 reportó entre 4 y 5, valor cercano al reportado por El Kader y col. (40) pero en prostitutas; con relación a la edad de la PRS, encontramos que un 71,4% de las mujeres tuvieron su PRS antes de los 20 años porque entre más temprano comienza la actividad sexual más probabilidad de infectarse, aunque esta cifra fue bastante más alta que la reportada previamente por nosotros del 48% (17).

La mayor incidencia de MG la encontramos en la década de los 20 (35,48), 51% que coincide con la cifra de Castellanos y col. (10), la cual fue del 52,6%. La edad promedio de las pacientes en este estudio fue del $32,1 \pm 7,7$ años, otros autores reportan edades promedios más bajas (6,34). Igualmente ocurrió con la *Ct*.

En cuanto a la paridad, la mayoría de los cultivos positivos se encontraron en las nulíparas y el *M hominis* predominó en este grupo (68%) pero en las mujeres que habían parido predominó el *U urealyticum* (71%), el número de partos no influyó en esta distribución; similar hecho ocurrió con la *Ct*.

Desde los años sesenta, los MG se han asociado o se han mencionado como causa de aborto espontáneo (2,6,8,9), sin embargo, esta relación causal requiere investigaciones que establezcan la patogenicidad y estudios controlados-placebos de antibióticos en pacientes que hayan tenido abortos espontáneos a repetición (49). Diez pacientes de las 31 que tuvieron abortos espontáneos, 65% fueron *M hominis* y 45% *U urealyticum*, Witkin y col. (50) y Chang y col. (51) encontraron un 36% y 55% respectivamente la presencia de *U urealyticum* en mujeres con abortos espontáneos. No se encontró ninguna relación de la *Ct* y aborto.

Diferentes autores (6,8) han reportado el *M hominis* y el *U urealyticum* en mujeres con cervicitis y/o vaginitis 2 veces más frecuente que aquellas sin esas patologías, incluso el *M hominis* se ha mencionado como un microorganismo que juega un papel importante en la vaginosis bacteriana (6,8,49). Cuarenta y cinco por ciento de nuestras pacientes que presentaban flujo vaginal fueron positivas a los MG y un 39% de las 23 que presentaron flujo endocervical, cifras algo más bajas a las reportadas por McCormack y col. (6,49) y Taylor y McCormack

(8). McCormack y col. (49) reportan que se ha aislado el *M hominis* del cuello uterino y uretra de pacientes con colpitis en mayor proporción que en pacientes controles. Llama la atención que sólo 26% de las 23 pacientes con endocervicitis agudas presentaron resultados positivos para el Chlamydiazyme, valor bastante bajo a los citados por Brunham y col. (52). El 80% de pacientes con *Ct* tienen endocervicitis y 75% con endocervicitis aguda son positivas a *Ct* coincidiendo con Droegemueller (53) en las mismas apreciaciones de Nader y col. (54) en Argentina reportan una incidencia algo más baja del 42,8% en pacientes con cervicitis.

Hay evidencias que los MG pueden tener un papel responsable en la EIP (6,8,9,55); de igual manera, hay reportes de aislamiento del *M hominis* en trompas, abscesos tubo-ováricos y pelvianos (2,6,8,9,45,55,56), además del gonococo y la *Chlamydia trachomatis* (10,15,16,57-61).

McCormack y col. (6) y Taylor-Robinson y McCormack (8) sugieren que el *M hominis* puede jugar un rol muy importante en la salpingitis y/o EIP más que el *U urealyticum*; Prabhakaran y col. (48) aislaron *M hominis* en pacientes con EIP del endocervix en el 54,9%; en esta investigación encontramos un 60% igual que Castellano y col. (10). Los autores mencionados al principio no lograron encontrar una relación entre estos microorganismos y la EIP mientras que basados en nuestras cifras esta relación existe porque de 14 pacientes con salpingitis y/o EIP, 10 fueron positivas a los MG.

Encontramos sólo un 5,5% de *Ct* positiva en 14 pacientes que consultaron por EIP aguda, esta cifra es sorprendentemente baja con respecto a las reportadas por Heinonen y Miettinen (58) del 44%, Dan y col. (62) 35% y Hoosen y col. (63) 30%; la conclusión que se extrae con respecto a este hallazgo es que nuestro universo de pacientes con EIP fue pequeño, lo que explicaría esa cifra tan baja.

Las lesiones pre-malignas y malignas del cuello uterino son de origen multifactorial (17,64-68) y entre los que se mencionan son las infecciones vaginales y/o cervicales y enfermedades de transmisión sexual tales como *Chlamydia trachomatis*, *M Hominis*, *U urealyticum*, etc. De las 52 pacientes que presentaron dicha patología sólo 24 casos fueron positivos a los MG, esto no fue estadísticamente significativo.

Cardillo (69) reporta el *M Hominis* y el *U urealyticum* en un 35,89% y 25,54% respectivamente en citologías vaginales con proceso inflamatorio

sugestivo de *Chlamydia trachomatis*, este último fue encontrado en el 56,4% de los cultivos y en el 51,3% de las pruebas con inmunofluorescencia; Vignjevic y col. (70) reportaron el *U urealyticum* en un 30,2% y el *M hominis* en un 14,3% en mujeres con hallazgos citológicos anormales pero Hill (71) cita una posible asociación entre el *U urealyticum* con el NIC III igualmente Guijon y col. (72) en Canadá obtuvieron una probable correlación entre el *U urealyticum* y el NIC. Szostek y col. (73) reportaron una incidencia del *U urealyticum* del 40,5% en pacientes con NIC pero también encontraron una incidencia del 66,6% en mujeres cuyos resultados histopatológicos fueron inflamatorios; en esta investigación predominó el *M hominis* sobre el *U urealyticum* pero no se encontró una diferencia estadísticamente significativa. La *Ct* se obtuvo en este estudio, en un porcentaje menor que la anterior reportada por nosotros (17) del 14,6% similar al de Szostek y col. (73) del 14,3%.

Se ha mencionado (6) que estos microorganismos pueden dañar las trompas debido a los cambios inflamatorios crónicos que producen por lo que se enumeran como posible causa de infertilidad tal como sucede con el gonococo y la *Ct* (6,8), ahora bien, si la esterilidad es consecuencia de una infección remota esto es más difícil de establecer. En nuestro estudio lo que llama la atención es que todos los casos positivos a los MG tenían esterilidad primaria, igualmente los resultados muestran un predominio del *M hominis* en dichas pacientes, pero Sweet (2), Reid y col. (56) y Samra y col. (74) encontraron al *U urealyticum* como el MG más frecuente aislado en mujeres con esterilidad. Autores como Castellano y col. (10) reportan una incidencia de 16,4% y Berclaz y col. (75) un 25% muy similares a nuestras cifras.

El porcentaje de positividad de la *Ct* en este estudio es similar al hallado previamente por nosotros (17); estos valores son más bajos que los reportados por Berclaz y col. (75) del 25%, Cisse y col. (76) 33% y Marais y col. (77) 35,9%.

El estudio nos mostró:

1. La *Ct* es un patógeno de transmisión sexual exclusivamente;
2. Cerca de la mitad de las pacientes fueron positivas a los MG pero no se encontró predominio de ninguna especie y la *Ct* fue encontrada en alrededor de la décima parte de las pacientes, valor similar al hallado en otras investigaciones realizadas en nuestro medio;
3. Aquellas mujeres que teniendo un mayor número

- de parejas sexuales tienen mayor posibilidad de estar contaminadas con los MG y específicamente con el *U urealyticum* con la Ct;
4. Las mujeres infectadas con los MG y *Ct* tienen mayor posibilidad de haberlos adquirido si su primera relación sexual ocurrió antes de los 20 años pero no encontramos una significancia estadística entre relaciones sexuales tempranas y mayor frecuencia de MG;
 5. En relación con la paridad, los MG se observaron en un alto porcentaje de las nulíparas y, a su vez la mayoría de los casos presentó el *M hominis*, esto nos pudiera orientar a pensar que aquí el *M hominis* se está comportando como un comensal, por el contrario el *U urealyticum* se observó en mayor número de pacientes que habían parido pero no fue estadísticamente significativo, así mismo, el número de partos no influyó en la distribución de los MG; con relación a la *Ct* se encontró el mismo fenómeno;
 6. No se halló ninguna influencia de los 3 patógenos y los abortos espontáneos;
 7. Hubo una relación significativa entre la infección por los MG y EIP no así para la *Ct* probablemente por número pequeño de la población estudiada;
 8. No se determinó ninguna correlación entre los 3 gérmenes de transmisión sexual y la aparición y evolución de las lesiones pre-malignas y malignas del cuello uterino; y
 9. No se encontró ninguna relación estadísticamente significativa entre los MG y la *Ct* y las pacientes que consultaron por esterilidad pero llamó la atención que todos los casos positivos fueron pacientes que consultaron por esterilidad primaria.

REFERENCIAS

1. Dienes L, Edsall G. Observation on the L-organism of Klienerberger. *Poc Soc Exp Biol Med* 1937;36:740-744.
2. Sweet R. Infections diseases of the female genital tract. 2ª edición. EE.UU. Baltimore: William & Wilking; 1990.p.38-44.
3. Busolo F, Zanchette R, Bertoloni G. Mycoplasma localization patterns on spermatozoa from infertile men. *Fertil Steril* 1984;42:412-417.
4. Kulugdan T, Chan P, Scray I, King A. Polymerase chain reaction enzymelinked immunoabsorbent assay detection of mycoplasma consensus gen in sperm with low oocyte penetration assay. *Fertil Steril* 1996;66:793-797.
5. Gibbs R. Microbiology of the female genital tract. *Am J Obstet Gynecol* 1987;136:491-495.
6. McCormack W, Braun P, Lee YH, Klein JO, Kass ED. The genital mycoplasmas. *N Engl J Med* 1973;288:78-89.
7. Romero R, Ghidini A, Mazor M, Behnke E. Microbial invasion of the amniotic cavity in premature rupture of membranes. *Clin Obstet Gynecol* 1991;34:769-778.
8. Taylor-Robinson D, McCormack W. The genital mycoplasmas. *N Engl J Med* 1980;302:1003-1010.
9. Taylor-Robinson D. Ureaplasma urealyticum (mycoplasma cepa T) y Mycoplasma hominis. En: Mandel G, Gordon R, Bennett J, editores. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. 3ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1990.p.1538-1543.
10. Castellano M, Gallegos B, Gallegos L, Soto M. Mycoplasma hominis, Ureaplasma urealyticum y Mycoplasma fermentans: Su relación con patologías del tracto genital humano. *Kasmera* 1996;24(2):63-81.
11. Fourmaux S, Bebear C. Urogenital infections linked to chlamydia and mycoplasmas. *Prog Urol* 1997;7(1):132-136.
12. Sweet R. Infection diseases of the female genital tract. 2ª edición. Baltimore: Willians & Wilkins; 1990.p.45-73.
13. Sweet R, Schatcher J, Landres D. Chlamydial infections in obstetrics and gynecology. *Clin Obstet Gynecol* 1983;26:143-164.
14. Bajares de Lilue M. Infecciones ginecológicas por clamidia. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1996;56(Supl):S11-S22.
15. Watts D, Eschenbach D. Treatment of chlamydia, mycoplasma, and group B streptococcal infections. *Clin Obstet Gynecol* 1988;31:435-452.
16. Núñez Troconis JT, Gallegos B, Noriega C. Incidencia de *Chlamydia trachomatis* en pacientes con esterilidad. *Invest Clin* 1990;51(2):91-104.
17. Núñez-Troconis JT. Neoplasia intraepitelial cervical: *Chlamydia trachomatis* y otros co-factores. *Invest Clin* 1995;36(3):101-116.
18. Núñez-Troconis JT. Enfermedades de transmisión sexual. *Rev Acad Med Zulia* 1996;29(1-2):9-25.
19. Andrews WW, Lee HH, Roden WJ, Mott CW. Detection of genitourinary tract *Chlamydia trachomatis* infection in pregnant women by ligase chain reaction assay. *Obstet Gynecol* 1997;89:556-560.
20. Hillis SD, Owens LM, Marchbanks PA, Amsterdam LE, Mac Kenzie WR. Recurrent chlamydial infections increase the risks of hospitalization for ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:103-107.
21. Graber C, Williamson O, Pike J, Valicenti J. Detection of *Chlamydia trachomatis* infection in endocervical specimens using direct immune fluorescence. *Obstet Gynecol* 1985;66:727-750.
22. Harrison H, Costin M, Meder J, Bowndo L, Sim D,

- Lewis M, et al. Cervical chlamydia infection in university women: relationship to history, contraception, ectopy and cervixes. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:244-251.
23. Livengood CH, Schmitt J, Addison W, Wrenn J, Magruder K. Direct fluorescent antibody testing for endocervical *Chlamydia trachomatis*: factors affecting accuracy. *Obstet Gynecol* 1983;72:803-805.
 24. NIAID Study Group. Sexually transmitted disease: 1980 status report. NIH publication. Washington DC 1981;81:2213-2221.
 25. Sexually transmitted diseases Guidelines 1982. *Morbidity Mortal* 1982;31:325-340.
 26. Centers For Disease Control and Prevention. Recommendations for the prevention of *Chlamydia trachomatis* infections. *MMWR* 1993;42:1-39.
 27. Schatcher J. Chlamydial infection. *N Engl J Med* 1978;298:428-490.
 28. Walter M, Eddy C, Gibbs R, Schatcher J, Holden A, Panerstein C. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* and risk for tubal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:942-946.
 29. Washington A, Katz P. Cost and payment source for pelvic inflammatory disease. *JAMA* 1991;266:2587-2593.
 30. Sweet R. Chlamydial salpingitis and infertility. *Fertil Steril* 1982;38:530-535.
 31. Rolfs R, Galaid E, Zaidi A. Pelvic inflammatory disease: Trends in hospitalization and office visits 1979 through 1988. *Am J Obstet Gynecol* 1992;166:983-990.
 32. Acosta L, Bajares de Lilue M, Marino N, Febres N, Núñez J, Sileo E, et al. Cervicitis mucopurulenta por clamidia o gonococo: tratamiento con dosis única de azitromicina. *Rev Obstet Gynecol Venez* 1996;56(Supl):S33-S38.
 33. De Moreno NO, De Richard L, Leon X. Presencia de Mycoplasmas en mujeres de edad fértil. *Rev Med Panamá* 1993;18(3):238-241.
 34. Mardh PA, Elshibly S, Kallings I, Helberg D. Vaginal flora changes associated with *Mycoplasma hominis*. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:173-178.
 35. Lefevre JC, Averous S, Bauriaud R, Blanc C, Bertrand MA, Lareng MB. Lower genital tract infections in women comparison of clinical and epidemiologic findings with microbiology. *Sex Transm Dis* 1988;15(2):110-113.
 36. Unzeitig V, Bucek R, Blaha O. Epidemiology of vaginal mycoplasma. *Cesk Gynecol* 1990;55(4):241-246.
 37. Kovacs GT, Westcott M, Rusden J, Asche V, King H, Haynes SE, et al. Microbiological profile of the cervix in 1 000 sexually active women. *Aust N Z J Obstet Gynecol* 1988;28(2):216-220.
 38. Orduna-Domingo A, Chu JJ, Eiros-Bouza JM, Bratos-Pérez MA, Gutiérrez-Rodríguez MP, Almarac-Gómez A, et al. Distribución por edad y sexo de las enfermedades de transmisión sexual en Valladolid. Estudio de 5 076 casos. *Rev Sanid Hig Publica Madr* 1991;65(3):247-258.
 39. Bajares de Lilue M, Mazzalli de Iija R, Santiago A, Ferrini A, Adames Z. Estudio comparativo entre oxitromicina y doxiciclina en infecciones por *Mycoplasmas* y *Chlamydia*. *Rev Obstet Ginecol Venez* 1993;53:211-216.
 40. El Kader DA, Osorio ME, Parra K, Uzcátegui S. Incidencia de *Chlamydia trachomatis* en las mujeres prostitutas de la ciudad de Maracaibo. *Acta Cientif SVBE* 1993;2:23-28.
 41. Nayyar KC, Cummming M, Weber J, Benes S, Stolz E, Felman Y, et al. Prevalence of genital pathogens among female prostitutes in New York and Rotterdam. *Sex Transm Dis* 1996;13(2):105-107.
 42. Smith DB, Phillips LE, Faro E, McGrill L, Wait RB. Predominant sexually transmitted diseases among different age ethnic groups of indigent sexual active adolescents attending a family planning clinic. *J Adolesc Health Care* 1988;9(4):291-295.
 43. McCormack WM, Almedia PC, Bailey PE, Grady EM, Lee YH. Sexual activity and vaginal colonization with genital mycoplasmas. *JAMA* 1972;221:1375-1377.
 44. Wang N. Epidemiological study on mycoplasmas colonization and infection in the female genital tract. *Chung Hua Liu Hsing Ping Hsueh Tsa Chih* 1992;13(6):368-371.
 45. Sweet R. Colonization of the endometrium and fallopian tubes with ureaplasma urealyticum. *Pediatr Infect Dis* 1986;5(6):S244-246.
 46. Elshibly S, Kallings I, Hellberg D, Mardh PA. Sexual risk behavior in women carriers of *Mycoplasmas hominis*. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:1124-1128.
 47. Bump RC, Sachs LA, Buesching WJ. Sexually transmissible infections agents in sexually active and virginal asymptomatic adolescent girls. *Pediatrics* 1986;77(4):488-494.
 48. Prabhakar K, Subramanian S, Thyagarajan. *Mycoplasma hominis* in pelvic inflammatory disease. *Indian Pathol Microbiol* 1994;37(3):293-298.
 49. McCormack WM, Rosner E, Alpert S, Evrard JR, Crockett VA, Zinner SH. Vaginal colonization with *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*. *Sex Transm Dis* 1986;13(2):67-70.
 50. Witkin SS, Kligman I, Grifo JA, Rosenwaks Z. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* detected by polymerase chain reaction in the cervixes of women undergoing in vitro fertilization: Prevalence and consequences. *J Assis Reprod Genet* 1995;12(9):1125-1129.
 51. Chang SY, Ling TS, Fu OH. *Ureaplasma urealyticum* infection in spontaneous abortion. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1994;29(4):230-231.
 52. Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE. Mucopurulent cervicitis. The ignored counterpart in women of arthritis in men. *N Engl J Med* 1984;311:1-6.

INVESTIGACIÓN DE TRES PATÓGENOS

53. Droegemueller W. Infections of the lower genital tract. En: Herbst AL, Mishell DR, S Stenchever A, Droegemuller, editores. *Comprehensive gynecology*. 2ª edición. New York: Mosby Year Book 1992.p.633-668.
54. De Nader OM, de Gutierrez RC, de Ruiz CS, Feler E, de Ruiz AP. Prevalencia en Tucumán de *Chlamydia trachomatis* y *Ureaplasma urealyticum* en mujeres sexualmente activas. *Rev Argent Microbiol* 1992;24(3-4):145-150.
55. Taylor-Robinson D, McCormack WN. Mycoplasmas in human genitourinary infections. En: Tully JG, Whitcomb RF, editores. *The Mycoplasmas Vol. 2. Human and animal mycoplasmas*. New York: Editorial Academic Press; 1979.p.307-366.
56. Reid I, Martínez MA, Biron M, Aceituno R. *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en embarazadas e infértiles. Diferencias en patología tubárica. *Rev Chil Obstet Gynecol* 1993;58(5):349-354.
57. Amortequi A, Meyer M. Enzyme-immunoassay for detection of *Chlamydia trachomatis* from the cervix. *Obstet Gynecol* 1985;65:523-526.
58. Heinonen PK, Miettinen A. Laparoscopic study on the microbiology and severity of acute pelvic inflammatory disease. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1994;57(2):85-89.
59. Osser S, Persons K. Postabortal pelvic infection associated with *Chlamydia trachomatis* and the influences of humoral immunity. *Am J Obstet Gynecol* 1994;150:699-705.
60. Schatcher J. Chlamydial infection. *N Engl J Med* 1978;298:428-490.
61. Weismeier E, Lovett M, Forsythe A. *Chlamydia trachomatis* isolation in an asymptomatic university student population. *Obstet Gynecol* 1984;63:81-84.
62. Dan M, Samra Z, Katz A, Debby A, Gutman R, Zukut H. Etiology of acute pelvic inflammatory disease proven by laparoscopy. *Sex Transm Dis* 1993;20(3):158-163.
63. Hoosen AA, Quinlan DJ, Moodley J, Kharsany AB, Van den Ende J. Sexually transmitted pathogens in acute pelvic inflammatory disease. *S Afr Med J* 1989;76(6):251-254.
64. Gissm L. Linking HPV to cancer. *Clin Obstet Gynecol* 1989;32:141-147.
65. Roy M, Morin C, Casas-Cordero M, Miesles A. Human papillomavirus and cervical lesions. *Clin Obstet Gynecol* 1984;26:722-730.
66. Stone K. Epidemiologic aspects of genitals HPV infection. *Clin Obstet Gynecol* 1989;32:112-116.
67. Thomas D. An epidemiologic study of carcinoma in situ and squamous dysplasia of the uterine cervix. *Am J Epidemiol* 1973;98:10-28.
68. Wilkinson E. Pap smears and screening for cervical neoplasia. *Clin Obstet Gynecol* 1994;171:455-460.
69. Cardillo MR. Cervical *Chlamydia trachomatis* and mycoplasmal infections in women with abnormal Papanicolaou smears. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1988;15(4):161-167.
70. Vignjevic D, Greejic J, Vukosavic BC, Heinar R, Smalgo L. Genital infections in adolescence. *Jugol Ginekol Perinatol* 1989;29(1):48-49.
71. Hill AC. Mycoplasmas, a review of surveys examining human genital infections and experimental infection in mice with especial reference to in vitro fertilization. *Lijec Vjesn* 1990;112(11-12):358-360.
72. Guijon F, Paraskevas M, Rand F, Heywood E, Brunham R, McNicol P. Vaginal microbiological flora as a cofactor in the pathogenesis of uterine cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Obstet* 1992;37(3):185-191.
73. Szostek S, Wojtys A, Zgorniak-Nowosielska I. Papilloma virus in women with cervical pathology. *Med Dosw Mikrobiol* 1993;45(1):133-136.
74. 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(1):69-73.
75. Berclaz G, Hanggi W, Birkhauser M, Gyr T, Konig C, Gerber-Huber S. Chlamydia and Mycoplasma infection in men of couples with involuntary sterility. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 1993;53(8):539-542.
76. Cisse CT, Cisse ML, Moreira IV, Dionne P, Diadhiou F. Sexually transmitted diseases and female sterility at the University Hospital Center of Dakar: management and prevention. *Contracept Fertil Sex* 1997;25(1):58-63.
77. Marais NF, Wessels PH, Smith MS, Gericke A, Richter A. *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* infections in women. Prevalence, risks and management at a South African infertility clinic. *J Reprod Med* 1991;36(3):161-164.