

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO



FACULTAD DE QUIMICA



**" INCIDENCIA DE CHLAMYDIA  
TRACHOMATIS EN MUJERES QUE ACUDEN  
A REALIZARSE EXAMENES VAGINALES  
DETERMINADA POR LAS TECNICAS DE  
INMUNOFLUORESCENCIA Y  
PAPANICOLAOU "**

Tesis individual que presenta la P. María Eugenia Cadena Inostrosa para obtener el título de Químico farmacéutico-biólogo.

Querétaro, Qro., Marzo de 1994

... H54113 --

TS

618,142 -

C122i -

-----

# **AGRADECIMIENTOS**

**A Dios**

**A la Gorda y al Bicho  
por su confianza y apoyo**

**A mis hermanos y familia  
por estar conmigo**

**Con gratitud inestimable  
al personal de CLINILAB**

**De una forma muy especial  
por el apoyo incondicional  
y constante a la Dra. Irma  
Deleón Rodríguez.**

**A Juanón por estar conmigo**

**A mis sinodales por su  
paciencia y comprensión**

**A la Q.B. Susana Flores  
por su amistad**

**A la Escuela Nacional de  
Ciencias Biológicas de IPN.**

**Al Dr. Alberto Vazquez Mellado**

**A toda la gente que de alguna  
manera estuvo detrás de mí y  
ayudó en la realización de  
esta tesis.**

" INCIDENCIA DE  
CHLAMYDIA  
TRACHOMATIS EN  
MUJERES QUE ACUDEN  
A REALIZARSE  
EXAMENES VAGINALES;  
DETERMINADA POR LAS  
TECNICAS DE  
INMUNOFLUORESCENCIA  
Y PAPANICOLAOU "

# INDICE:

Resumen .....	3
<b>Antecedentes</b>	
Enfermedades de transmisión sexual .....	6
Historia de las infecciones producidas por	
<u>Clamidias</u> .....	8
Incidencia .....	10
Clasificación y morfología .....	12
Ciclo vital .....	15
Estructura antigénica .....	18
Patología .....	20
Sintomatología .....	21
Profilaxis y tratamiento .....	22
Diagnóstico de laboratorio .....	23
<b>Objetivos .....</b>	<b>28</b>
<b>Justificación .....</b>	<b>30</b>
<b>Material y metodología</b>	
Diseño de la muestra .....	32
Toma y procesamiento de la muestra .....	33
Tinción de Inmunofluorescencia directa ...	34
Tinción de Papanicolaou modificada .....	35
<b>Resultados .....</b>	<b>37</b>
<b>Análisis de resultados y conclusiones .....</b>	<b>56</b>
<b>Sugerencias y recomendaciones .....</b>	<b>59</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>62</b>

# RESUMEN

•

En la actualidad las infecciones no gonocócicas producen algunas de las enfermedades más comunes transmitidas sexualmente y en su mayoría son causadas por **Chlamydia trachomatis**, que en algunas de las pacientes infectadas ocasiona uretritis, cervicitis, salpingitis, enfermedad pélvica inflamatoria, infertilidad y faringitis siendo sólo algunas de ellas sintomáticas. Esta bacteria gram negativa intracelular tiene la característica de formar cuerpos de inclusión en las células infectadas. Su ciclo vital de reproducción dura aproximadamente 40 horas.

Esta bacteria tiene una estructura antigénica que comprende un antígeno de género que es un lipopolisacárido, un antígeno de especie que es una proteína y un antígeno de tipo que también es una proteína.

**Chlamydia trachomatis** constituye una especie que ataca exclusivamente al ser humano, ya que actualmente no se conoce ningún reservorio animal. La sensibilidad de estos microorganismos en el medio externo parece vedar toda posibilidad de contaminación indirecta, de modo que las infecciones causadas por **Chlamydia trachomatis** se transmiten directamente de persona a persona.

En esta tesis se determinó la incidencia de **C. trachomatis** en pacientes aleatorias de diferentes clases socioeconómicas, que se presentaban a realizar un examen vaginal a un laboratorio clínico del sector privado, ya sea por control o por sintomatología. Se tomaron un total de 103 muestras de exudados vaginales por duplicado y se tñeron por las técnicas de Inmunofluorescencia directa y Papanicolaou modificada. Las laminillas se tñeron y se observaron en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N., encontrándose una frecuencia de 22.3 % empleando la tinción de Inmunofluorescencia directa y 5.8 % empleando la tinción de Papanicolaou modificada, por lo que se observó que la técnica Papanicolaou es sólo predictiva para el diagnóstico de la infección, en cuanto que la técnica de Inmunofluorescencia es más específica y confirmatoria para el diagnóstico de **C. trachomatis**.

# **ANTECEDENTES**

## ENFERMEDADES DE TRANSMISION SEXUAL:

El término enfermedades de transmisión sexual (ETS) comprende a todas las enfermedades infecciosas en las que la transmisión sexual tiene una importancia epidemiológica. Actualmente, al menos a 25 microorganismos y 50 síndromes se les reconoce el carácter de ser de transmisión sexual. Su amplio espectro clínico se ha ido conociendo en los últimos años, así como sus complicaciones para el paciente, sus parejas sexuales y también para su descendencia. Entre estos síndromes se incluyen además de los clásicos: uretritis, vaginitis, cervicitis, úlceras y verrugas genitales, la enfermedad pélvica inflamatoria, infertilidad, embarazo ectópico, aborto, neumonía del niño, mortalidad infantil, retraso psicomotor, SIDA y neoplasias. (5)

Pese a los progresos en el diagnóstico y el tratamiento de las ETS (que permiten la curación de la mayor parte de los enfermos y su conversión en no infecciosos), su incidencia ha aumentado. Entre los factores responsables de este paradójico aumento destacan: los cambios en el comportamiento sexual de las personas, la existencia de contactos sexuales mucho más variados (incluidos los contactos urogenitales y anorrectales), la aparición de cepas de microorganismos menos sensibles a la acción de los antibióticos, el carácter altamente móvil y viajero de la población actual, el elevado nivel de actividad sexual de algunos varones homosexuales, la ignorancia de los hechos reales por parte de los médicos y del público en general y la reticencia de muchos de estos pacientes a buscar tratamiento cuando se encuentran enfermos. (2)

Se han identificado los agentes etiológicos de la mayoría de las cervicitis en mujeres; uretritis, proctitis y faringitis en ambos sexos de transmisión sexual. Los términos utilizados antes para describir las formas no gonocócicas de estas infecciones son relativamente inexactos: uretritis inespecíficas o uretritis no gonocócicas (UNG). Aunque no se declaran todos los casos, es posible que este grupo de infecciones de transmisión sexual sean de las ETS más frecuentes. Uno de los agentes causales más frecuente es **Chlamydia trachomatis** (responsable de aproximadamente el 50 % de los casos declarados de cervicitis mucopurulenta no gonocócica). (2,18)

Las infecciones por clamidias transmitidas por contacto sexual son cuatro veces más frecuentes que la gonorrea, **C. trachomatis** es la causa principal de epididimitis y, como ya se mencionó, de uretritis no gonocócica; pero aún más importante es el hecho de que las infecciones por clamidia son la causa del 40 % de los casos de enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) y de un número indeterminado de infertilidad secundaria. (16). Además de cervicitis, salpingitis y el riesgo de exposición del recién nacido al pasar a través de un canal infectado. (20)

## HISTORIA DE LAS INFECCIONES PRODUCIDAS POR CLAMIDIAS:

El término *tracoma*, que significa ojo con rugosidades fué acuñado en el año 60 A.C. por Pedanius Dioscorides, un médico siciliano (3,27). Los primeros investigadores sobre tracoma, Halberstaedter y von Prowazek (1907) sugirieron que se formara una familia llamada *Chlamydozoa* ( del griego *Chlamys* que significa manto o cubierta) para indicar la presencia de una matriz, que rodea a los corpúsculos elementales en las preparaciones teñidas por Giemsa. El tracoma se transmitió desde el Medio Oriente a través de Europa llevado por los cruzados que regresaban a Tierra Santa, y las campañas egipcias de Napoleón produjeron un segundo reflujo de aparición de la infección.

Se pueden considerar las siguientes etapas en el conocimiento de las infecciones producidas por **Chlamydia**:

1. En 1884 Kroner sugirió que la oftalmía no gonocócica podía deberse a un agente infeccioso desconocido presente en el tracto genital materno.
2. En 1907 Halberstaedter y von Prowazek describieron las inclusiones intraepiteliales en los frotis conjuntivales de orangutanes infectados en forma experimental.
3. En 1909 Halberstaedter y von Prowazek describieron inclusiones intraepiteliales en frotis conjuntivales de recién nacidos con oftalmía no gonocócica.
4. En 1910 Heyman encontró inclusiones en las células cervicales y en las de la uretra de los padres de niños que tenían oftalmia neonatorum, pero algunos de estos casos también estaban infectados con gonococos, lo cual provocó confusiones y controversias.
5. En 1929-1930 hubo una pandemia de psitacosis (*Chlamydia psittaci*). Se iniciaron los cultivos para el estudio de las clamidias y al aislar el agente causal de la psitacosis humana y de las aves, también se aisló el agente etiológico del linfogranuloma venéreo (***Chlamydia trachomatis***).
6. En 1934 Bedson y Bland notaron las similitudes entre el ciclo de *C. psittaci* y ***C. trachomatis***.

7. En 1936 Thygeson y Mengert sugirieron la localización de las inclusiones en el epitelio transicional del cérvix.
8. En 1957 Tang y cols. aislaron el agente del tracoma usando el saco vitelino de embriones de pollo para cultivo; en este trabajo también se evidenciaron la sensibilidad de **C. trachomatis** a la tetraciclina y su resistencia a los aminoglúcidos.
9. En 1958 Collier y cols. lograron establecer que la transmisión del agente de persona a persona producía el tracoma.
10. En 1965, Gordon y Quan utilizaron el cultivo de tejidos para aislar los agentes del tracoma y de la conjuntivitis de inclusión (**C. trachomatis**). La aplicación de este método y la utilización de los conjugados con fluoresceína condujeron al interés, que persiste a la fecha, en las clamidias transmitidas por vía sexual y en las enfermedades que producen.
11. En 1971 Wang y Grayston desarrollaron un esquema de serotipificación para las cepas con el uso de antisueros específicos.
12. En 1986, Grayston, Kuo Campbell y Wang descubrieron una nueva variedad de C. psittaci, la TWAR, aislada de procesos infecciosos agudos del aparato respiratorio. Posteriormente, se hizo la caracterización de este organismo y de las enfermedades respiratorias a las que se asocia, en particular neumonía; por lo que en 1990 Grayston y cols. lo consideraron como una nueva especie C. pneumoniae variedad TWAR. (3,4)

## INCIDENCIA:

Las ETS más estudiadas en la actualidad son la gonorrea, la sífilis, el SIDA y las infecciones por **C. trachomatis**; calculándose que hay en el mundo 60 millones de enfermos de gonorrea, un descenso en sífilis y un aumento considerable en infecciones por **C. trachomatis**, siendo la causa del 40 al 50 % de enfermedades no gonocócicas en población sexualmente activa. (8)

Según los trabajos de Sweet y colaboradores, en 1984 entre un 20 y 40 % de las infecciones por clamidias en el hombre como en la mujer se encuentran asociadas a gonococo; del 40 al 60 % de las mujeres con gonococos en el tracto genital inferior presentan también **Chlamydia trachomatis**. En estudios hechos en una población de mujeres clínicamente sanas se encuentra clamidia en un 3 a 5 % y se aísla entre 15 a 33 % de las mujeres que asisten a las clínicas de ETS. Se ha aislado también del 29 al 68 % de compañeras sexuales de hombres con uretritis no gonocócicas y del 67 al 74 % de compañeras sexuales de hombres con uretritis producidas por **Chlamydia trachomatis** confirmada. La infección por clamidia ocurre en 2 a 30 % de mujeres embarazadas y en 34 a 63 % de mujeres con endocervicitis mucopurulenta. (7)

Bernal y cols. encontraron una frecuencia del 12.28 % de **C. trachomatis** teniendo por la técnica de Papanicolaou, éste estudio se realizó en 1987 en Santiago de Chile en la clínica para enfermedades de transmisión sexual. (21)

En un trabajo realizado por Ibarra y Sosa en 1988 en el Instituto Nacional de Perinatología se determinó de un total de 304 pacientes mujeres un 14% de frecuencia de **C. trachomatis** mediante la técnica de Papanicolaou. (17)

En un trabajo realizado por Hernández y cols. en 1992 en la búsqueda de **C. trachomatis** en pacientes con leucorrea que acudieron a la clínica No. 6 de la Secretaría de Salud en México D.F. se encontró una frecuencia del 15 % empleando la técnica de inmunofluorescencia y 11.5 % con la de Papanicolaou. (8)

Se considera que la presencia de **Chlamydia trachomatis** en mujeres sin actividad sexual, puede deberse a que la infección se estableció en el momento del nacimiento y se mantuvo latente o en forma subclínica; sin descartar la posibilidad de infección por fomites. Además se ha sospechado que la infección por **C. trachomatis** puede estar latente hasta asociarse con otros microorganismos, haciéndose entonces aparente; sin embargo también podría atribuirse esto a una predisposición genética o a cambios hormonales como ocurre en la pubertad, aunque estos hechos todavía no son claros. (8)

## CLASIFICACION Y MORFOLOGIA:

Las clamidias son bacterias de gran interés en patología médica, ya que producen cuadros clínicos como los ya mencionados; el diagnóstico de los procesos producidos por clamidia exige, en la mayoría de los casos, un diagnóstico microbiológico, bien sea por observación, aislamiento del agente causal y/o estudio de la respuesta inmunitaria del tipo humoral, es decir, anticuerpos específicos. (5)

Hasta no hace mucho tiempo, a las clamidias se les incluía en el género Miyagawanella, o en el Bedsonia (5); hoy en día el género Chlamydia se clasifica en el volumen no. 1 del Manual Bergey de Bacteriología de la siguiente manera:

SECCION	9	
Las Rickettsias y las Chlamydias		
ORDEN	II	Chlamydiales
FAMILIA	I	Chlamydiaceae
GENERO	I	Chlamydia
ESPECIES		<u>Chlamydia trachomatis</u>
		<u>Chlamydia psittaci</u>
		<u>Chlamydia pneumoniae</u>

Las clamidias son un grupo bien definido de microorganismos procariotes, caracterizados por ser pequeños cocos gram negativos. Viven en un parasitismo intracelular obligado y presentan dos formas distintas denominadas cuerpo elemental y cuerpo reticular o inicial; ambas comparten un grupo antigénico común.

El cuerpo elemental es un coco de 300 nm de diámetro, ésta es la forma de transporte celular, es altamente infectante; el cuerpo elemental está rodeado por una membrana citoplásmica trilaminar análoga a la de las bacterias gram negativas que se divide en una hoja externa y una interna, la membrana externa está constituida por subunidades hexagonales, la superficie muestra unas depresiones que pudieran corresponder a la porción central en forma de anillo constituido por las subunidades hexagonales ya mencionadas y que pudiera ser el indicio de la existencia de canales que atraviesen a la membrana externa.

Desde el punto de vista bioquímico la presencia de la proteína mayor de la membrana externa (MOMP) rica en puentes disulfuros pudiera representar un mecanismo de regulación de estos poros y por consiguiente del transporte a través de la membrana, ésto se fundamenta en el conocimiento de que la proporción de los puentes disulfuro disminuye en el estado de cuerpo reticular, permitiendo un mayor flujo a través de los poros, en los momentos en que se requiere mayor actividad metabólica en el cuerpo reticular intracitoplásmico. La superficie de los cuerpos elementales no es lisa es flexuosa, irregular y se han identificado formaciones hemiesféricas y en espiga en su superficie que se agrupan en conglomerados de aproximadamente 18 proyecciones cilíndricas que se disponen con una separación de 40 a 70 nm entre cada una de ellas. Las formaciones semiesféricas parecen corresponder a estructuras especializadas de la membrana citoplásmica y las formaciones en espiga a formas intermedias o precursoras. (figura 1). (3,27)

El cuerpo reticular puede ser esférico o irregular y puede medir de 800 a 1200 nm, su capacidad para infectar es baja y es la forma intracelular y reproductora. Las inclusiones pueden contener una mezcla de partículas grandes y pequeñas, además de formas intermedias que aparecen según se desarrollan los corpúsculos reticulares. La pared celular de éstos es más delgada y frágil que la del corpúsculo elemental, y está en apariencia aplicada más laxamente a la membrana celular que permite la difusión de sustancias hacia adentro y afuera de la inclusión en desarrollo. El material nuclear es menos electrodensito que el corpúsculo elemental. (figura 2) (3,26)

La pared celular de las partículas contiene lisina y D-alanina pero no contiene ácido diamino pimélico. La pared celular del corpúsculo reticular difiere de la del elemental en que los peptidoglicanos no están unidos por uniones peptídicas; ésto puede permitir un aumento de la permeabilidad del corpúsculo reticular, para que su pared celular pueda ser atravesada por el fosfato de adenosina. A diferencia de los micoplasmas, las clamidias no contienen colesterol en la pared celular. Tienen cantidades grandes de lípidos y de carbohidratos, pero sólo pequeñas proporciones de ácidos nucleicos. (3)

Las clamidias contienen tanto DNA como RNA. El DNA en el corpúsculo elemental se localiza en el nucleóide, como un círculo doblemente trenzado y arrollado. Se encuentran ribosomas de 70 S

divisibles en componentes de 30 S y de 50 S. Por lo menos se han encontrado 18 aminoácidos en ellos, que ocupan 60 % del corpúsculo elemental. La diferencia con los virus se muestra en el efecto de la cicloheximida. Esta sustancia inhibe la síntesis ribosomal en los eucariotes pero no en los procariotes. Este mismo compuesto no afecta a las clamidias mostrando, que a diferencia de los virus no usan del aparato de traslación de las células del huésped, sino que sintetizan su propio DNA. (3,19)

Las clamidias son en principio parásitos energéticos, que obtienen de la célula huésped el ATP por lo que son parásitos intracelulares obligados de las células eucarióticas debido a su incapacidad de sintetizar el ácido adenosín trifosfato (ATP). Se ha demostrado que el metabolismo anaeróbico de la glucosa ocurre probablemente vía pentosa fosfato y una de las vías glucolíticas. La célula huésped suministra también metabolitos, como la isoleucina que derivan de su propio conjunto metabólico más que de una degradación; éstos pueden ser inhibidores en relación al crecimiento de las clamidias.

Las clamidias están muy bien adaptadas a su vida intracelular, por lo cual pueden haber derivado de otras bacterias que hayan llevado una existencia preponderantemente intracelular, evitando así destruirlas por los sistemas de fagocitos de las células huéspedes. Lógicamente la casi total ausencia de mecanismos bioquímicos para producir energía, las restringe a una existencia tan solo intracelular. (3)

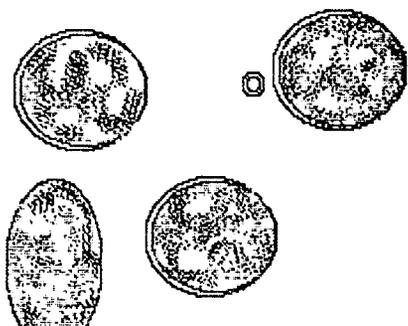


FIGURA 1



FIGURA 2

## CICLO VITAL:

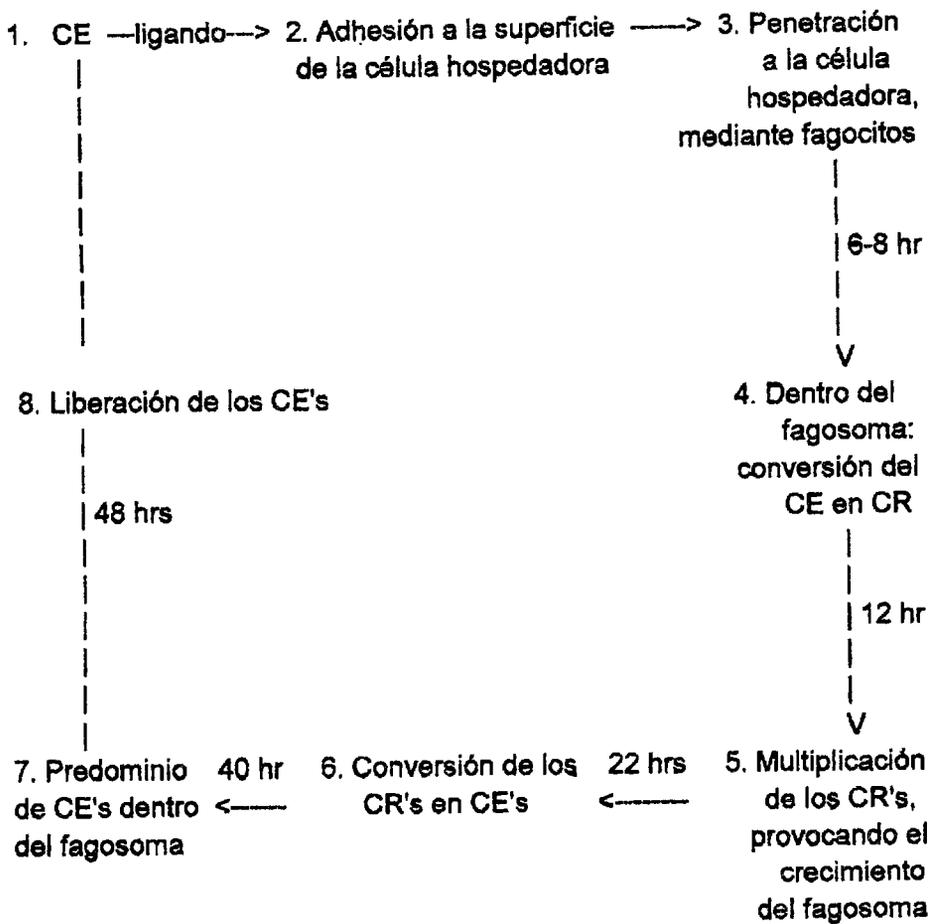
La duración del ciclo de desarrollo es en promedio de 40 horas, pero puede variar dependiendo de la cepa infectante, del tipo de célula infectada y de la temperatura. (4)

En su ciclo de desarrollo; el cuerpo elemental está adaptado para sobrevivir fuera de la célula y es la forma infectante que se transmite de una persona a otra. Las clamidias de algún modo son capaces de inducir su propia fagocitosis. (1,3)

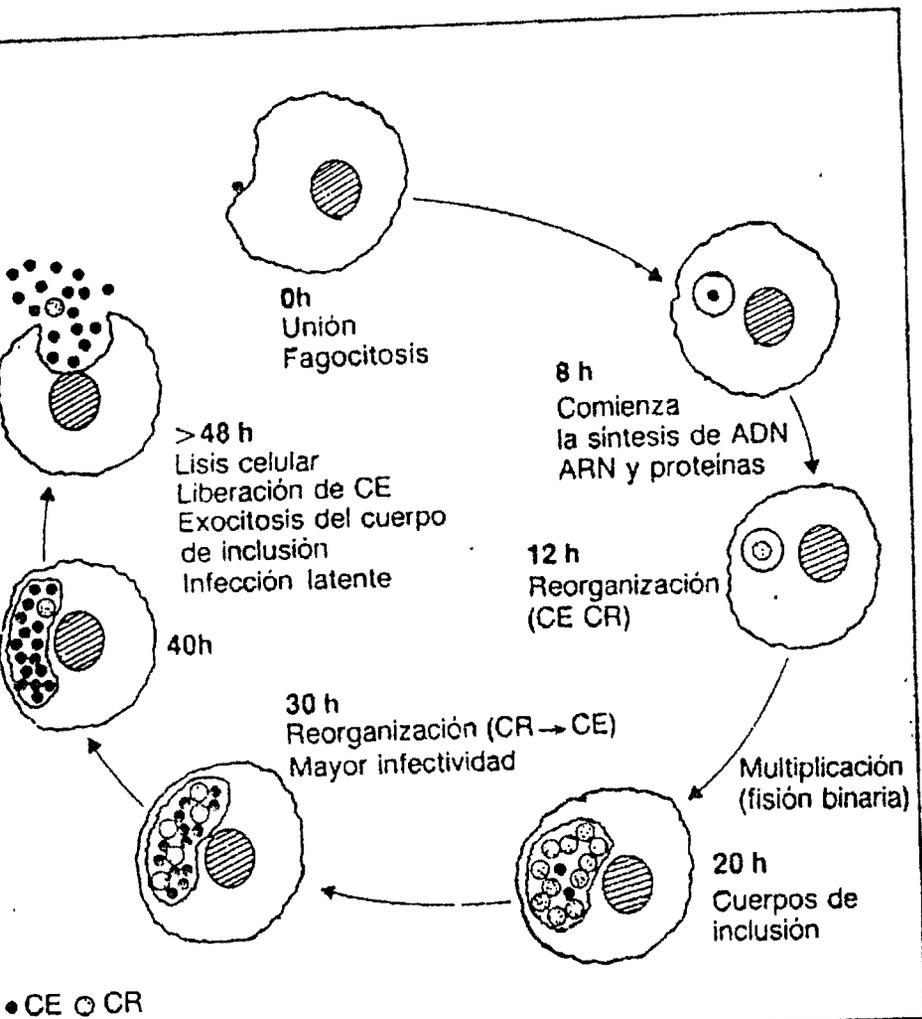
Los corpúsculos elementales permanecen en una vacuola rodeada por una membrana derivada de la célula huésped que los protege de la acción de la lisozima; los corpúsculos elementales aumentan de tamaño para formar el corpúsculo reticular que es metabólicamente activo. Durante esta fase, existe una intensa producción de RNA por la partícula, el RNAm se produce en el DNA cromosómico usando una polimerasa de RNA que depende del DNA, contenida en el corpúsculo elemental. El RNAt y el ribosomal también están presentes en el corpúsculo elemental. Este proceso toma de 7-10 horas, tiempo durante el cual el fagosoma se mueve en dirección centrípeta hacia el núcleo de la célula huésped. El corpúsculo reticular ya formado empieza a experimentar una fisión binaria, para formar más corpúsculos; el tiempo de generación es de 2-3 horas. A medida que se incrementa el número de corpúsculos reticulares, las inclusiones aumentan de tamaño para formar la característica manta semilunar alrededor del núcleo de la célula huésped. En esta etapa *C. trachomatis* deposita una matriz de glucógeno; después de 10-15 horas el DNA vuelve a ser detectable. (1,3)

Esto corresponde a la condensación de los corpúsculos reticulares de 800 nm hasta 300 nm para producir los corpúsculos elementales. Se pueden ver estados intermedios, en los cuales, a medida que se vuelve a formar el nucleoide, aparecen cada vez más regiones electrodensas; así, a las 36 ó 48 horas posteriores a la infección, las inclusiones maduras pueden liberar a los cuerpos elementales infectantes. Se produce la rotura de la célula huésped,

después de un proceso secuencial de lesión de la membrana y se liberan cuerpos elementales a partir de la célula para iniciar la infección de las células adyacentes. (1, 3)



**EVENTOS PRINCIPALES DEL CICLO VITAL DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS.** CE: cuerpo elemental y CR: cuerpo reticular (plurales: CE's y CR's). El CE contiene al " ligando " y, por ello, es la forma celular encargada de infectar a la célula hospedadora u hospedera; por su parte, el CR es la forma metabólicamente activa y, por consecuencia corresponde a la estructura capaz de reproducirse. (6)



Ciclo de multiplicación de *Chlamydia*. Comienza con la unión y fagocitosis a la hora cero. A las 20 horas se ha empezado a formar el cuerpo de inclusión.

## ESTRUCTURA ANTIGENICA:

Se conoce un antígeno de género o de grupo, (prueba de fijación de complemento), un antígeno de especie y un antígeno de tipo. Se describen a continuación:

**Antígeno de género o de grupo.** Es compartido por las tres especies de clamidias, se localiza en la membrana externa de los CE y CR, y se encuentra presente en todo el ciclo de multiplicación. Es un lipopolisacárido ácido de alto peso molecular, termoestable y como elemento inmunodominante tiene el ácido 2-ceto-3-desoxioctónico, es resistente a la tripsina y es inactivado por el éter y el peryodato.

**Antígeno de especie.** De naturaleza proteica, termolábiles y se encuentran en la pared celular.

**Antígeno de tipo.** De naturaleza proteica, termolábiles, resistentes al peryodato y se localizan en la membrana externa. Se encuentran los CE y CR; y los anticuerpos que se forman frente a ellos son capaces de neutralizar la infectividad con carácter tipo-específico. Se conocen 15 serotipos: A, B, Ba y C, asociados al tracoma del Medio Oriente y norte de Africa así como entre los Indios Norteamericanos. L1, L2, L3, asociados al linfogranuloma venéreo y proctocolitis hemorrágica. D y E se asocian con infección genital y conjuntivitis de inclusión en adultos. F, G, H, I, J y K con infecciones del tracto genital o a enfermedades oculares. (1,4,10,22)

ANTIGENO	COMPOSICION QUIMICA
De género (común a las 3 especies)	Lipopolisacárido (LPS)
De especie (diferente en c/u de las especies)	Proteínas
De tipo	Proteínas

Se han realizado trabajos exhaustivos para producir una vacuna; entre los problemas técnicos que se han encontrado se incluye la relación con la purificación de los antígenos, la estimación de su potencia y el control de las pruebas de campo. La respuesta inmune celular no tiene significado protector en la infección por **C. trachomatis** (serotipos A, B, C), sino que interviene en la inflamación y proceso de cicatrización que caracterizan la evolución del tracoma, en el que las reinfecciones y la reacción inmune desempeñan un papel fundamental. Sin embargo, en las infecciones oculares y genitales no complicadas por los serotipos D-K no se destaca una respuesta inmune celular. No se conoce hasta que punto una infección pasada produce una inmunidad protectora; así, la infección genital de producirla sería parcial y de corta duración, y en las infecciones oculares sólo sería específica para ese serotipo o serovariedad. La reacción inmune celular más que protectora es perjudicial, pues induce inflamación severa local, contribuyendo al curso crónico de la infección.(3,9)

Además, se ha comprobado que como ya se mencionó, se puede conseguir una protección leve; sin embargo, este efecto puede ser superado por una hipersensibilidad a la infección que puede ser de larga duración. Actualmente no existe una vacuna eficaz contra la infección ocular, y hay pocas posibilidades de que en un futuro inmediato exista alguna contra las cepas de **C. trachomatis**, genitales u oculares. (3,9)

## PATOLOGIA:

**C. trachomatis** constituye una especie que ataca exclusivamente al ser humano, ya que actualmente no se conoce ningún reservorio animal. La sensibilidad de estos microorganismos en el medio externo parece vedar toda posibilidad de contaminación indirecta, de modo que las infecciones provocadas por **C. trachomatis** se transmiten directamente de persona a persona. Suele transmitirse por vía sexual, pero puede haber transmisión a través de contacto personal, con fomites o por accidentes en el laboratorio. (8)

**C. trachomatis** no se considera uno de los microorganismos normales del epitelio genitourinario, este patógeno intracelular obligado solamente sobrevive completando su ciclo replicativo, teniendo como resultado final la muerte celular. Sin embargo, esto de ninguna manera significa que la infección sea siempre clínicamente aparente. (8)

Para que la infección se establezca es necesario que sucesivamente se produzca en la mucosa (respiratoria, ocular o genital) la unión del cuerpo elemental a las células, éste induzca la fagocitosis, impida la fusión del lisosoma y se produzca el ciclo de multiplicación de **C. trachomatis**. (9)

Se ha comprobado una diferencia en la fijación celular por parte de los serotipos A-K y de los L, ello se ha explicado por distinta afinidad a receptores celulares y por características de hidrofobicidad y de carga superficial diferente. La capacidad invasiva y destructiva también parece ser distinta entre los diferentes serotipos. Los L son considerados más virulentos y presentan además una mayor resistencia a los efectos lesivos de los fagocitos. (5)

## SINTOMATOLOGIA:

La mayoría de las mujeres son asintomáticas, si bien algunas presentan flujo vaginal, disuria, dolor pélvico, dispareunia y síntomas de proctitis o de faringitis, así como cervicitis con el típico exudado mucopurulento de aspecto amarillento. (2,23)

La infertilidad causada por cicatrización tubaria, muchas veces se acompaña del antecedente de infección por **Chlamydia trachomatis**; algunas de las mujeres infértiles con cicatrización tubaria y anticuerpos anticlamidia tienen el antecedente de enfermedad pélvica inflamatoria por lo cual posiblemente la infección tubaria puede provocar cicatrización. (1,9,24)

## PROFILAXIS Y TRATAMIENTO:

Para eliminar este tipo de infecciones, es útil mejorar las medidas higiénicas generales y las condiciones de vida, aunado al aporte adecuado de agua para la higiene personal; educación sanitaria para la mujer acerca de los aspectos relevantes de las enfermedades causadas por **Chlamydia trachomatis**. (1,2)

Por considerarse una ETS su control depende de varios factores: disponer de los medios adecuados para poder realizar el diagnóstico y tratamiento, buscar y tratar a todos los contactos sexuales de las pacientes, mantener en observación a las pacientes en tratamiento (para asegurar una curación completa de la enfermedad); practicar una educación sanitaria adecuada para médicos, enfermeras, químicos y población en general, aconsejar a los enfermos sobre la práctica de comportamiento sexual responsable e investigar y desarrollar métodos para conseguir una inmunidad artificial contra las infecciones. (2)

No tratar a un compañero infectado es la causa principal de reinfección. Es preciso tratar a todos los compañeros sexuales de las pacientes que padecen una infección por **C. trachomatis**, principalmente si han tenido contacto sexual con la paciente en los primeros 30 días que transcurren desde que aparecen los síntomas. (12)

El mejor antibiótico utilizado en las infecciones no complicadas es tetraciclina 500 mg cada 6 horas por 7 días o dicloxacilina de 100 mg diarios durante 7 días. Cabe mencionar que no se ha descrito cepa alguna que sea resistente a la tetraciclina. (1,2,26)

## DIAGNOSTICO DE LABORATORIO:

Las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de clamidias se agrupan de la siguiente manera:

### I. METODOS DIRECTOS:

1. Aislamiento en cultivo celular: Actualmente se considera el método de referencia, pero los problemas de transporte, recolección y conservación de las muestras limitan su sensibilidad al 80%. Es considerado como un procedimiento muy seguro y confiable para el diagnóstico pero tiene limitaciones en cuanto al tiempo que consume el cultivo celular, la disponibilidad de personal entrenado para reconocer las cepas y el costo principalmente. Las líneas celulares más utilizadas para el aislamiento de C. trachomatis y C. pneumoniae son las células McCoy y HeLa 229. (9, 10,25).

2. Detección de antígenos: Estos métodos permiten la demostración directa de los cuerpos de inclusión en las células o de los cuerpos elementales libres, con anticuerpos monoclonales con fluoresceína (IFD) o por métodos inmunoenzimáticos (ELISA). Algunos factores que afectan la utilidad de los métodos de detección de antígenos de C. trachomatis en muestras genitales son: sexo, presencia de síntomas, prevalencia de la infección, recogida de la muestra, localización de la infección, reacciones cruzadas del LPS, método de referencia con el que se compara, concentración de antígeno en la muestra, número de inclusiones en la muestra, criterios de positividad, tratamiento antimicrobiano previo, experiencia y habilidad del microscopista, entre otros. (9)

a. La Inmunofluorescencia directa (IFD) es una técnica rápida, sensible y específica y es considerada por algunos autores más fácil de realizar y con un menor costo económico que el aislamiento en cultivo celular, pero subjetiva y poco práctica si se procesa un gran número de muestras. El criterio de positividad más aceptado es la visualización de 10 o más cuerpos elementales. La mayoría de estos anticuerpos están dirigidos a epítopos de la proteína principal de la membrana externa,

existiendo pocas reacciones cruzadas. Los anticuerpos dirigidos contra el LPS de membrana son menos específicos (9). Esta técnica se basa en lo siguiente: cuando una macromolécula extraña, denominada *antígeno*, se introduce en un organismo, éste generalmente reacciona, produciendo una proteína llamada *anticuerpo* que, a su vez, reacciona específicamente con el antígeno. Los anticuerpos son proteínas pertenecientes al grupo de las gammaglobulinas (un tipo de proteína del plasma sanguíneo) y aparecen en el plasma cierto tiempo después de la administración del antígeno. Se pueden también acoplar sustancias fluorescentes a antígenos y anticuerpos sin que éstos pierdan la capacidad de reaccionar entre sí. (13). Es una técnica para la identificación y localización de antígenos. El anticuerpo específico es conjugado con los compuestos fluorescentes, resultando un trazador sensible con reactividad inmunitaria inalterada. El antisuero conjugado es añadido a las células o a los tejidos y se fija a los antígenos formando, por lo tanto, un complejo inmunitario estable. Las proteínas no anticuerpo son eliminadas mediante el lavado y la preparación resultante es observada con un microscopio fluorescente. (14)



b. Los ELISA son métodos objetivos, automatizables y aptos para procesar un gran número de muestras, pero al detectar el LPS de *Chlamydia* tienen reacciones cruzadas con *Acinetobacter* y *E. coli*, dando falsos positivos, sobre todo en muestras cervicales. Se emplean antisueros polivalentes mono-específicos (*Chlamydiazime*) o anticuerpos monoclonales (IDEIA) frente a LPS teniendo ambos una eficacia similar. (9)

3. Sondas de ácidos nucleicos: La detección de *C. trachomatis* en muestras endocervicales con sondas de plásmidos DNA o de genes que codifican la proteína principal de la membrana externa, presenta una baja sensibilidad que impide su utilización clínica. (9)

4. Métodos citológicos: Se utilizan las tinciones de Yodo, Giemsa, Papanicolaou y Machiavello y Giménez.

a. Yodo: tinte a la matriz que apoya y soporta la inclusión.

b. Giemsa: tinte a los elementos que se están desarrollando dentro de la inclusión. (9,4)

c. Papanicolaou: tiñe a los cuerpos de inclusión dentro de vacuolas fagocíticas. (4) Contiene un colorante nuclear que es la Hematoxilina de Harris, éste colorante actúa en medio acuoso por lo que se requiere la hidratación previa de los preparados en alcoholes de concentración decreciente, seguido de la coloración citoplasmática (EA36 y Orange G6), que es precedida por una deshidratación en alcoholes de concentración creciente. Los últimos pasos son de lavado y clarificación (alcoholes de 96° y xilol). La transparencia que esta coloración confiere a los citoplasmas permite la observación de extendidos celulares gruesos. La hematoxilina de Harris que es el colorante nuclear colorea los núcleos picnóticos de color violeta oscuro y quedan opacos a la luz, y los núcleos vesiculosos de azul-violáceo. Las células basales, parabasales, intermedias y superficiales cianófilas se observan con citoplasma celeste-violáceo, el citoplasma de las células superficiales cianófilas se tiñe de anaranjado. El pH influye en la coloración citoplásmica y nuclear; alcoholes ácidos o incluso variaciones de pH vaginal son responsables de pseudoeosinofilia. Si el agua de viraje para la hematoxilina es poco alcalina requiere el agregado de una gota de solución saturada de carbonato de litio. (15)

d. Machiavello y Gimenez: se usan especialmente para las infecciones por C. psittaci en la que se estudia la evolución de las inclusiones. (3,9)

## II. METODOS INDIRECTOS:

1. Fijación de complemento: emplea como antígeno el LPS, es generoespecífica y detecta tanto IgG como IgM, mide anticuerpos contra una determinante antigénica común a todas las clamidias (la porción activa del ácido 2-ceto-3-desoxioctanoico). Sus desventajas no residen en su falta de especificidad (pues no se conocen reacciones cruzadas) sino antes bien en la naturaleza ubicua de algunos de los géneros o grupos clamidiales y en la especificidad de grupo que presenta la prueba. Es poco sensible para el diagnóstico de infecciones oculares y genitales causadas por C. trachomatis, con la excepción de LGV (título superior a 256), la prueba de fijación de complemento es muy satisfactoria para el diagnóstico de psitacosis. (9)

2. Microinmunofluorescencia (MIF): mide anticuerpos específicos contra determinantes antigénicos presentes en las paredes celulares de los cuerpos elementales. Es aplicable a pacientes con LGV o con

infecciones oculares u oculogenitales causadas por los agentes de las conjuntivitis con inclusiones granulosas. Por medio de esta prueba se puede obtener información sobre el serotipo específico responsable de la infección además de determinar la clase de inmunoglobulina de los anticuerpos reactivos, es el único método específico para el diagnóstico de las reinfecciones. La principal desventaja es que los resultados reflejan el alto predominio de infección clamidial en ciertos grupos, es decir, en poblaciones apropiadas puede haber tasas altas de predominio de anticuerpo proveniente de exposición previa a clamidias y dichos niveles de anticuerpo pueden persistir de por vida. Por ser una técnica laboriosa no se utiliza habitualmente. (9,12).

Es importante señalar que en algunos laboratorios se considera que la tinción de Papanicolaou puede resultar de utilidad para diagnosticar infecciones clamidiales; no obstante, ciertos autores aseguran que dicho planteamiento presenta notables limitaciones, puesto que han observado en sus respectivos estudios que aquella correlaciona pobremente con las técnicas más aceptadas; por ejemplo, Forster y cols. encontraron que sólo en el 13 % de mujeres cuyos cultivos resultaron positivos, se habían observado indicios de infección clamidial a través de la técnica de Papanicolaou. Varios autores llegan a la conclusión de que el diagnóstico citológico no es el mejor para la identificación de clamidia, pero también se acepta una alta confiabilidad si se observan las alteraciones de células con inclusiones eosinófilas, con inclusiones hematoxilínófilas, con inclusiones nebulosas, con formaciones en tiro al blanco de aspecto granular o con formaciones en tiro al blanco de aspecto homogéneo y para esto se requiere de un citólogo con alta experiencia. (4,6,)

# OBJETIVOS

## OBJETIVOS GENERALES:

1. Determinar la presencia de **C. trachomatis** en muestras obtenidas de exudados vaginales.
2. Realizar la búsqueda de **C. trachomatis** mediante las técnicas de Inmunofluorescencia directa y Papanicolaou.

## OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Conocer los principales métodos para la investigación de **C. trachomatis**.
2. Implementar la técnica de Papanicolaou modificada como método de rutina y la técnica de Inmunofluorescencia directa como método predictivo para la búsqueda de **C. trachomatis**.
3. Asociar ambas metodologías para describir la frecuencia en cada una de **C. trachomatis**.
4. Investigar la frecuencia de infección por **C. trachomatis** en mujeres clínicamente sanas y en mujeres sintomáticas.
5. Relacionar la incidencia de **C. trachomatis** en mujeres con vida sexual activa e inactiva.
6. Practicar el diagnóstico de **C. trachomatis** como un examen de rutina en exudados vaginales.
7. Realizar un estudio de la frecuencia de **C. trachomatis** en una población de 103 mujeres del estado de Querétaro que se practican un examen vaginal por control o por sintomatología.

# JUSTIFICACION

En este trabajo se pretende realizar el diagnóstico de **C. trachomatis**, bacteria que puede ocasionar enfermedades de transmisión sexual. Dada la importancia de **C. trachomatis** en este tipo de enfermedades es necesario que se continúen analizando algunas técnicas de tinción como Inmunofluorescencia directa y Papanicolaou modificada para mejorar el diagnóstico de **C. trachomatis**. También existen otros métodos que no son de rutina en los laboratorios por ser difíciles, laboriosos, lentos y algunos demasiados costosos.

La técnica de Papanicolaou es muy sencilla y los reactivos no son excesivamente costosos; sin embargo, requiere de un citólogo experto para su diagnóstico.

La inmunofluorescencia es un técnica también sencilla y cuidadosa, aunque no se necesita una gran experiencia para identificar los cuerpos elementales, el material que se requiere para su tinción y observación (reactivo comercial y microscopio de inmunofluorescencia) es relativamente costoso.

En vista de que algunos de los procesos inflamatorios inespecíficos del tracto urogenital son producidos por **C. trachomatis**, presento el siguiente trabajo como ayuda en la búsqueda de este microorganismo.

# **MATERIAL Y METODOLOGIA**

## DISEÑO DE LA MUESTRA:

Se tomaron un total de 103 muestras en el período del 5 de diciembre de 1992 al 27 de febrero de 1993 que fueron obtenidas de pacientes aleatorias que acudieron a un laboratorio clínico privado a realizarse un exudado cervicovaginal, vulvar o Papanicolaou ya sea por control o debido a alguna sintomatología. Las muestras una vez recolectadas y obtenidas se tñeron por cada uno de los métodos que más adelante se describen, en el Departamento de Morfología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN.

Para la realización de este trabajo se pidió la colaboración de algunas instituciones del sector oficial, pero desafortunadamente no se pudo contar con su ayuda.

Antes de tomar la muestra a cada una de las pacientes se les realizó una encuesta breve en la que se incluyeron las siguientes preguntas:

1. Edad
2. Molestias: flujo (leucorrea)
3. Color de flujo
4. Olor de flujo
5. Tiempo de tener flujo
6. Comezón
7. Ardor al orinar
8. Tratamientos con antibióticos y cuáles antibióticos

## TOMA DE MUESTRA:

Una buena toma de muestra es muy importante para obtener excelentes resultados.

a. Colocar a la paciente en posición supina normal e introducir un espejo vaginal, en los casos de mujeres sin actividad sexual la toma se hace a través del himen.

b. Visualizar el cuello uterino y quitar con un hisopo el exceso de moco.

c. Introducir un hisopo en la zona del endocérvix y rotar el hisopo durante 10 segundos, presionar el hisopo sobre la superficie del canal endocervical y raspar en el área de unión del epitelio plano y cilíndrico del endocérvix. (4)

Cabe mencionar que el soporte y la composición del hisopo son muy importantes para la supervivencia de **C. trachomatis**. Los de fibra de rayón, dacrón o algodón son superiores al resto ya que algunas fibras como las de alginato pueden producir artefactos que se tiñen. Las varillas de plástico o metálicas son preferibles a las de madera, que son tóxicas para los cultivos. (9,22)

## PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA:

a. Extender la muestra contenida en el hisopo sobre dos portaobjetos haciendo movimientos circulares, es muy importante no presionar la muestra con el hisopo en el portaobjetos ya que esto puede deformar las células observadas.

b. Dejar secar y fijar con etanol al 96 %.

c. Tefir una laminilla por Papanicolaou y la otra laminilla por Inmunofluorescencia directa. (4)

## TINCION DE INMUNOFLUORESCENCIA

### RECTA:

Limpiar el frotis con acetona durante 15 minutos.

Marcar un círculo de aproximadamente 0.5 cm<sup>2</sup> en la parte anterior del portaobjetos donde se encuentra la muestra.

Colocar 30 microlitros del conjugado (gamma globulina marcada con cianato de fluoresceína) por la parte del portaobjetos donde se encuentra la muestra y sobre el círculo que se marco.

Dejar actuar el conjugado durante 15 minutos en cámara húmeda y en oscuridad.

Lavar el portaobjetos con solución amortiguadora pH 7.2

Dejar secar al aire.

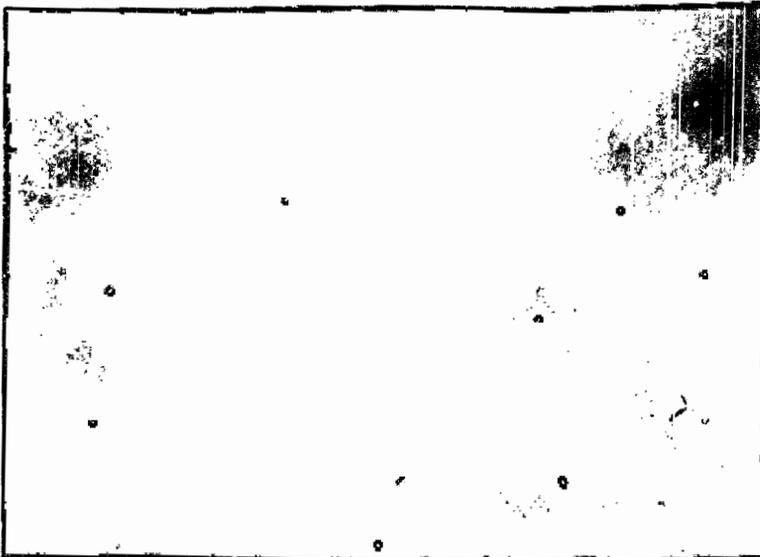
Montar la preparación.

Observar la preparación en un microscopio con luz ultravioleta.

Realizar simultáneamente controles positivo y negativo.

### INTERPRETACION:

La presencia de cuerpos extracelulares (cuerpos elementales) fluorescentes (color verde) indica que la muestra es positiva a *Chlamydia trachomatis*. (4)

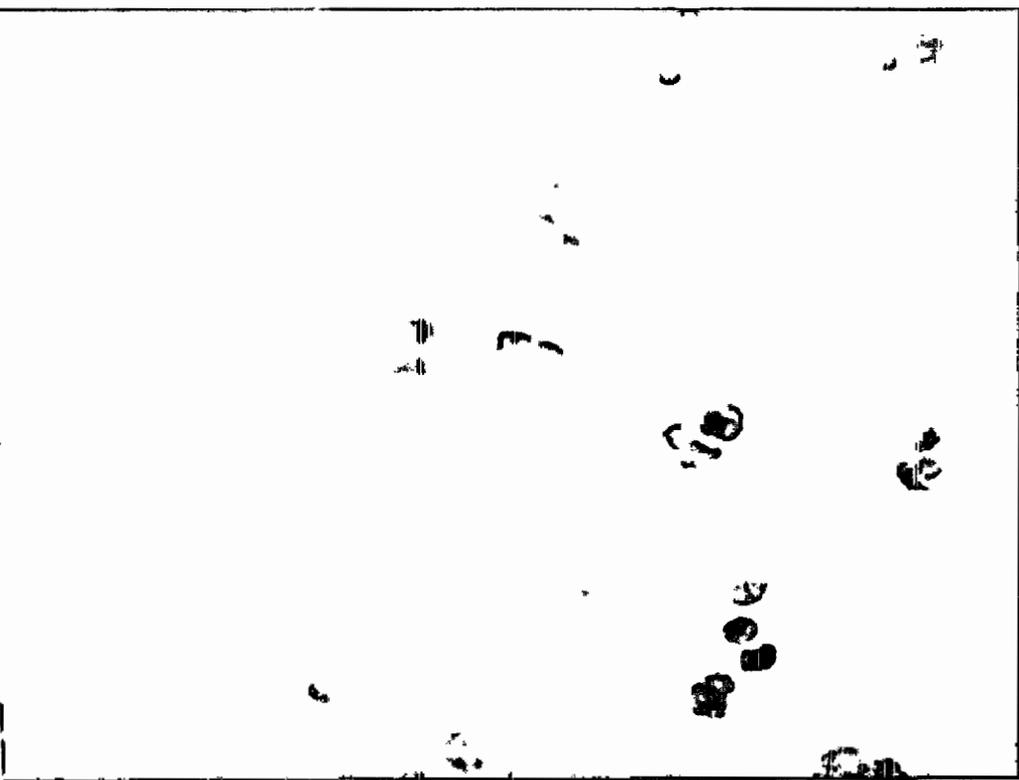
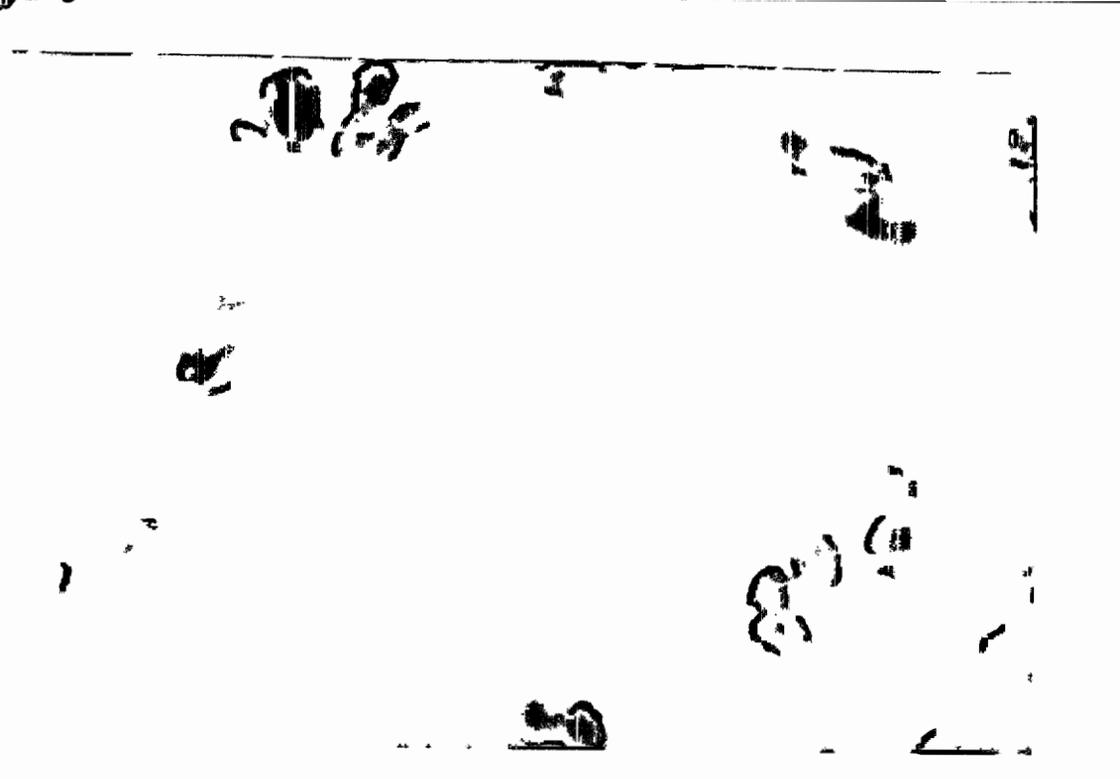


## II. TINCION DE PAPANICOLAOU MODIFICADA:

- a. Fijar el frotis con alcohol de 96° durante 5-10 minutos.
- b. Dejar en alcohol de 70° durante un minuto.
- c. Pasar a alcohol de 50° durante un minuto.
- d. Lavar con agua destilada durante 3 minutos.
- e. Tefir con hematoxilina de Harris durante un minuto.
- f. Lavar con agua corriente durante 6 minutos.
- g. Lavar con agua destilada durante 3 minutos.
- h. Pasar por alcohol de 50° durante un minuto.
- i. Pasar por alcohol de 70° durante un minuto.
- j. Pasar por alcohol de 96° durante un minuto.
- k. Tefir con el colorante Orange G6 durante 6 minutos.
- l. Pasar por alcohol de 96° durante un minuto.
- m. Tefir con el colorante EA36 durante 6 minutos.
- n. Pasar por alcohol de 96° por un minuto.
- ñ. Dejar en alcohol absoluto por 5 minutos.
- o. Pasar a alcohol absoluto-xilol v/v durante 15 minutos.
- p. Dejar en xilol durante 20 minutos.
- q. Montar la preparación en resina sintética.
- r. Observar en microscopio.

### INTERPRETACION:

La presencia de cuerpos de inclusión (cuerpos reticulares dentro de vacuolas fagocíticas) que pueden ser eosinófilas, hematoxilínófilas o nebulosas en las células epiteliales nos hará sospechar de la presencia de *Chlamydia trachomatis*. (4)



# RESULTADOS

El estudio se realizó en 103 pacientes con edades de 4 a 73 años, de las cuales se tomó muestra por duplicado para realizar cada una de las tinciones mencionadas, obteniéndose lo siguiente:

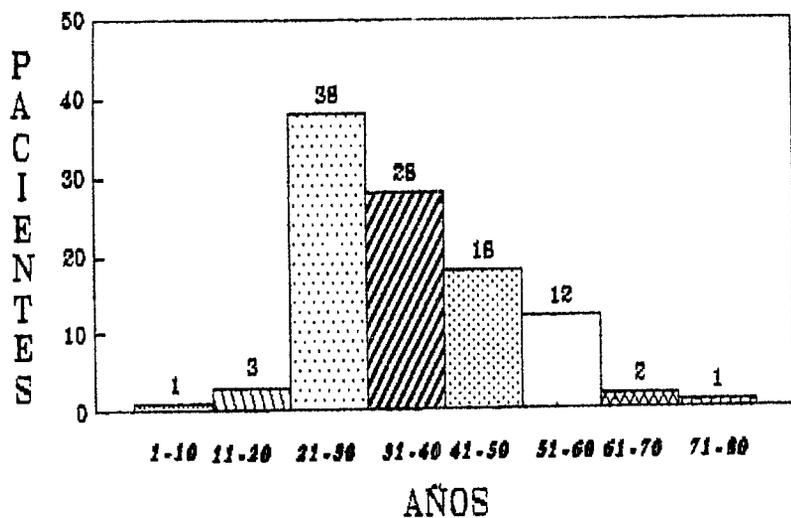
**TABLA No. 1**  
**EDADES DE LAS PACIENTES ANALIZADAS** (grafica 1)

Intervalo de edades (años)	No. pacientes
4 - 20	4
21 - 30	38
31 - 40	28
41 - 50	18
51 - 60	12
61 - 73	3
<b>Total</b>	<b>103</b>

**TABLA No. 2**  
**EDADES DE PACIENTES POSITIVAS PARA C. TRACHOMATIS** (grafica 2,3)

Intervalo de edades (años)	No. pacientes
4 - 20	1
21 - 30	5
31 - 40	8
41 - 50	6
51 - 60	2
61 - 73	1
<b>Total</b>	<b>23</b>

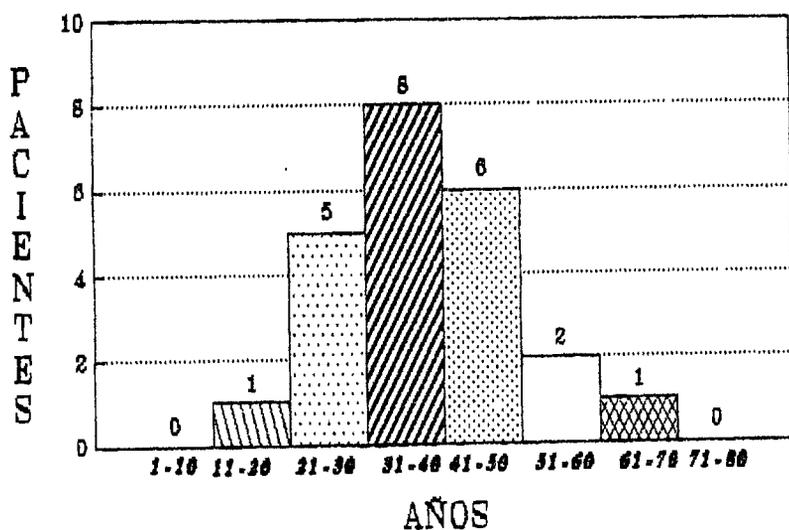
# GRUPOS ETARIOS MUESTREADOS



TOTAL 103 MUESTRAS

FUENTE DIRECTA

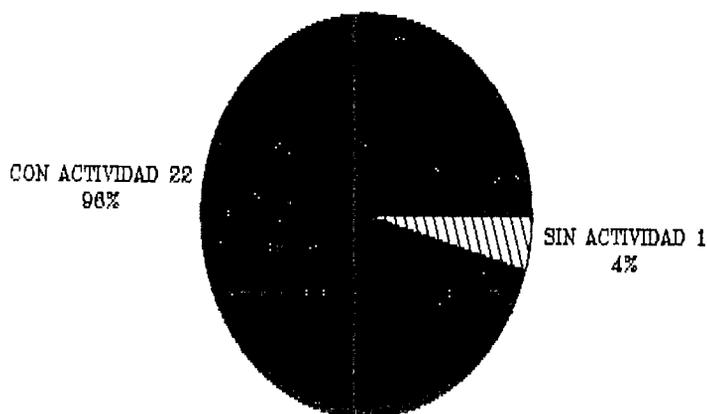
# FRECUENCIA DE PRUEBAS POSITIVAS RESPECTO A EDAD



TOTAL 103 MUESTRAS

FUENTE DIRECTA

# POSITIVIDAD DE C.T. EN PACIENTES CON ACTIVIDAD SEXUAL



TOTAL 23 POSITIVAS

*FUENTE DIRECTA*

**TABLA No. 3**

**EDADES DE PACIENTES CON C. TRACHOMATIS POR LAS  
TECNICAS DE INMUNOFLUORESCENCIA Y PAPANICOLAOU  
(graficas 4,5)**

Intervalo de edades (años)	No. pacientes	
	Inmunofluorescencia	Papanicolaou
4 - 20	1	1
21 - 30	5	2
31 - 40	8	2
41 - 50	6	0
51 - 60	2	1
61 - 73	1	0
<b>Total</b>	<b>23</b>	<b>6</b>

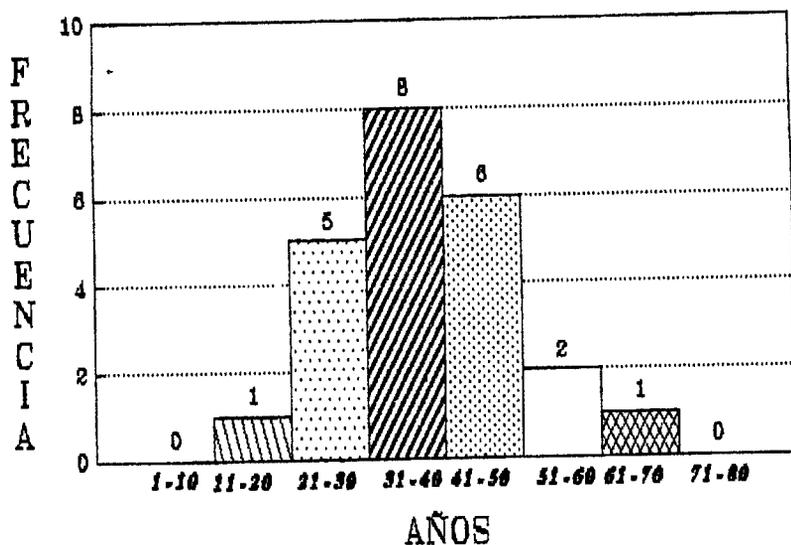
**TABLA No. 4**

**FRECUENCIA DE C. TRACHOMATIS EN 103 PACIENTES  
EMPLEANDO LAS TINCCIONES DE INMUNOFLUORESCENCIA Y  
PAPANICOLAOU (graficas 6,7,8)**

# MUESTRAS	TECNICA	POSITIVAS	% CHLAMYDIA
103	Inmunofluorescencia	23	22.3
	Papanicolaou	6	5.8

Las laminillas teñidas por ambas técnicas fueron revisadas por Químicos experimentados en el tema.

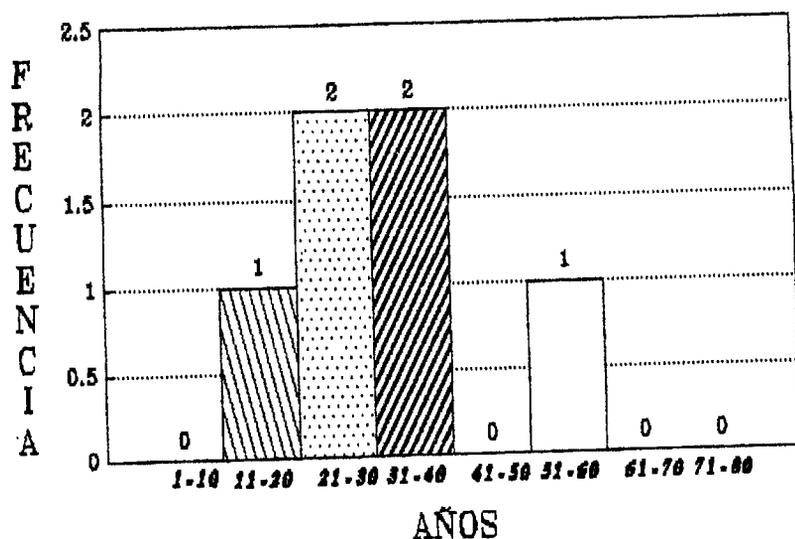
# DETERMINACION DE C. TRACHOMATIS POR INMUNOFLUORESCENCIA



TOTAL 23 POSITIVAS

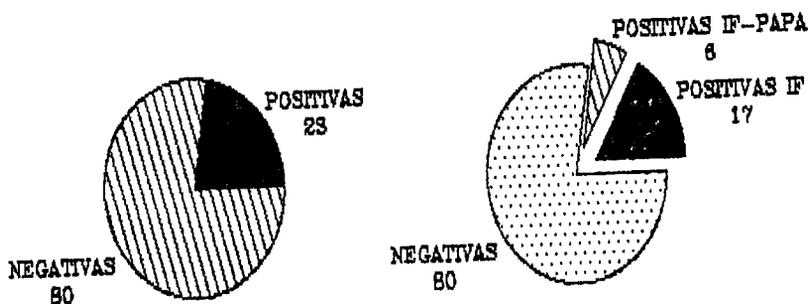
FUENTE DIRECTA

# DETERMINACION C.TRACHOMATIS POR PAPANICOLAOU



TOTAL 6 POSITIVAS

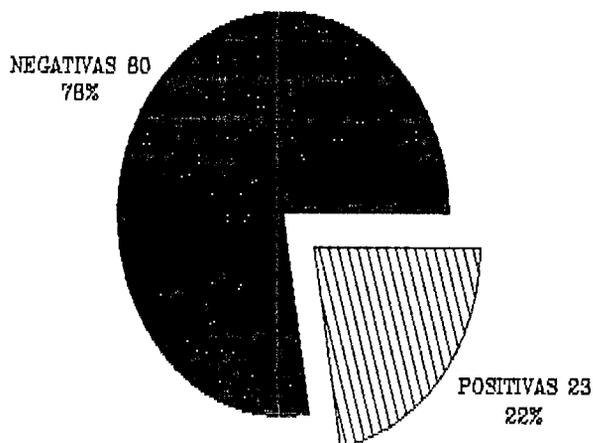
# COMPARACION DE LA DETERMINACION MEDIANTE IF Y PAPANICOLAOU



TOTAL 103 MUESTRAS

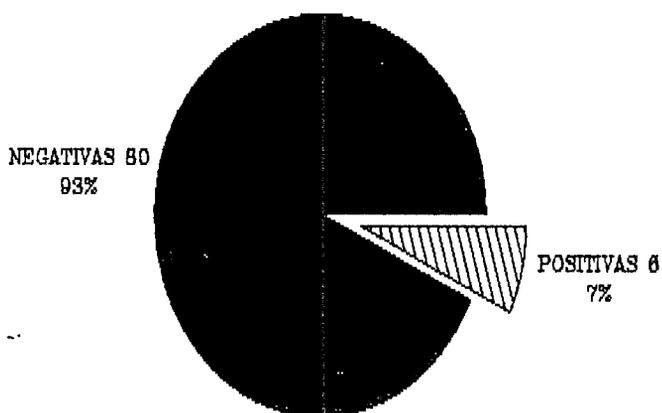
FUENTE DIRECTA

# % DE POSITIVIDAD POR INMUNOFLUORESCENCIA



**FUENTE DIRECTA**

# % POSITIVIDAD POR PAPANICOLAOU



**FUENTE DIRECTA**

En cuanto a la sintomatología de las pacientes se obtuvieron los siguientes datos:

**TABLA No. 5**

**Frecuencia de leucorrea en pacientes que presentan *C. trachomatis* (grafica 9)**

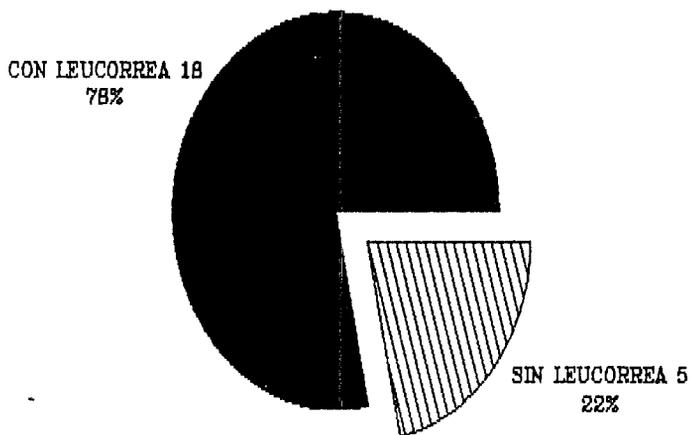
	No. pacientes
Con leucorrea	18
Sin leucorrea	5
-----	
Total	23

**TABLA No. 6**

**Tiempo de flujo en pacientes que presentan *C. trachomatis* (grafica 10)**

Tiempo de flujo	No. pacientes
Indeterminado	6
Sin flujo	5
1 mes	4
6 meses	3
Mas de 12 meses	5
-----	
Total	23

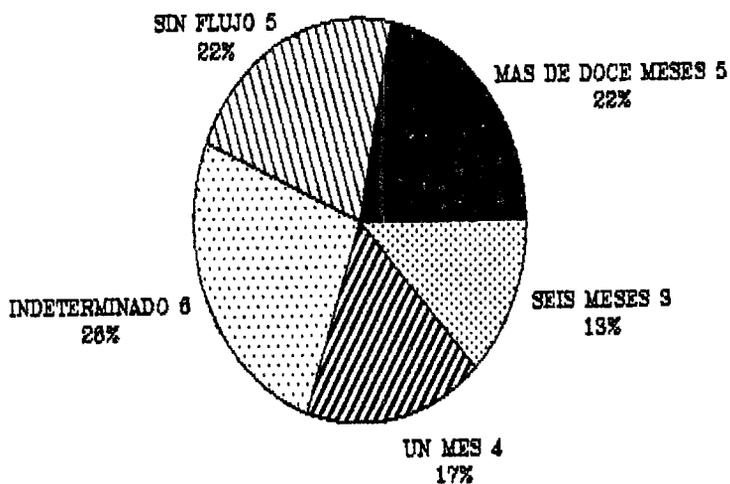
# CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



LEUCORREA

*FUENTE DIRECTA*

## CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



TIEMPO DE FLUJO

FUENTE DIRECTA

**TABLA No. 7**

**Color y olor de la leucorrea que presentan las pacientes positivas a C. trachomatis (graficas 11,12)**

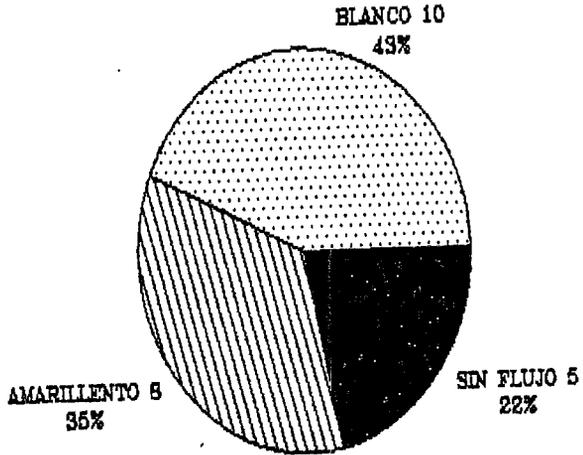
<b>Color</b>	<b>  No. pacientes</b>	<b>Olor</b>	<b>  No. pacientes</b>
Sin flujo	5	Fétido	7
Amarillento	8	Normal	16
Blanco	10		
<b>Total</b>	<b>23</b>		<b>23</b>

**TABLA No. 8**

**Comezón y ardor al orinar que presentan las pacientes positivas a C. trachomatis (graficas 13,14)**

<b>Comezón</b>	<b>  No. pacientes</b>	<b>Ardor al orinar</b>	<b>  No. pacientes</b>
Sin comezón	17	Sin ardor	16
Con comezón	6	Con ardor	7
<b>Total</b>	<b>23</b>		<b>23</b>

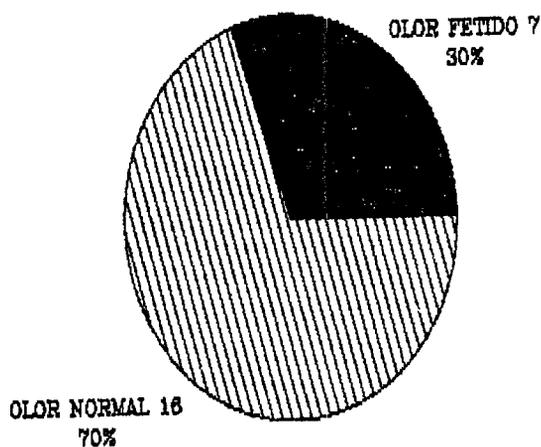
# CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



COLOR DE SECRECION

FUENTE DIRECTA

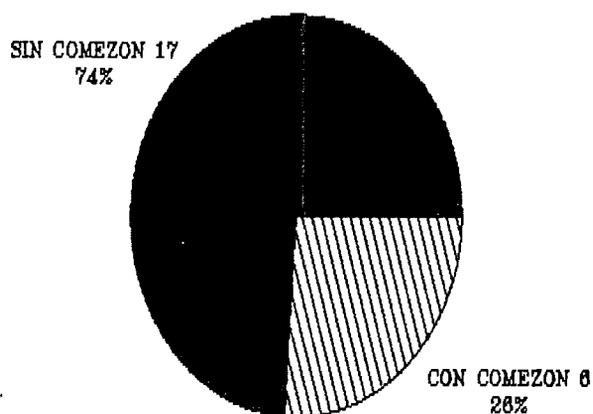
# CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



**OLOR DE SECRECION**

**FUENTE DIRECTA**

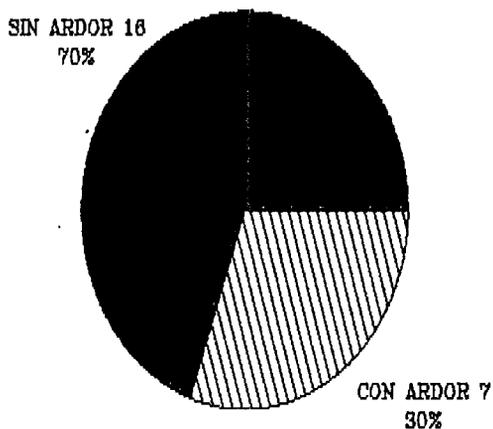
## CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



COMEZON

*FUENTE DIRECTA*

## CORRELACION ENTRE IDENTIFICACION DE C.T. Y MANIFESTACIONES CLINICAS



ARDOR AL ORINAR

*FUENTE DIRECTA*

# **ANALISIS DE RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

De las 103 muestras tomadas, el mayor número de pacientes muestreadas fué del grupo de 21 a 40 años. La positividad en cuanto a edades para las dos técnicas es relativamente importante, ya que se muestrearon más en edades de 21 a 40 años y por lo tanto hubo más positividad en ese mismo rango de edades, sin embargo en la bibliografía, se han presentado estudios en los cuales las muestras positivas y edad de grupos muestreados es muy significativo.

En cuanto a las técnicas de determinación se observó que mediante Inmunofluorescencia directa resultaron 23 muestras positivas; por Papanicolaou resultaron 6 muestras positivas, las cuales dieron positivas también por la técnica de inmunofluorescencia directa; lo que nos indica que esta técnica es más confirmativa en cuanto a metodología se refiere.

Respecto a la actividad sexual de las pacientes positivas, se observa que un gran porcentaje (96%) tuvieron vida sexual activa, lo que nos indica que **C. trachomatis** se presenta con mayor frecuencia en este tipo de pacientes y por lo mismo es una bacteria de transmisión sexual.

Entre las manifestaciones clínicas que presentaron las pacientes se observó que para el diagnóstico de **C. trachomatis** es necesario tomar en cuenta la presencia de leucorrea lo que nos puede indicar una infección y en este caso un 78% de las pacientes con positividad la presentaron, en el caso de las pacientes que no presentan leucorrea que es un 22 % nos ayuda a reafirmar que en algunos casos esta bacteria se puede presentar asintómicamente.

El tiempo del flujo es variable, ya que cada paciente presenta más o menos sensibilidad a la bacteria y hubiese sido conveniente determinar cuales de las pacientes poseían inmunidad contra **C. trachomatis**.

En relación al olor de la secreción presente en las pacientes con **C. trachomatis**, se observó no tiene un olor característico como en algunas infecciones vaginales producidas por otras bacterias; sino que más bien el olor de la secreción tendería a normal, aunque en algunas que presentaban un olor fétido hubiera sido recomendable determinar que tipo de flora bacteriana presentaban aparte, para así saber si este olor era debido a contaminación por otras bacterias o propio y así mismo correlacionar esto con el color de esa secreción.

La comezón y el ardor al orinar no fueron sintomatologías un tanto características o definitivas para el diagnóstico, ya que la comezón puede deberse también a otros factores como la flora vaginal y en el ardor al orinar se tendrían que descartar otras posibles infecciones en vías urinarias que las pacientes pudieran tener.

Los resultados anteriores muestran que la evaluación de la incidencia de la infección por **Chlamydia trachomatis** en el tracto genital femenino puede estar significativamente relacionada con la técnica empleada para la investigación. Los casos en que se identificó a **Chlamydia trachomatis** por la técnica de Inmunofluorescencia pero no por la técnica de Papanicolaou, nos podría indicar que, la infección se localiza en las células superficiales e intermedias en las que las inclusiones no son muy aparentes y, por tanto, su reconocimiento es difícil; incluso creo necesario que se realice Inmunofluorescencia para las pruebas negativas por Papanicolaou pero en las que la paciente presenta sintomatología.

Por todo lo anteriormente dicho y por lo que pude apreciar en el desarrollo y elaboración de esta tesis, propongo a los laboratorios clínicos particulares y del sector público que realizan citologías vaginales, que se incluya el estudio de PAPANICOLAOU como técnica de rutina para el diagnóstico de las infecciones genitales y como prueba predictiva la técnica de INMUNOFLUORESCENCIA para el diagnóstico de **Chlamydia trachomatis** que puede darse en mujeres aún asintomáticas y en algunas que no tienen vida sexual activa.

# **SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES**

En este estudio un factor que es muy relevante y por el cual tuve algunos inconvenientes fué el procesamiento de la muestra después de tomarla, esto es que en algunas de las laminillas teñidas por Papanicolaou las células se encontraban alargadas y estrelladas esto pudo ser debido a que al hacer el extendido con el hisopo se presionó en exceso la muestra sobre el portaobjetos y esto hacía que se observara este fenómeno. Por tanto, no se pudo hacer una interpretación correcta de algunas de las laminillas por la forma inadecuada de la toma de muestra.

Pude apreciar que el diagnóstico de **Clamidia** no es fácil, ya que deben tomarse en cuenta muchos factores entre los cuales se encuentran:

a) la toma de muestra.

b) por la técnica de Papanicolaou: la textura, semejanza, coloración de los cuerpos de inclusión o formas nebulosas, por que no toda forma vacuolada o esférica observada debe considerarse positiva ya que esto nos daría un margen de error muy alto. Por otro lado la identificación de los cuerpos elementales en mi particular punto de vista requiere de una mayor experiencia para que esto nos ayude en mejor proporción hacia los resultados, además de que la diferencia de porcentajes de positividad en comparación con otras técnicas más sensibles es muy significativa.

c) por la técnica de Inmunofluorescencia: en que la fluorescencia de fondo y los artefactos nos pueden dar falsos positivos, además el hecho de no seguir correctamente la técnica puede hacer que los cuerpos elementales no se tñan correctamente y hacerlos parecer dudosos, sin embargo, para evitar esto hay que estar leyendo constantemente los controles y así descartar esta posibilidad.

La presencia de **C. trachomatis** se puede detectar en muestras de exudados vaginales mediante las técnicas de Inmunofluorescencia directa y Papanicolaou, aunque la primera es más significativa, confirmativa y da una frecuencia mayor de casos positivos de la infección por esta bacteria; la segunda mediante la ayuda de un citólogo experto puede diagnosticarse certeramente aunque con menos frecuencia que la primera en una proporción de aproximadamente 1:4.

La incidencia de **C. trachomatis** en mujeres con vida sexual activa es mucho mayor y por lo mismo es considerada como una

bacteria causante de enfermedad de transmisión sexual. Uno de los factores de riesgo para contraer esta infección es lo anterior y por lo tanto las practicas sexuales con una pareja "segura" son muy recomendables para evitar infecciones de este tipo.

En Querétaro se pretende proponer la búsqueda de **C. trachomatis** como un estudio de rutina en cada examen vaginal realizado en cualquier laboratorio, ya que la frecuencia en este grupo estudiado es de aproximadamente 22%; para esto se tienen que considerar los costos de los equipos y pruebas por paciente teniendo que tomar en cuenta a las personas de escasos recursos y los equipos con que debe contar cada laboratorio para realizar esta prueba.

# **BIBLIOGRAFIA**

1. Harrison T.R., Isselbacher K.J., Petersdorf R.G., Wilson J.D., Martin J.B., FAUCI A.S.; *PRINCIPIOS DE MEDICINA INTERNA*; Edit. Interamericana, McGraw-Hill; México 1989; 7a. edición en español; Tomo I; pp 931-943.
2. Berkow R., Fletcher A.J.; *EL MANUAL MERCK DE DIAGNOSTICO Y TERAPEUTICA*; Ediciones Doyma; Barcelona 1989; 8a. edición en español; pp 253, 254, 257 y 258.
3. Oriel J.D., Ridgway G.L.; *INFECCIONES GENITALES CAUSADAS POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; Editorial Científica PLM; México 1985; 1a. edición en español; pp 1 a 48, 117-132 y 135-153.
4. Deleón R.I., Hernández J.T.; *EL DIAGNOSTICO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; IPN, ENCB; México 1992; 2a. edición; pp 1-25.
5. Luengo F.M., Brufau R. C.; *INFECCIONES POR CLAMIDIAS; MEDICINE*; 1992, 3a. edición; 40: 2650-2655.
6. Garza R.V., Peniche Q. E., Manero B. S. M.; *EL DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE LAS ENFERMEDADES OCASIONADAS POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; 1993, Laborat; 5(1): 29-35.
7. Deleón R.I., Jimenez E. Z. A.; *EL DIAGNOSTICO CITOLOGICO DE CLAMIDIAS*; Bioquímica; 1990, 15(1): 23-25.
8. Hernández J.T.M., Alonzo R. H., Deleón R. I., Jimenez E. Z., Escamilla A. E., Fainzilber M. Z., Garcia S.; *INVESTIGACION DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS UTILIZANDO TRES TECNICAS*; Bioquímica; 1992, 17(2): 28-31.
9. Perea E.J., Aznar M. J.; *ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y MICROBIOLOGIA*; Ediciones Doyma; Barcelona 1992; tomo II; pp.794-803.

10. Sanchez M.R., Echaniz A. G., Olvera S. J., Hernández N. P., Calderon J. E., Mejia G. C.; *DETECCION DE INFECCION ENDOCERVICAL POR CLAMIDIA COMPARANDO LA TINCION DE PAPANICOLAOU CON INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA*; Ginecología y obstetricia de México; 1989,57: 29-36.
11. Conant M.A.; *ENFERMEDADES TRANSMITIDAS SEXUALMENTE: ACTUALIZACION TERAPEUTICA*; Atención médica; 1991, junio:32-33.
12. Rose N.R.; Friedman H.; *EL LABORATORIO DE INMUNOLOGIA CLINICA*; Editorial Médica Panamericana; Buenos Aires 1984; 2a. edición en español; pp 781-783.
13. Junqueira L.C., Carneiro J.; *HISTOLOGIA BASICA*; Salvat Editores S.A.; Barcelona 1979; 1a. edición; pp 8 y 9.
14. Stites D.P., Stobo J.D., Fudenberg H.H., Wells J.V.; *INMUNOLOGIA BASICA Y CLINICA*; Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.; México D.F. 1983; 4a. edición; pp 359 - 360.
15. Lovine E., Selva A.A.; *EL LABORATORIO EN LA CLINICA*; Editorial Médica Panamericana; Argentina 1975; pp 481- 483.
16. Conant M.A., Eschenbach D.A., Toomey K.E.; *ENFERMEDADES TRANSMITIDAS SEXUALMENTE: ACTUALIZACION TERAPEUTICA (INFECCIONES POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS)*; Atención médica; 1991; junio:32-33.
17. Ibarra C.A., Sosa C.R., Lugo F.G.; *FRECUENCIA DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN MUJERES ESTERILES*; Anales de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas; 1991, 35: 153-159.
18. Shesser R.; *DIAGNOSTICO DE INFECCIONES VAGINALES COMUNES*; Infectología; 1993, 13(1):53-54.
19. Narcio R.M.L.; *INFECCIONES CAUSADAS POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; Infectología; 1987, 7(5):205-214.

20. Echániz A.G., Calderón J.E., Camalla B.N., Soto N.A., Cruz V.A., Gatica M.R.; *PREVALENCIA DE INFECCION CERVICOVAGINAL POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN POBLACION FEMENINA DE LA CIUDAD DE CUERNAVACA, MORELOS*; Salud pública; 1992, 34(3):301-307.
21. Bernal N.J., Martinez M.A., Dabancens A., *EVALUATION OF PROPOSED CYTOMORPHOLOGIC CRITERIA FOR THE DIAGNOSIS OF CHLAMYDIA TRACHOMATIS IN PAPANICOLAOU SMEARS*; Acta citológica; 1989, 33(3):309-312.
22. *INFECCIONES POR CHLAMYDIA*; Medicina del laboratorio; 1992, 1(2):1
23. Leal R.J.A.; *TRATAMIENTO ACTUAL DE LAS VAGINITIS*; Simposium Pfizer; 1992:1
24. Flores M.S., Guerra I.F., Arredondo G.J.L.; *EVALUACION DE TRES REACTIVOS DE INMUNOFLUORESCENCIA (IMF) PARA EL DIAGNOSTICO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; Enfermedades infecciosas y microbiología; 1993, 13(6):406.
25. Havens C.S., Summers P., Tilton R.C., Wolner H.P.; *DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES GINECOLOGICAS*; Atención médica; 1991, marzo:14-16.
26. Davis B.D., Dulbeco R., Eisen H.N., Ginsberg H.S.; *TRATADO DE MICROBIOLOGIA : CHLAMYDIA*; Editorial Salvat; Barcelona 1985; 3a. edición; pp 632 -639.
27. Gonzalez A.G.; *INFECCIONES POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS*; Impresiones Arenas Solano; México 1993; 1a. edición; pp 9-80,199-203,245-261,268-276-302.