

El diagnóstico de Infecciones de Transmisión Sexual por la técnica de biología molecular es la mejor estrategia para su diagnóstico oportuno y específico. Un caso clínico

Santiago Estrada-Mesa^{1,*}, Angélica Jaramillo-Gómez¹, Catalina López-Jaramillo¹

Resumen

Se presenta el caso de un paciente a quien se le diagnosticó una Infección de Transmisión Sexual (ITS) por la técnica de PCR múltiple y en quien se logró por esta técnica, detectar cuatro agentes diferentes simultáneamente: *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum/parvum* y *Trichomonas vaginalis*, situación esta, que no hubiera sido posible utilizando el procedimiento estándar.

Palabras clave: Uretritis (hombre), PCR múltiple, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum/parvum* y *Trichomonas vaginalis*

The diagnosis of Sexually Transmitted Infections by the molecular biology technique is the best strategy for its timely and specific diagnosis. A clinical case.

Summary

Here we report the case of a patient with a Sexually Transmitted Disease (STI) in whom four different agents were detected by a multiple PCR technique: *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum / parvum* and *Trichomonas vaginalis*. This detection of multiple agents would not have been possible using conventional procedures.

Key words: Urethritis (man), multiplex PCR, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum/ parvum*, *Trichomonas vaginalis*

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son un problema creciente en todo el mundo; según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada día 1 millón de personas contraerán una ITS; se estima además, que anualmente, 357 millones de personas contraen alguna de las cuatro ITS más frecuentes: clamidia, gonorrea, sífilis y tricomonas y para agravar el problema, en la mayoría de los casos, las ITS son asintomáticas o solo van acompañadas de síntomas leves que no necesariamente hacen sospechar el diagnóstico de ITS¹

En cuanto a la etiología de la uretritis, esta se divide en dos grupos según los agentes responsables: uretritis gonocócica (UG) cuyo agente etiológico es *Neisseria gonorrhoeae* y la

uretritis no gonocócica (UNG) donde están involucrados un grupo mayor de agentes entre los cuales se encuentran: *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, Herpes simplex, Adenovirus, y los co-liformes en Hombres que tiene sexo con hombres (HSH)². Existe además un tercer grupo de uretritis denominado uretritis idiopática (UI) o de etiología desconocida^{2,3}

Para realizar el diagnóstico etiológico de las ITS, generalmente es necesario realizar varios exámenes: cultivos, pruebas serológicas, directos, coloraciones y biopsias; sin embargo existe un grupo de microorganismos como *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, que casi nunca es posible estudiarlos por los métodos convencionales como el cultivo, el cual puede

¹ Laboratorio clínico VID Congregación Mariana, Medellín, Antioquia, Colombia

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: sestrada@vid.org.co CI 52 # 42-30 Medellín Colombia

Recibido: 23/09/2020; Aceptado: 23/09/2020

Cómo citar este artículo: S. Estrada-Mesa, et al. El diagnóstico de Infecciones de Transmisión Sexual por la técnica de biología molecular es la mejor estrategia para su diagnóstico oportuno y específico. Un caso clínico. Infectio 2021; 25(2): 135-137

tomar varias semanas y aun meses, por ser estos microorganismos de difícil crecimiento y por carecer de membrana celular, no toman tampoco la coloración de Gram y por lo tanto no se pueden observar con esta coloración⁴ y es entonces la técnica de biología molecular la prueba ideal para identificarlos.

En nuestro país no se tiene información actualizada ni estadísticas oficiales de las ITS más frecuentes como gonorrea, clamidia, sífilis, herpes y tricomonas, puesto que no es obligatorio su reporte en el Sistema de Notificación Obligatoria (Sivigila); y mucho menos los otros agentes como *Mycoplasma sp* y *Ureaplasma sp* por primera vez reportados en nuestro medio en esta publicación (no encontramos referencias de estudios nacionales en la literatura revisada).

Con la descripción de este caso clínico, pretendemos demostrar la importancia que tiene la prueba de PCR múltiple con capacidad de detectar en una misma muestra hasta 6 microorganismos responsables de uretritis, cervicitis, proctitis y portadores en faringe de los mismos agentes. Además también, con esta PCR, se puede detectar los principales agentes etiológicos de úlcera genital. Esta PCR, es una prueba comercial de la casa Master diagnóstica®.

Descripción del caso clínico

MC y EA: paciente de 23 años de sexo masculino quien consultó porque hacía seis meses lo habían tratado para una gonorrea y quería hacerse un control post-tratamiento, pues según él, volvió a presentar escasa secreción uretral, sin otros síntomas.

Antecedentes personales: patológicos, quirúrgicos, alérgicos, y traumáticos, todos negativos. Antecedentes de ITS: gonorrea hace 6 meses.

Hábitos: no fuma, no consumo de drogas ilícitas, ni licor social

Examen físico

Paciente en buenas condiciones generales

Signos vitales: PA: normal, Pulso: 80/minuto, Cabeza y cuello: C/N, Cardio-pulmonar: C/N, Abdomen: C/N, Neurológico: C/N, Osteomuscular: C/N

Genitales: no adenopatías inguinales, escasa secreción por la uretra de tipo mucoso

Exámenes ordenados y resultados

Gram de secreción uretral reportó: abundante reacción leucocitaria ($\geq$ de 10 PMN por 1000x), no se observan gérmenes.

PCR múltiple: se identificaron los siguientes microorganismos: *N. gonorrhoeae*, *M. hominis*, *U. urealyticum/parvum* y *T. vaginalis*. Esta técnica de PCR, consiste en la amplificación simultánea de ADN bacteriano, viral y de protozoos mediante PCR múltiple en un solo paso directamente a partir de extractos celulares, seguido de hibridación en membrana con sondas de ADN específicas mediante la tecnología DNA-Flow para plataformas HybriSpot, tanto automática como manual.

Los amplicones biotinados generados tras la PCR múltiple se hibridan en membranas que contienen un array de sondas específicas para cada patógeno humano, así como sondas control de amplificación e hibridación. En contraste con la hibridación en superficie convencional, la tecnología DNA-Flow permite una unión muy rápida entre el producto de PCR y su sonda específica en un ambiente tridimensional poroso. Una vez producida la unión entre los amplicones específicos y sus sondas correspondientes, la señal se visualiza mediante una reacción inmunoenzimática colorimétrica con Estreptavidina-Fosfatasa y un cromógeno (NBT-BCIP) que genera precipitados insolubles en la membrana en aquellas posiciones en las que ha ocurrido la hibridación. Los resultados son analizados automáticamente con el software HybriSoft⁵. Ver figura

Al paciente se le prescribió ceftriaxona de 500 mg, más 2 gr de azitromicina, más tinidazol 2 g dosis única más doxiciclina de 100 mg cada 12 horas por 7 días. El paciente se citó a revisión a los 10 días y dijo haber tenido mejoría total.

Discusión

El diagnóstico por laboratorio de las ITS que causan uretritis, se realiza comúnmente con varias pruebas de laboratorio, que incluyen: coloración de Gram que define la presencia de uretritis; y permite clasificar esta en dos grupos: UG, la cual se define por la presencia de más de 5 polimorfos nucleares neutrofilos (PMN) por campo de 1000x donde se observan además diplococos intra o extracelulares; y UNG, donde se observa el mismo número de PMN por campo de alto poder, pero no se ven gérmenes. Esta clasificación por coloración de Gram siempre se debe hacer, puesto que permite hacer la clasificación de la uretritis en UG o UNG e iniciar un tratamiento empírico según lo observado en el Gram, independiente de las técnicas que se vaya a emplear para conocer la etiología de los diferentes agentes responsables de la uretritis⁵. Una vez clasificada la uretritis por la coloración de Gram, se inicia el procedimiento para la identificación de los diferentes agentes: cultivo para gonococo, que en promedio se demora tres o cuatro días, incluyendo el antibiograma; prueba para clamidia por inmunofluorescencia directa (IFD) la cual se demora un día previa programación y directo en solución salina para tricomonas el mismo día. Estas son las pruebas que generalmente están disponibles en nuestro medio; sin embargo otros microorganismos también responsables de la UNG como *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum*, *U. parvum*, y herpes virus 1 y 2, no son detectados actualmente por las pruebas de uso rutinario, es por eso que gracias a la biología molecular utilizando PCR múltiple, podemos identificarlos; y no solo eso, sino también que dicha identificación se puede hacer el mismo día y en la misma muestra⁸

La prueba que nosotros utilizamos es una prueba de PCR múltiple e hibridación reversa que detecta casi todos los microorganismos responsables de ITS. En el caso de este paciente, queremos destacar tres aspectos que nos parecieron importantes:

- Es importante tener en cuenta que la uretritis mixta en hombres es común⁸; en este paciente se detectaron cuatro microorganismos diferentes (ver resultados en descripción del caso)

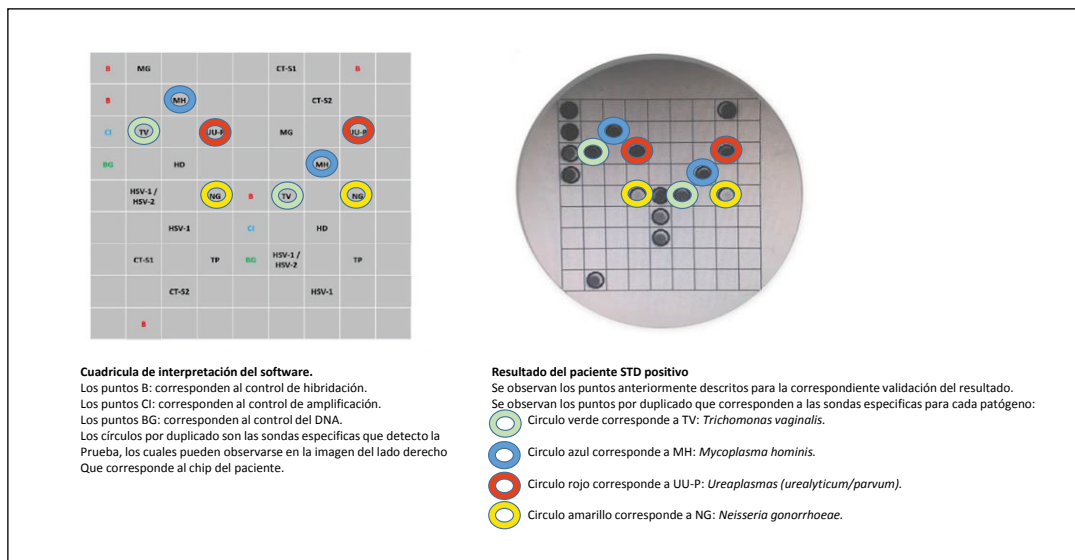


Figura 1. En la figura se observan dos componentes: el cuadrado donde software en los puntos B muestra el control de la hibridación, en los puntos CI, control de la amplificación y los BG control del DNA. En el círculo los duplicados de las sondas específicas para cada uno de los microorganismos amplificados e identificados

- El Gram que se le realizó a este paciente no mostró diplococos gramnegativos, ni intra ni extracelulares, por lo cual la uretritis de este paciente se clasificó como UNG.
- Teniendo en cuenta que en hombres con UG con descarga uretral, el Gram tiene una sensibilidad del 95% y una especificidad del 100%⁹; para la detección de *N. gonorrhoeae* y solo se pudo identificar por PCR un gonococo en este paciente; esto se puede explicar teniendo en cuenta que el paciente ya había sido tratado y posiblemente el tratamiento no fue completo o se colonizó nuevamente con otro gonococo y en estos casos este paciente se clasificaría como un portador asintomático, donde claramente se documenta en la literatura que el 70% de las ITS son asintomáticas¹. Esta es entonces otra ventaja de la PCR, que puede detectar el paciente asintomático con uno o varios de los microorganismos responsables de las ITS, lo que no sucede con las pruebas estándar y esto nos permitió no solo hacer el diagnóstico oportuno sino cortar la cadena de transmisión.
 Al hacer el control posterior al tratamiento con ceftriaxona más azitromicina más doxiciclina más tinidazol¹⁰ a las cuatro semanas, no se detectó ningún germen, y se obtuvo mejoría clínica completa.

Todo lo anterior nos permite concluir que la prueba de biología molecular es la prueba ideal para el diagnóstico de pacientes con ITS, tanto sintomáticos como asintomáticos permiten un diagnóstico etiológico temprano y la detección de otros agentes asintomáticos, que estén colonizando al paciente.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos que permitan la identificación del paciente. El paciente otorgó consentimiento para publicación y la autorización reposa en poder del autor para correspondencia.

Conflictos de interés. Los autores declaran que no existen conflictos de interés de ninguna índole

Referencias

1. [http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)). Agosto 2016
2. Estrada S. Uretritis. En: Botero D, Restrepo M. Infecciones en la práctica médica. CIB. Fundamentos de medicina 2017. 523-530.
3. Horner P. The etiology of acute nongonococcal urethritis-the enigma of idiopathic urethritis?. Sex Transm Dis. 2011; 38 (3): 187-9
4. Suneeta S, Paddy H, Rayment M, Pinto-Sander N, Naous N, Parkhouse, A et al. British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with Mycoplasma genitalium. 2018
5. Incerto casa comercial STD Direct Flow Chip Kit Detección de patógenos responsables de enfermedades de transmisión sexual (ETS) mediante PCR múltiple e hibridación reversa.
6. Patrick J Horner, Karla Blee, Lars Falk, Willem van der Meijden, Harald
7. Moi, European Guideline on the management of non-gonococcal urethritis. 2016.
8. Sarier M, Kukul E. International Urology and Nephrology Classification of non-gonococcal urethritis: a review://doi.org/10.1007/s11255-019-02140-2. 51:901-907https. 2019.
9. Jordan SJ, Toh E, Williams JA, Fortenberry L, LaPradd ML, et al Aetiology and prevalence of mixed-infections and mono-infections in non-gonococcal urethritis in men: a case-control study. Sex Transm Infect. pii: sextrans-2019-054121. doi: 10.1136/sextrans-2019-054121. [Epub ahead of print].2019
10. Beilstein H, Evangelista, Abranson C. Laboratory diagnosis of gonorrhoeae. Cumitech 4^a. ASM. 1993
11. MMWR. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, Recommendations and Reports 2015. Vol. 64.