

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

*Prevalencia de infección Cervical por Chlamydia trachomatis
en Pacientes con Neoplasia del Cuello Uterino, que visitan
La Clínica de Patología Cervical en APROFAM.*

Informe final de tesis

Presentado por

CARMINA DEL ROSARIO DIAZ ZAGHI

*Para optar al título de
Química Bióloga*

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

GUATEMALA, JUNIO DE 1996.

7
03
+ (1681)
2.3

**JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

DECANO	<i>Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar</i>
Secretaria	<i>Licda. Ana Lucrecia Fortuny de Armas</i>
Vocal I	<i>Lic. Miguel Angel Herrera Gámez</i>
Vocal II	<i>Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán</i>
Vocal III	<i>Lic. Rodrigo Herrera San José</i>
Vocal IV	<i>Br. Ana María Rodas Cardona</i>
Vocal V	<i>Br. Hayro Oswaldo García García</i>

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de Tesis a todas las personas que durante mi vida de universitaria me brindaron su apoyo y confianza, pero muy en especial a las siguientes personas,

A Dios y a la Virgen María por ser ellos ejemplo de amor, sacrificio y esperanza.

A mis padres, Dr. Luis Humberto Díaz López y María Alicia Zaghi de Díaz, por el amor, dedicación y apoyo que me han brindado en todas las etapas de mi vida.

A mi esposo, Ing. Pedro Salas Bedoya por su amor y comprensión.

A mis hermanas y cuñados por la ayuda y apoyo que me han brindado.

A mis suegros, Sr. Pedro Salas y Sra. María Josefa de Salas por su cariño .

A mi asesor de tesis, Lic. Gerardo Arroyo Catalán por su amistad y ayuda en la elaboración del presente trabajo.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por la formación profesional y humana adquirida en los años de estudiante y por las experiencias vividas en este tiempo.

A mis compañeros de Universidad, en especial a mi grupo de estudio con el que compartimos todos estos años brindándonos el apoyo necesario para poder llevar a término nuestras carreras y sobre todo por la bella amistad que nos une.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas las personas que de una u otra forma ayudaron a la elaboración de este trabajo, en especial a.

Dr. Edwin Morales Médico de la clínica de patología cervical de APROFAM y a SInla.

A las persona que laboran en CODETS, en especial a Sara .

A Behring, Química Hoechst de Guatemala en especial a la Licda. Jenny de Moory por su tiempo y ayuda.

A la Licda. Luisa María Salas por su ayuda en la impresión de este trabajo.

A APROFAM por haberme permitido llevar a cabo este estudio en sus instalaciones.

INDICE

<i>I. Resumen</i>	1
<i>II. Introducción</i>	2
<i>III. Antecedentes</i>	3
<i>IV. Justificación</i>	20
<i>V. Objetivos</i>	21
<i>VI. Hipótesis</i>	22
<i>VII. Materiales y Métodos</i>	23
<i>VIII. Resultados</i>	27
<i>IX. Discusión de Resultados</i>	29
<i>X. Conclusiones</i>	31
<i>XI. Recomendaciones</i>	32
<i>XII. Referencias</i>	33
<i>XIII. Anexos</i>	38

I. RESUMEN

Actualmente las infecciones por Chlamydia trachomatis son reportadas como las de mayor prevalencia de todas las enfermedades de transmisión sexual en los Estados Unidos y otras partes del mundo.

Con el propósito de conocer la prevalencia de esta infección en mujeres con Neoplasia del Cervix, se estudiaron 96 mujeres con un diagnóstico confirmado de Neoplasia Intraepitelial del cervix (NIC), que visitaron la clínica de Colposcopia de APROFAM. A estas pacientes se les tomó una muestra endocervical en la cual se determinó la presencia del antígeno del microorganismo antes mencionado. Para este fin, se utilizaron 2 métodos inmunológicos, Chlamydiazyme (ABBOTT LABORATORIOS) y Enzygnost (BEHRING/QUIMICA HOECHST DE GUATEMALA).

Se encontró que un total de 7 (7.29%) pacientes con NIC eran positivas al antígeno. Esto indica que la prevalencia de Chlamydia trachomatis es muy parecida a la prevalencia de otras poblaciones, como por ejemplo, en mujeres embarazadas es de un 5.3 por ciento, mujeres que visitan Clínicas de Planificación Familiar 7.0 por ciento, en mujeres adolescentes es de un 7.0 por ciento.

De los métodos utilizados para el diagnóstico, la prueba del hisopo y el frote coloreado con Giemsa, son poco efectivos en el diagnóstico de la enfermedad. Esto se debe a varias razones, dentro de las cuales podemos mencionar la gran variedad de células existentes en la muestra de hisopo endocervical, (células escamosas, células epiteliales, células endocervicales, etc.), también la abundancia de leucocitos polimorfonucleares y bacterias, a la hemorragia que presenta este tipo de pacientes a la hora de tomar la muestra. Para los métodos de Chlamydiazyme y Enzygnost, la concordancia fue de un acuerdo intermedio a un intervalo de confianza del 95%; esto nos indica, que cualquiera de las dos pruebas es efectiva para la investigación del antígeno de Chlamydia trachomatis.

II. INTRODUCCION

Chlamydia trachomatis es una bacteria, intracelular obligada con capacidad anaeróbica limitada. Su único hospedero es el hombre aunque en algunas ocasiones infecta al ratón produciéndole enfermedades respiratorias. Estudios realizados en Estados Unidos y otras partes del mundo han demostrado que esta bacteria ha adquirido una gran importancia y por ello actualmente es reconocida como uno de los agentes de transmisión sexual más importante. Es agente causal de varias enfermedades como el tracoma, linfogranuloma venéreo, uretritis no gonocócica, cervicitis, enfermedad pélvica inflamatoria y otras más.

En Guatemala se han realizado varias investigaciones sobre Chlamydia trachomatis y se conoce la prevalencia de la misma en algunas poblaciones, por ejemplo; en mujeres embarazadas se sabe que es del 5.3 por ciento; en pacientes de Clínicas de Planificación Familiar es de un 7.0 por ciento y en adolescentes es de un 7.0 por ciento (1).

Actualmente se sospecha que existe algún tipo de relación entre las neoplasias de cuello uterino y las infecciones por Chlamydia trachomatis, existiendo la posibilidad que esta última actúe como un agente cocarcinógeno o un agente potencial en el progreso de las neoplasias del cuello uterino. A pesar de estas sospechas son pocos los estudios e investigaciones realizadas al respecto.

Por ello en el presente trabajo se investigó la prevalencia de infección por Chlamydia trachomatis en mujeres con neoplasias del cuello uterino y al mismo tiempo se realizó un estudio comparativo de dos métodos diagnósticos para Chlamydia trachomatis: El Clamydiazime® y el Enzygnost -Chlamydia®.

© ABBOTT LABORATORIOS

© BEHRING/QUÍMICA HOECHST DE GUATEMALA

III. ANTECEDENTES

A. Clasificación de Chlamydia trachomatis

Son células procariotas intracelulares obligadas de forma cocoide, capaces de reproducirse dentro de los fagolisosomas de algunas células eucariotas a través de un ciclo único de desarrollo. Se les clasifica dentro del orden Chlamydiales con un solo género Chlamydia y tres especies: psitacci, trachomatis y pneumoniae. (2,3)

A estos microorganismos se les consideró como virus, debido a las similitudes que presentaban con éstos, pero conforme se fue estudiando su ciclo evolutivo y sus características se llegó a clasificar como bacteria. Actualmente la única similitud que existe de Chlamydia trachomatis con virus, recae en su naturaleza de ser células intracelulares obligadas. Además se han encontrado similitudes básicas entre Chlamydia trachomatis y las bacterias Gram negativo, principalmente la sensibilidad antibiótica y el poseer un sistema bilaminar de membrana, con la diferencia de que las primeras carecen de la capa de peptidoglicano intermedia de la membrana celular y de cualquier otro amino-azúcar que lo sustituya, por lo cual son resistentes al tratamiento con lisozima. Sin embargo, su susceptibilidad a la penicilina y a la D-cicloserina, indica que debe existir alguna estructura de tipo tetrapeptídico que cumpla las funciones de proporcionar rigidez y estabilidad a la membrana externa, cuando ésta se somete a cambios de presión osmótica (2,6).

B. Composición Química

Chlamydia posee una composición química semejante a la de las bacterias Gram negativo, su peso en seco es aproximadamente del 35 por ciento de proteínas, con un contenido lipídico de 40 al 50 por ciento. Los ácidos nucleicos ADN y ARN están presentes en sus tres estadios: cuerpo elemental, cuerpo inicial

y cuerpo reticular. El contenido de carbohidratos oscila entre el uno y dos por ciento (3).

Al igual que las bacterias Gram negativo, Chlamydia es sensible al tratamiento con ácido etilen-diamino-tetracético (EDTA) en condiciones alcalinas, o exposición a polimixina B.

En relación con lo anterior, se ha encontrado que la membrana externa de Chlamydia contiene proteínas ricas en cisteína, las cuales pueden formar por medio de puentes disulfuro una red de proteínas capaz de funcionar como estructura de soporte en los cuerpos elementales, mientras que los cuerpos reticulares, que son inclusiones sensibles a las variaciones de presión osmótica y alteraciones químicas, carecen o contienen muy poca cantidad de dichas proteínas. Estas proteínas ricas en cisteína forman parte de la proteína principal de membrana (MOMP), la cual constituye el 60 por ciento de la proteína total de la membrana externa de Chlamydia y se cree que además de su función de matriz estructural en los cuerpos elementales es importante para la formación de poros hidrofílicos. Cada molécula de MOMP es capaz de formar 3 puentes disulfuro, que contienen 3 residuos de cisteína por molécula (2,3,4).

C. Etapas de Desarrollo de C. trachomatis

Chlamydia tiene tres etapas de desarrollo, representadas por el cuerpo elemental (CE), el cuerpo reticular (CR), y las formas intermedias o cuerpo intermedio (CI). Con el uso de la coloración de Papanicolaou se ha introducido también el uso del término "cuerpo inicial" para referirse a las pequeñas colonias formadas inicialmente dentro de la vacuola fagocítica. Todas estas fases representan la evolución adaptativa de Chlamydia a su forma de vida parasítica. (2,7)

El cuerpo elemental es la forma infectiva, semejante en su función a las esporas de algunas bacterias Gram positivo; o sea que están adaptadas al medio extracelular como formas de resistencia. Su forma es cocoide, con diámetro de 0.2 a 0.4 nanómetros y un tamaño menor al de las bacterias en general (2,3).

Con el uso del microscopio electrónico, se ha observado en la superficie de la membrana celular de algunos cuerpos elementales, proyecciones llamadas proyecciones hemisféricas. Cada proyección tiene un ápice redondo, su base se encuentra en continuidad con el citoplasma y su diámetro es de 40 nanómetros con una altura de 30 nanómetros, espaciados entre sí 25 nanómetros (8). Estas proyecciones podrían estar involucradas en la unión del CE a la célula hospedera, pero no se ha podido obtener evidencia que lo apoye. Otros investigadores suponen que las proyecciones son reservorios de membrana para la rápida expansión del cuerpo elemental a cuerpo reticular. Los cuerpos elementales poseen algunas características que no poseen los cuerpos reticulares como lo son: una hemaglutinina de superficie, igual cantidad de ADN y ARN, son poco sensibles a la sonificación y tratamiento con tripsina, son relativamente impermeables, producen citotoxicidad en el ratón y en macrófagos en cultivo (2,4,8).

El cuerpo reticular es más grande que el CE, es la forma metabólicamente activa, por lo tanto la forma de multiplicación activa, ya que adquiere la adenosin trifosfato (ATP), necesaria para la síntesis protéica (3). Su diámetro es de 1 a 1.3 nanómetros con una membrana celular frágil, de forma pobremente definida por estar sujeta a menor influencia física dentro del fagosoma. Carece de hemaglutinina, posee de tres a cuatro veces más ARN y ADN y es relativamente sensible a la sonificación. Su citoplasma es homogeneamente reticulado y su membrana externa carece de cisteína y metionina, lo cual explica la falta de rigidez de la misma. En su membrana también existen proyecciones en forma de púa, diferentes a las hemisféricas del CE. Se originan entre depresiones de la membrana externa, atraviesan el espacio periplasmático y se extienden a través y hacia afuera de la membrana, proyectándose de 23 a 32 nanómetros de su longitud total dentro de la Chlamydia. Se han encontrado proyecciones hemisféricas y en

forma de púa, tanto en el CE como en el CR. Sin embargo, por microscopía electrónica se han encontrado sólo en las formas intermedias de desarrollo del cuerpo reticular (3,4,9).

D. Ciclo de desarrollo de C. trachomatis

El ciclo de desarrollo de la Chlamydia es único para el orden de los Chlamidiales y sirve para diferenciarlo de cualquier otro microorganismo, éste puede dividirse en cuatro etapas:

1. Unión a la membrana de la célula eucariota.
2. Ingestión por fagocitosis del CE por célula hospedera no especializada en dicha función.
3. Desarrollo intracelular del parásito.
4. Liberación de los CE infecciosos (2,3,7).

El ciclo se inicia con la unión del CE a la membrana celular de la célula hospedera, (Células epiteliales transicionales y columnares), etapa que puede ser afectada por la presencia de cationes o aniones en el medio, ya sea aumentando o disminuyendo la adherencia a la célula huésped, aunque esto además depende del tipo de Chlamydia infectante. El CE es ingerido por fagocitosis, se forma una vacuola o fagosoma, los puentes disulfuro de la membrana externa se reducen por lo cual se abren los poros de la membrana externa de la Chlamydia ingresando ATP y nutrientes, perdiendo así también la rigidez de la membrana externa del CE. (2,3,7).

El cuerpo elemental está protegido de la destrucción de los mecanismos de defensa del hospedero debido a que éste permanece rodeado de la membrana de la célula huésped. Esta protección intracelular explica la infección persistente característica de este microorganismo (7).

Entre las seis a ocho horas el cuerpo elemental se transforma en un cuerpo inicial, el fagosoma permanece unido a la membrana celular hospedera y se

fusiona con los lisosomas hospedero, lo cual le proporciona un medio adecuado para que se lleve a cabo la división binaria; la célula hospedera aumenta de tamaño, modifica su forma para poder acomodar a las colonias de cuerpos iniciales y su síntesis proteica se inhibe (2,3,7).

Dentro de la vacuola la división binaria continua, iniciándose la transformación a cuerpo elemental por lo cual la colonia se compone de una mezcla de CE, CR y CI. Aproximadamente 24 horas después la multiplicación de los CI cesa y se rompe el fagosoma liberando su contenido, esta ruptura es causada por una proteinasa específica de este género bacteriano. Finalmente los CR se condensan de su diámetro original de 800 a 350 nanómetros para formar los cuerpos elementales. La duración del ciclo completo es de aproximadamente 48 horas, pero esto varía de acuerdo al serotipo de Chlamydia infectante y el tipo de célula hospedera (2,3,9).

E. Características y Limitaciones del Ciclo de Desarrollo

El ciclo de desarrollo de C. Trachomatis puede verse afectado por factores como: habilidad de la célula infectada para generar energía, la capacidad de la Chlamydia para unirse a la célula hospedera y de inducir su propia fagocitosis, así como de inhibir la fusión fagolisosómica (2- 4).

La primera etapa crítica en el desarrollo de la Chlamydia, es la adherencia e internalización a la célula hospedera, proceso que se efectúa por fagocitosis, modificada por factores aun no determinados, ya que se lleva a cabo incluso por células no fagocíticas. Este proceso de ingestión de los cuerpos elementales no es afectado por calentamiento de los mismos a 56 grados centígrados por 30 minutos, ni por tratamiento con proteasas o reacción con anticuerpos. Se ha observado que los CE muertos con luz ultravioleta también son capaces de inducir fagocitosis al igual que los CE viables, por todo ello se ha llegado a las siguientes hipótesis:

1. Las proteasas y su acción proteolítica sobre las proteínas de la membrana del cuerpo elemental constituyen una etapa necesaria para iniciar la infección en la célula hospedera.
2. La unión célula huésped-CE depende de las cargas electrostáticas de sus membranas, lo cual explicaría por que la centrifugación de los cultivos tisulares y el tratamiento con dietil-amoetil-dextran (DEAE) favorecen la infección de las células de cultivo, ya que con ello se vence la repulsión electrostática (1,3,4,6,7,10).

F. Antígenos

Los antígenos de Chlamydia trachomatis son elaborados en la superficie de la misma, éstos se dividen en géneros, especies, subespecies y tipos todos ellos específicos. Esta división de los antígenos se debió al estudio de la naturaleza físico-química, así como antigénica de los serotipos de Chlamydia, la cual fue difícil, hasta que se desarrolló la técnica de Anticuerpos Monoclonales de Kohler y Milstein (11).

Se han logrado identificar 15 serotipos de Chlamydia trachomatis, nombrados de la A a la K para el biovar del tracoma y L1, L2, L3, para el biovar del linfogranuloma venéreo (LGV) (12).

Entre los 15 inmunotipos existen reacciones cruzadas que permiten agruparlos en 3 complejos: Complejo B (B, Ba, D, E, L1, L2), Complejo C (C, J, H, I, A), Complejo intermedio (K, L3). Los inmunotipos G y F no se incluyen en el complejo B pero están muy relacionados entre sí (8,11,13).

Empleando anticuerpos monoclonales antígeno sub especie y especie específicos, se ha encontrado una proteína que aparece como una banda principal 15 minutos después de aplicar electroforesis a un cultivo de Chlamydia en gel de poliacrilamida, por lo que se le llama proteína principal de membrana, la cual tiene un peso de 40,000 Daltons, es termoestable y peryodatoresistente (2,3,8,12).

Los antígenos de Chlamydia son sitios inmunodeterminantes localizados en la proteína principal de membrana y son importantes determinantes de la infectividad, de la inhibición de la fusión lisosomal y de la inmunopatogénesis de la enfermedad, ya que, por ejemplo, los tipos de la A a la K, infectan células epiteliales y se asocian con infecciones de conjuntiva, faringe, tracto respiratorio inferior, uretra, endocervix, trompas de falopio y probablemente del tracto gastrointestinal, mientras que los inmunotipos L causan enfermedad sistémica y LGV. Los serotipos L se diferencian de los otros serotipos en que crecen más rápidamente en cultivo celular, aparentemente usando receptores celulares diferentes y son más virulentos para el ratón cuando se inoculan en el tejido cerebral, por lo cual ahora se les separa en tres biovars llamados: Biovar tracoma (A a la K), Biovar LGV y Biovar de la neumonitis del ratón (MoPn) (8,13).

G. Inmunidad

La respuesta inmune tanto humoral como celular contra Chlamydia no está aún muy clara, de estas dos la más estudiada es la respuesta humoral, esto se debe al desarrollo de la técnica de inmunofluorescencia indirecta ya que se han podido realizar mediciones de los niveles de inmunoglobulinas IgG, IgM e IgA en suero, lágrimas y secreciones. La función de neutralización por parte de las inmunoglobulinas se ha estudiado *in vivo* e *in vitro*, en presencia y ausencia del complemento, comprobándose que ocurre intracelularmente por agregación de los cuerpos elementales (8,11-13).

El antígeno tipo-específico involucrado en esta respuesta, es una proteína de tripsina lábil localizada en la superficie de los cuerpos elementales de Chlamydia y es parte de la proteína mayor de la membrana exterior (MOMP) (12,13,15).

A pesar que la respuesta humoral es la más estudiada, se cree que no es tan importante para la defensa del huésped contra la infección clamidial, como lo es la respuesta celular, la cual se estudia a través de la transformación linfocítica

es la respuesta celular, la cual se estudia a través de la transformación linfocítica in vitro así como por las relaciones observadas entre Chlamydia y los polimorfonucleares (9,10,14).

La respuesta celular contra Chlamydia es fuerte caracterizándose en la etapa temprana de la infección por intensa respuesta de leucocitos polimorfonucleares y la etapa tardía por infiltrado linfocítico. Los polimorfonucleares fagocitan y destruyen los cuerpos elementales, se cree que esta respuesta se lleva a cabo por medio de mecanismos antimicrobianos dependientes de oxígeno (2,3,16).

Con respecto al infiltrado linfocítico observado en la fase tardía de la infección, se ha observado que Chlamydia es capaz de estimular la transformación blástica de los linfocitos de sangre periférica con producción policlonal de anticuerpos, pero solo un uno por ciento de dichos anticuerpos son específicos de Chlamydia. Por otro lado existe producción de linfocinas como la interleucina 1, que favorece la proliferación fibroblástica afectando la cicatrización con producción de ceguera por sobreestimulación de la respuesta humoral (15,17).

H. Infecciones Causadas por Chlamydia tracomatis

1. Infecciones Oculares

a. Tracoma

Esta enfermedad ocular es una keratoconjuntivitis crónica, es la causa más común de ceguera a nivel mundial, estimando que 400 a 500 millones de personas la padecen y dos millones de ellas sufren de ceguera, perteneciendo la mayoría a países en vías de desarrollo. En las regiones endémicas se ha encontrado que la infección es causada principalmente por los serotipos A, B o C. El tracoma se adquiere por transmisión de ojo a ojo y usualmente comienza abruptamente como conjuntivitis palpebral y bulbar. Aparece exudado inflamatorio y en pocas semanas

los linfocitos y macrófagos forman folículos leves o necróticos debajo de la superficie de la conjuntiva, si no se produce reinfección en esta etapa, cura espontáneamente, pero si ocurre, se observa vascularización de la córnea, generalmente del limbus superior y simultáneamente hay cicatrización, la cual causa triquiasis y entropión (4,14,17,18).

b. Conjuntivitis de Inclusión del Adulto

Es una conjuntivitis folicular aguda causada por C. trachomatis, por los serotipos del D al K, en adultos sexualmente activos, adquirida generalmente por contacto con descargas genitales infectadas o por cosméticos contaminados. Se manifiesta como una conjuntivitis mucopurulenta después de un período de incubación de dos a 25 días, aparece en forma aguda con sensación de cuerpo extraño, fotofobia, descarga mucopurulenta, conjuntivitis folicular y queratitis. Si no ocurre reinfección las lesiones suelen curar en un lapso de tiempo de meses a 2 años (2,17).

2. Infecciones en el Tracto Genital Masculino

a. Uretritis No-Gonocócica

La uretritis causada por Chlamydia en hombres es de un 30 a un 50 por ciento, o sea que es de dos a tres veces más frecuente que la uretritis gonocócica.

La uretritis no gonocócica en la mayoría de los casos es asintomática o con molestias leves que no son tomadas en cuenta o consultadas al médico, es por ello que la identificación del patógeno causante es difícil y en la mayoría de ocasiones no se realizan pruebas de laboratorio para su identificación. En la actualidad se le ha dado mayor importancia a la detección de Chlamydia en casos de uretritis, ya que se ha observado que en pacientes no tratados la infección causa daño permanente del tejido y presenta leucocitosis uretral acompañada de piuria (4,14).

Se ha observado que del 20 al 50 por ciento de pacientes masculinos tratados por gonorrea desarrollan uretritis post gonocócica siendo Chlamydia responsable del 70 al 90 por ciento de estos casos (4,10,14).

b. Epididimitis

La epididimitis aguda en hombres mayores de 35 años es causada principalmente por E. coli, pero en hombres jóvenes uno de dos casos es causado por C. trachomatis, en los Estados Unidos. Chlamydia puede causar la epididimitis sola o acompañada por N. gonorrhoeae y los dos patógenos deben de ser investigados en este tipo de infección para dar tratamiento adecuado, ya que en sus peores consecuencias la epididimitis puede llegar a causar esterilidad (4,14).

c. Síndrome de Reiter

El Síndrome de Reiter es una enfermedad sistémica en el hombre con manifestaciones clínicas de conjuntivitis, artritis reactiva sexualmente adquirida (SARA) y uretritis. C. trachomatis ha sido recuperada en más del 70 por ciento de hombres con Síndrome de Reiter sin tratamiento, pero no se ha logrado aclarar si la infección inicia el síndrome o si estos pacientes son más susceptibles y Chlamydia podría afectar únicamente a individuos genéticamente predispuestos, ya que se ha determinado que este síndrome tiende a limitarse a los individuos HLA-B27 positivos, encontrándose este antígeno en el 60 a 70 por ciento de pacientes con este síndrome y de éstos un 50 a 70 por ciento son infectados por Chlamydia (1,4,14).

3. Infecciones en el Tracto Genital Femenino

Las infecciones chlamidiales tienden a ser más severas y con peores consecuencias en mujeres que en hombres.

a. Cervicitis Mucopurulenta

Cervicitis es la inflamación del epitelio columnar del canal endocervical y las glándulas endocervicales. En la gran mayoría de los casos, los síntomas son vagos e inespecíficos y no hacen que la paciente busque consulta médica, por lo que el diagnóstico se establece generalmente en visitas rutinarias. Al igual que en la uretritis del varón, los agentes más comunes de la cervicitis mucopurulenta son N. gonorrhoeae y C. trachomatis. Si la cervicitis mucopurulenta no es tratada adecuadamente puede causar complicaciones como la endometritis y salpingitis con las consecuencias graves de éstas como infertilidad o aumento de embarazos ectópicos (4,7,9,14,19,20).

b. Endometritis y Salpingitis

Estas dos infecciones en la mayoría de casos, como ya se mencionó son complicaciones de la cervicitis mucopurulenta. Los síntomas por lo general son leves o asintomáticos. Las pacientes sintomáticas presentan fiebre, leucocitosis y eritrosedimentación elevada (6,21).

La salpingitis es la complicación más seria ya que puede causar obstrucción en las trompas de falopio causando infertilidad. El diagnóstico de estas dos patologías se realiza principalmente por medio de laparoscopia, seguida de cultivo (15,22).

c. Enfermedad Pélvica Inflamatoria

La enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) puede ser causada por varias bacterias, siendo C. trachomatis una de las más importantes. EPI puede tener diferentes manifestaciones, siendo las más importantes: dolor agudo en el vientre, flujo vaginal con prurito, fiebres arriba de 38 grados Centígrados, etc., debido a los síntomas tan inespecíficos que presenta la infección se debe de realizar una

laparoscopia y exámenes de laboratorio para el diagnóstico de la misma (21,23-25).

d. Linfogramuloma Venéreo LGV

Es uno de los primeros síndromes clínicos relacionados con Chlamydia. Esta infección es causada por el biovar de LGV, serotipos L1, L2 y L3. Después del contagio por contacto sexual, el microorganismo invade el sistema linfático y circulatorio. Las manifestaciones clínicas y consecuencias del LGV son inespecíficas y variadas, la manifestación más distintiva es la aparición de nódulos linfáticos en la ingle y el fémur, produciendo dolor, necrosis y aparición de fistulas linfocutaneas (2,14).

I. Neoplasia Intraepitelial del Cervix

La neoplasia intraepitelial del cervix (NIC); es una lesión asintomática que generalmente se diagnostica en los frotis de Papanicolaou rutinarios y son confirmados por medio de biopsias realizadas por colposcopia (21,26).

El NIC es una lesión precancerosa y se divide en tres grados, NIC grado I, NIC grado II y NIC grado III (3,27).

1. Importancia

El carcinoma del cuello uterino fue en una época la causa principal de muerte por cáncer, sin embargo hoy en día gracias al diagnóstico temprano se ha logrado disminuir en gran cantidad las defunciones por esta causa. En contraste con esto, cada año se diagnostican de siete a ocho veces más pacientes nuevas con carcinoma in situ. Es evidente que mucho más del 50 por ciento de los cánceres in situ son erradicados totalmente mediante una terapéutica oportuna y apropiada. Estos avances se han logrado debido a la eficacia de la prueba citológica de Papanicolaou para descubrir lesiones pre cancerosas (NIC) o

carcinomas cervicales y a la accesibilidad del cuello uterino a la colposcopia y la biopsia (3,21).

2. Etiología

La etiología del NIC y del cáncer invasor del cuello uterino aún permanece incierta, aunque se sabe que existen varios factores que pueden aumentar el riesgo de contraerlo. Entre estos factores se encuentran: primer coito a edad temprana, múltiples parejas sexuales, partos múltiples y algunos agentes de transmisión sexual con potencial oncogénico comprobado como lo es el papiloma virus humano (HPV). Otros agentes han sido postulados como posibles factores oncogénicos como por ejemplo: Neiseria gonorrhoeae, Trichomonas vaginalis, Herpes simplex, etc.

Recientemente se ha mencionado a Chlamydia trachomatis como un agente potencial en la evolución del NIC e inclusive como un posible cocarcinógeno, debido a los hallazgos realizados en estudios recientes que relacionan la Chlamydia trachomatis con la evolución del NIC leve o moderado a NIC severo o inclusive a carcinoma in situ (4,10,28).

J. Diagnóstico de Laboratorio

El diagnóstico de laboratorio para las infecciones causadas por Chlamydia en el humano puede llevarse a cabo por tres métodos generales: citológico, aislamiento en cultivo y serológico (3).

1. Aislamiento en Cultivo Celular

El cultivo celular como método de diagnóstico para C. trachomatis es el más sensible y específico, pero debido al alto costo del mismo y al requerimiento de equipo caro y muy específico, no es posible realizarlo como rutina, en nuestro

medio, por lo que actualmente solo se utiliza como herramienta de investigación (8).

Los primeros cultivos de Chlamydia se llevaron a cabo en saco vitelino de huevos de gallina embrionados, empleándose después los cultivos celulares en líneas como: Células de McCoy, Célula Hela, BKH, o células L. Actualmente la línea celular más utilizada es la de MacCoy ya que ha demostrado ser la más susceptible. Este procedimiento ha tenido varias modificaciones con el transcurso del tiempo para poder obtener mejores resultados siendo la más ventajosa la eliminación de la necesidad de aplicar radiación, utilizando simplemente centrifugación (14,19,23,37).

2. Papanicolaou y Tinción de Giemsa

La detección citológica de Chlamydia en frotos cervicales es controversial e insatisfactoria, debido a su baja especificidad y sensibilidad. La identificación morfológica de las inclusiones de Chlamydia en las coloraciones de Papanicolaou han sido establecidas en un sin fin de maneras, como por ejemplo: la aparición de estructuras cocoides, vacuolas con inclusiones, células reticulares o vacuoladas e inclusiones hematoxilílicas e inclusiones nebulares. En resumen, en las coloraciones de Papanicolaou es muy difícil distinguir las inclusiones de Chlamydia de otras inclusiones intracitoplasmáticas con morfologías semejantes. La coloración de Giemsa ha sido recomendada como un método más específico para la detección de las inclusiones en frotos cervicales, siendo el criterio de identificación la aparición de inclusiones nebulares en células metaplásicas columnares y en células escamosas intermedias.

La sensibilidad y especificidad de la coloración de Giemsa está entre el 68 por ciento y el 95 por ciento respectivamente (2,29-36).

3. Diagnóstico Inmunológico

a. Fijación del Complemento

Esta técnica es utilizada para detección de anticuerpos para Chlamydia en casos de psitacosis y LGV. Debido a que se emplea un antígeno grupo específico, se logra obtener una alta seropositividad en pacientes que no sufren estas infecciones. Este método tiene la gran desventaja que no diferencia los anticuerpos producidos por C. psittaci y C. trachomatis (3).

b. Inmunofluorescencia Indirecta

Este método detecta los anticuerpos IgG, IgM e IgA en suero, secreciones genitales y lagrimales, empleando 3 complejos de antígenos: Complejo B o del tracoma, complejo C o del paratracoma y complejo LGV (LGV 1,2,3).

Las ventajas de inmunofluorescencia incluyen: toma de muestra sencilla, transporte de la muestra sin refrigeración, permite tipificar cualquiera de los 15 serotipos causales de infección usando grupos de antígenos por medio de reacciones cruzadas y aún así mantener su sensibilidad y especificidad, determinar títulos de anticuerpos y es posible leer gran cantidad de muestras en poco tiempo.

Las desventajas son: requiere microscopio de fluorescencia, personal entrenado, es difícil determinar la dilución final y necesita de cuarto oscuro. Para el consumo de hospitales y laboratorios este método se encuentra comercialmente bajo el nombre de MICRO-IF TEST (4,7,38)

c. Inmunofluorescencia Directa para Detección de Antígenos

Este método utiliza un anticuerpo monoclonal conjugado marcado con fluoresceína e identifica los cuerpos elementales de secreciones genitales. Los reportes de sensibilidad con respecto al cultivo, varían de 70 hasta el 100 por ciento y se ha comprobado que la sensibilidad depende de la prevalencia de infección clamidial de la población en la que se aplique esta prueba. Algunas de sus ventajas son: permite examinar de 30 a 50 frotis por día, accesible a laboratorios que no cuentan con cultivos celulares, costo más bajo que el de otras pruebas inmunológicas y los resultados se obtienen en 30 minutos (39-43).

d. Inmunoensayo Enzimático para Detección de Antígeno

El inmunoensayo enzimático para detección de antígeno (ELISA), utiliza una solución especial para romper la pared de las células y poder detectar los antígenos localizados en los cuerpos elementales ya sea vivos o muertos de C. trachomatis.

Las ventajas que tiene este método son: los reactivos son relativamente baratos, están al alcance de todos los laboratorios, las muestras se pueden guardar por siete días a temperaturas de dos a ocho grados centígrados, posee un procedimiento sencillo y se obtienen resultados en menos de cuatro horas. Las desventajas son: se necesita un lector de densidad óptica. La sensibilidad y especificidad de la técnica se calcula en el 90 y 98 por ciento respectivamente (44-47).

K. Tratamiento

El tratamiento de elección para la infección causada por Chlamydia trachomatis es la Tetraciclina o sus derivados. La Eritromicina es recomendada como tratamiento de elección en pacientes en estado de gravidez o pacientes alérgicos a la Tetraciclina (4,47).

Otras drogas de elección son la Clindamicina y la Doxiciclina que han demostrado ser más efectivas en este tratamiento, ya que son mejor toleradas y no causan tantos efectos secundarios como la Tetraciclina (4,48).

IV JUSTIFICACION

Chlamydia trachomatis es reconocida actualmente como uno de los patógenos más comunes en infecciones de transmisión sexual y es una de las principales causas de infertilidad involuntaria en los Estados Unidos.

En Guatemala se conoce la prevalencia de Chlamydia trachomatis en diferentes grupos de la población, pero se desconoce su prevalencia en mujeres con Neoplasia Intraepitelial del Cervix o Carcinomas del cuello uterino. Esto es de mucha importancia debido a la reciente relación encontrada entre infecciones causadas por Chlamydia trachomatis y la evolución de las neoplasias a formas más severas e inclusive a cáncer in situ. Así mismo no se han realizado estudios de reproducibilidad entre la clínica, los frotis teñidos con Giemsa y los métodos serológicos disponibles en Guatemala. Esto es de gran importancia ya que estos son los métodos más utilizados en Guatemala, debido al alto costo que representa el cultivo de la bacteria.

V. OBJETIVOS

1. *Determinar la prevalencia de la infección cervical por Chlamydia trachomatis en un grupo de pacientes con neoplasia intraepitelial del cuello uterino.*
2. *Evaluar cuatro métodos de laboratorio para el diagnóstico de Chlamydia trachomatis.*

PROPIEDAD DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

VI. HIPOTESIS

La prevalencia de la infección por Chlamydia trachomatis en mujeres con Neoplasia del Cuello Uterino es igual o menor al 10 por ciento.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de Trabajo

Mujeres que tengan un diagnóstico confirmado de neoplasias del cuello uterino y que asistan a la clínica de patología cervical de APROFAM.

B. Muestra

Se seleccionaron 96 mujeres que acudan a las clínicas de APROFAM con un diagnóstico confirmado de neoplasia del cuello uterino en un tiempo estimado de un mes y medio.

C. Selección

- *Criterios de Inclusión: Mujeres que acudieron a la clínica de patología cervical, que están en edad reproductiva (15- 44 años) y que tengan diagnóstico confirmado de neoplasia del cuello uterino por medio de biopsia.*
- *Criterios de Exclusión: Mujeres que no estén en edad reproductiva (menores de 15 años o mayores de 44 años) y/o que tengan un diagnóstico negativo de neoplasia del cuello uterino por medio de biopsia.*

D. Procedimientos

Se tomaron muestras del cuello uterino con hisopos de algodón y se colocaron en medios de transporte adecuados. Antes de tomar la muestra se realizó una limpieza adecuada del moco vaginal para que no interfiriera en las pruebas. Las pruebas que se realizaron son:

2. Enzygnost-Chlamydia©

- a. Agitar en vortex las muestras y los controles por 15 segundos.
- b. Calentar controles y muestra a 100 °C por 10 minutos.
- c. Permitir que las muestras y controles se establezcan a temperatura ambiente.
- d. Tomar los micropozos necesarios para el número de muestras a trabajar y dejar tres pozos libres para los controles.
- e. Dispensar en cada pozo 25 ul de conjugado rojo. Se recomienda una pipeta multicanal.
- f. Agitar en vortex 15 segundos cada vial. Dispensar 200ul de muestra y control a cada pozo.
- g. Dispensar 50 ul de Anticuerpo Azul a cada pozo.
- h. Todos los pozos deben tomar un color gris después de este paso.
- i. Mover los pozos para asegurar que se mezcle bien y verificar si el color de la reacción es homogénea y tapar con folio adhesivo.
- j. Incubar a 37 °C por 60 minutos.
- k. Retirar el folio adhesivo y lavar 3 veces con 0.3 ml de solución de lavado.
- l. Agregar 200 ul de sustrato cromogénico TMB a cada pozo.
- m. Tapar con folio adhesivo y mover el marco de los pozos para mezclar, incubar en oscuridad por 20 minutos.
- n. Agregar 50 ul de solución de parada a cada pozo en el mismo orden que se agregó el TMB. Mover el marco del pozo para mezclar.
- ñ. Leer a 450 um.

E. Análisis de Resultados

a. Cálculo del tamaño de muestra:

Este cálculo se realizó con la siguiente fórmula, dando un total de 96 muestras:

$$n = \frac{pqz^2}{d^2} = 96$$

El tipo de muestreo fue a conveniencia no probabilístico y el estudio es de tipo transversal.

Para el análisis de resultados se realizó tasas de prevalencia y se efectuó la prueba de kappa para la concordancia de las técnicas.

E. Prueba Piloto

Se realizó con 10 pacientes con las que se probó la metodología planificada.

Esta prueba al igual que todo el trabajo experimental se realizó con la ayuda del Dr. Edwin Morales, Médico de la Clínica de Patología Cervical de APROFAM.

F. Tratamiento

En esta investigación el protocolo de trabajo que se adoptó fue: Doxicilina de 100 mg., 1 tableta cada 12 horas durante 7 días, tanto para la paciente como para su pareja o parejas sexuales.

La concordancia obtenida, por medio de la Prueba de Kappa, para las pruebas de Chlamydiazyme y Enzygnost, es de un acuerdo intermedio, a un intervalo de confianza (IC) del 95 por ciento. Para la prueba de Enzygnost, se obtuvo una sensibilidad del 71.43 por ciento y una especificidad del 98.88 por ciento. Para la prueba de Chlamydiazyme, se obtuvo una especificidad del 97.78 por ciento y una sensibilidad del 83.33 por ciento. La comparación de la técnica entre estos dos métodos se encuentra en el cuadro no. 5.

IX. DISCUSION DE RESULTADOS

La selección de pacientes fue bastante restringida en cuanto al número debido a los criterios de inclusión y exclusión utilizados en el presente estudio, ya que tenían que ser mujeres en edad reproductiva que presentaran algún grado de NIC o de Carcinoma Cervical.

La prevalencia obtenida para Chlamydia trachomatis en mujeres con neoplasia intraepitelial del cervix fue de un 7.29 por ciento, esta prevalencia es similar comparada con la prevalencia obtenida en otros estudios y grupos de mujeres estudiadas.

En algunos artículos revisados se sospechaba que Chlamydia trachomatis podía ser un cocarcinógeno para el desarrollo de NIC. Debido a la prevalencia obtenida en este estudio no se puede tomar de esta forma ya que esta prevalencia, como se mencionó anteriormente es similar a la de otras poblaciones y si fuera un agente cocarcinógeno su prevalencia debería de ser más alta que en estas poblaciones.

En este estudio se utilizaron cuatro métodos diagnósticos; el método del hisopo, frote coloreado con Giemsa y dos métodos inmunológicos, Chlamydiazyme y Enzygnost.

Para los métodos del hisopo y la coloración de Giemsa los resultados obtenidos fueron insatisfactorios.

La prueba del hisopo no fue contundente, ya que tanto en pacientes positivas como en pacientes negativas se presentaron todos los colores (amarillo, verde, rojo y blanco) y no posee un patrón de comportamiento que indique la presencia de infección por Chlamydia trachomatis. Esto se debió a que la mayoría de pacientes que se estudiaron tenían algún grado de inflamación, por lo que a la hora de tomar la muestra con el hisopo presentaban sangrado o algún tipo de flujo vaginal.

Para los frotos coloreados con Giemsa se determinó que es un método pobre para este tipo de muestras, debido a la gran variedad de artefactos que presentan las mismas y a la difícil localización de la células endocervicales que

son las células de interés, ya que Chlamydia es un parásito intracelular obligado. Al mismo tiempo la hemorragia que presentan este tipo de pacientes, la mayoría de las veces, provoca la obtención de frotis hemorrágicos, que impiden observar las inclusiones citoplasmáticas típicas de la infección por Chlamydia trachomatis.

La concordancia obtenida para los métodos de Chlamydiazime y Enzygnost es de un acuerdo intermedio, con un IC del 95 por ciento. Esto indica que cualquiera de los dos métodos se puede utilizar, obteniendo resultados confiables.

La diferencia entre estos dos métodos es básicamente el tiempo de reacción, que en Chlamydiazime es más largo (3.30 horas) que en Enzygnost (2.30 horas). Esta diferencia de tiempo es debida a la metodología. El primero toma más tiempo de incubación ya que utiliza perlas pre-tratadas mientras que el segundo es un método que utiliza pozos pre-tratados por lo que no necesita incubarse varias veces. Por las características restantes se puede decir que las dos pruebas son iguales ya que utilizan la misma enzima de reacción, el precio es similar y los dos métodos tienen como principio un ELISA. De estos dos métodos no se puede decir que uno es mejor que el otro. Para decidir cual de los dos puede utilizarse en el Laboratorio se deben de tomar en cuenta dos factores: la disponibilidad del reactivo en el mercado y si se tiene un lector de ELISA o un Quantum para las lecturas de las muestras.

Los dos métodos mencionados anteriormente son de mucha ayuda en los Laboratorios de diagnóstico en Guatemala, debido a que el método de referencia, que es el Cultivo Celular, no está disponible en nuestro país; esto se debe a que es un método muy delicado, utiliza equipo sofisticado y requiere de mucho tiempo para obtener el diagnóstico ya que tarda por los menos 48 horas.

X. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de Chlamydia trachomatis en mujeres con Neoplasia Intraepitelial del Cervix, que visitan la Clínica de Patología Cervical en APROFAM, es de un 7.29 por ciento.
2. La prevalencia obtenida en este estudio es muy similar a la obtenida en otras poblaciones de mujeres, lo que apoya que Chlamydia trachomatis no es un factor cocarcinógeno para la Neoplasia Intraepitelial del Cervix.
3. El método del hisopo no fue de utilidad diagnóstica para las pacientes seleccionadas en este estudio, aunque para otras poblaciones si puede ser de utilidad.
4. Los frotos coloreados con Giemsa no fueron de utilidad diagnóstica para este estudio, ya que son engorrosos y difíciles de observar por la gran variedad de artefactos que se encuentran en la muestra.
5. Los métodos inmunológicos utilizados en este estudio, Chlamydiazyme y Enzygnost, son de gran ayuda para el diagnóstico de Chlamydia trachomatis, por ser métodos rápidos y de una sensibilidad y especificidad aceptable.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

XI. RECOMENDACIONES

- 1. Se considera que es de suma importancia realizar un estudio epidemiológico de la prevalencia de Chlamydia trachomatis en todas las poblaciones de riesgo, para obtener la importancia real de esta infección en nuestro país.**
- 2. Es importante tomar medidas profilácticas urgentes y adecuadas para reducir las enfermedades de transmisión sexual, ya que este tipo de infecciones afecta a una gran parte de la población.**
- 3. Se recomienda dar información sencilla y práctica a la población para que se entere de la existencia de la infección por Chlamydia trachomatis y al mismo tiempo a los médicos darles información sobre los métodos diagnósticos existentes para esta bacteria.**

XII REFERENCIAS

1. Bolanos JC. Prevalencia de Chlamydia trachomatis en Mujeres con Cervicitis. Guatemala. Universidad Francisco Marroquín, (Tesis de Graduacion, Facultad de Medicina), 1990. 46 p.
2. Barner RC., Laboratory Diagnosis of Human Chlamydial Infections. Clin Microbiol Rev 1989;2:119-113.
3. Schachter J, Dawson CR., Human Chlamydial Infection. 2 ed. USA: Publishing Company Inc, 1978. 273p.
4. King K. et al., Sexually Transmitted Diseases. USA: copyright, 1984. 1079p.
5. Hossain A., Chlamydia trachomatis Infections. Int J Gynecol Obstet 1989;29:107-115.
6. Alger LS, Louchik JC., Comparative Efficacy of Clindamycin versus Erythromycin in eradication of antenatal Chlamydia trachomatis. Am J Obstet Gynecol 1991;165:375-381.
7. Jones Rb., et al, Recovery of Chlamydia trachomatis from the Endometrium of Women at Risk of Chlamydial Infection. Am J Obstet Gynecol 1986;35:122-125.
8. Linder LE., The Cytologic Features of Chlamydial Cervicitis. Acta Cytol 1985;29:382-384.
9. MacDonald AB., Antigens of Chlamydia trachomatis. Infect Dis 1985;7:731-735.
10. Jones DJ, Goorney BP., Sexually Transmitted Diseases and Anal Papillomas. BMJ 1992;305:820-823.
11. MacCormack WM. Diagnostic and Treatment of Sexually Transmitted Diseases. U.S.A.: Wright PSG, 1983. 260 p.
12. Youmans GP, Paterson PY, Sommers HM. The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases. U.S.A.: Saunders Company 1980. 847 p.
13. Näher H, Petzoldt D., Evaluation of an Indirect Peroxidase Antibody Test (IPAZYME) for the Detection of Specific IgA and IgG Antibodies to Chlamydia in Human Serum. Elsevier Biomed Press 1984;37:562-565.
14. Treharne JD, Forey T, Thomas B., Chlamydial Serology. B Med Bull 1983;39:194-200.

15. Wilkin SS, Toth M, Jeremias J, Ledger WJ., *Increased Inducibility of Inflammatory Mediators from Peripheral Blood Mononuclear Cells of Women With Salpingitis. Am J Obstet Gynecol* 1991;165:719-723.
16. Bellati Ja., *Inmunologia. 3ed. Folch A. Trad. México: Editorial Interamericana, 1986. 1-662p. (p.301-338).*
17. Jones Br, Taylor-Robinson D., *Observations on and Future Trends in Chlamydial Research. B Med Bull* 1983;39:201-203.
18. Mabey Dc, Ward ME, Bailey R., *Serum and Local Secretory Antibodies to Chlamydia trachomatis in a Community With Endemic Trachoma. Elsevier Biomed Press* 1982;39:149-153.
19. Smith Jr, et al., *Prevalence of Chlamydia trachomatis Infections in Women Having Cervical Smear Test. BJM* 1991; 302:82-84p.
20. Linder LE., *The Cytologic Features of Chlamydial Cervicitis. Acta Cytol.* 1985;29:676-681.
21. Paavonen J., *Colposcopy Manifestation of Cervical and Vaginal Infections. Obst and Gyne Survey* 1988;43:373-381.
22. Westrom L, Mardh PA., *Chlamydial Salpingitis. B Med Bull* 1983;39:145-150.
23. Scott GR, Thompson C, Smith IW, Young H., *Infection with Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Women With Lower Abdominal Pain Admitted to a Gynecology Unit. Br J Obstet Gynaecol* 1989;96:71-72.
24. Livengood CH, Hill GB, Addison WA., *Pelvic inflammatory disease: Findings during inpatient treatment of clinically severe, laparoscopy-documented disease. Am J Obstet Gynecol* 1992;166:519-524.
25. Hoegsberg B. et al., *Sexually trasmitted diseases and human nmunodeficiency virus infection among women with pelvic inflammatory disease. Am J Obstet Gynecol* 1990;163:1135-1139.
26. Frisch LE. et al., *Colposcopy of Patients with Cytologic Inflammatory Epithelial Changes. Acta Cytol* 1990;34:133-135.
27. Robbins SL, Vinay K.; *Patología Humana, Trad. Folch A., 4 ed., México: Editorial Interamericana, 1990. 798 p.*
28. Harnekar AB, Leiman C, Markowitz S., *Cytologically Detected Chlamydial Changes of Cervical Intraepithelial Neoplasias. Acta Citol* 1985;29:661-663.

29. Hadsfield HH. et al., *Criteria for Selective Screening for Chlamydia trachomatis infection in Women Attending Family Planning Clinics.* J Am Med Assoc 1986;255:592-594.
30. Kapur S, Mittal A., *Cytologic Detection of Chlamydial Inclusion in Cervical Smears: Papanicolaou Versus Giemsa Stain.* Acta Citol 1993;37:108-112.
31. Shafer MA. et al., *Chlamydia trachomatis: Important relationships to race, contraception, lower genital tract infection, and Papanicolaou smear.* J Pediatr 1984;104:141-146..
32. Geerling S. et al., *Sensitivity and Specificity of the Papanicolaou-Stained Cervical Smear in the Diagnosis of Chlamydia trachomatis Infection.* Acta Citol 1985;29:671-675.
33. Giampaolo C, Murphy J, Benes S, McCormack W., *How Sensitive is the Papanicolaou Smear in the Diagnosis of Infections with Chlamydia trachomatis?* Am J Clin Pathol 1983;80:844-849.
34. Cevenini R. et al., *Cytological and histopathological abnormalities of the cervix in genital Chlamydia trachomatis infections.* Br J Vener Dis 1981;57:334-337.
35. Bernal JN, Martínez MA, Dabancens A., *Evaluation of Proposed Cytomorphologic Criteria for the Diagnosis of Chlamydia trachomatis in Papanicolaou Smears.* Acta Citol 1989;33:309-313.
36. Dorman SA. et al., *Detection of Chlamydia trachomatis in Papanicolaou-Stained Cervical Smears by an Indirect Immunoperoxidase Method.* Acta Citol 1985;29:665-669.
37. Quinn TC. et al., *Screening for chlamydia trachomatis infection in an Inner-City Population: a Comparison of Diagnostic Methods.* J Infect Dis 1985;152:419-423.
38. Mannion PT, Mallinsons H, Treharne JD., *Serological diagnosis with Chlamydia Spot-IF test.* J med Microbiol 1991;35:24-248.
39. Uyeda CT. et al., *Rapid Diagnosis of Chlamydial Infections with the MicroTrak Direct Test.* J Clinical Microb 1984;20:948-950.
40. Stamm WE. et al., *Diagnosis of Chlamydia trachomatis infections by Direct Immunofluorescence Staining of Genital Secretions.* Annals of Internal Med 1984;101:638-641.

41. Hossain A., Rapid diagnosis of Chlamydia trachomatis infections by a monoclonal antibody direct immunofluorescence test. *J Trop. Medicine and Hygiene* 1987;90:307-310.
42. Lindner LE. et al. Identification of Chlamydia in Cervical Smears by Immunofluorescence: Technic, Sensitivity, and Specificity. *J Clin Pathol* 1986;85:180-185.
43. Kiviat NB. et al., Cytologic Manifestations of Cervical and Vaginal Infections. *JAMA* 1985;253:997-1000.
44. Henry R, Jensen L, Skoglund D, Armstrong W., Chlamydia trachomatis in Routine Cervical Smears. *Acta Cytol* 1993;37:343-351.
45. Levy NJ, Muñoz A, McCormack WM., Enzyme-linked immunosorbent for the detection of antibody to Chlamydia trachomatis and Chlamydia psittaci. *J Lab Clin Med* 1983;102:918-925.
46. Amortegui AJ, Meyer MP., Enzyme Immunoassay for Detection of Chlamydia trachomatis From the Cervix. *Obstet Gynecol* 1985;65:523-526.
47. Wingsor L., Two new test for Chlamydia get quick results without culture. *JAMA* 1983;250:2257-2259.
48. Campbell WF, Dodson MG., Clindamycin therapy for Chlamydia trachomatis in women. *Am J Obstet Gynecol* 1990;162:343-347.

UNIVERSIDAD DE LA UNIÓN
FACULTAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
Biblioteca Central

XIII. ANEXOS

FICHA CLINICA

Nombre: _____ Edad: _____ Ocupación: _____

1. Presencia, naturaleza y duración de los síntomas:

Dolor	Si	No	Duración _____
Descarga Endocervical	Si	No	Duración _____
Fiebre	Si	No	Duración _____
Diagnóstico de cervicitis mucopurulenta reciente	Si	No	Duración _____

2. Ha padecido de:

Gonorrea	Si	No
Sifilis	Si	No
Herpes	Si	No
Papiloma Virus	Si	No
Trichomonas	Si	No
Vaginosis Bacteriana	Si	No

Otras: _____

3. Algunas vez le han diagnosticado infecciones genitales causadas por Chlamydia trachomatis?4. Actualmente toma algun tipo de tratamiento? _____

5. Diagnóstico:

NIC: _____

Patológico: _____

6. Resultados de Laboratorio

Prueba del Hisopo: _____

Giemsa: _____

Chlamydiazyme: _____

Enzygnost-Chlamydia: _____

7. Observaciones: _____

CUADRO 1. INFECCION POR CHLAMYDIA

AGENTE	INFECCION	DIAGNOSTICO	CONFIRMACION
<i>C. psittaci</i>	Ornitosis	Fijación de complemento	Fijación de Complemento mayor a 1.32
TWAR	Respiratorio	Cultivo Celular	MIF
<i>C. trachomatis</i>	Oculogenital LGV Neumonía Infantil	Cultivo Celular Cultivo Celular ELISA	Detección de Antígeno Fijación de Complemento

Referencias No. 2, 4 y 5

**CUADRO No. 2: COMPARACION DE METODOS DE LABORATORIO PARA
DIAGNOSTICO DE Chlamydia trachomatis**

PROCEDIMIENTO	PORCENTAJES POSITIVOS *
Coloración de Giemsa	32
Inmunofluorescencia	86
Aislamiento en cultivo	86
Aislamiento en cultivo celular	90
Fijación del complemento	57
Microinmunofluorescencia	100

* Todos los pacientes tienen la infección comprobada.

Referencia No. 1, 4, 7.

CUADRO No. 3: PREVALENCIA DE Chamydia Trachomatis EN DIFERENTES POBLACIONES FEMENINAS DE GUATEMALA

POBLACION	POSITIVOS / No. MUESTRA	PORCENTAJE
<i>Embarazadas *</i>	16/300	5.33
<i>Planificación Familiar *</i>	21/300	7.00
<i>Cervicitis **</i>	34/256	13.30
<i>Adolescentes *</i>	21/300	7.00
<i>NIC +</i>	7/96	7.29

* APROFAM 1992

** Bolaños JC

+ Presente estudio

CUADRO No. 4: RESULTADOS DE PRUEBA DEL HISOPO

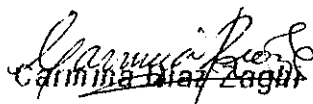
COLOR	No. PACIENTES POSITIVOS	No. PACIENTES NEGATIVOS	TOTAL
VERDE	0	1	1
AMARILLO	1	1	2
ROJO	2	18	20
BLANCO	4	69	73
TOTAL	7	89	96

**CUADRO No. 5: COMPARACION DE LAS TECNICAS DE
CHLAMYDIAZYME Y ENZYGNOST**

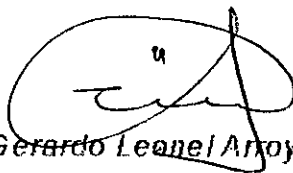
ASPECTOS	CHLAMYDIAZYME	ENZYGNOST
<i>Tiempo de reacción</i>	3:30 horas	2 horas
<i>Precio por prueba</i>	Q. 32.08	Q. 31.00
<i>Principio</i>	<i>ELISA (perlas pre-tratadas)</i>	<i>ELISA en microplaca pre-tratada</i>
<i>Enzima</i>	<i>Peroxidasa de rábanos amargos</i>	<i>Peroxidasa de rábanos amargos</i>
<i>Equipo necesario</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Vortex - Incubadora - Quick Wash - Pipetas automáticas de 50 y 100 ul - Espectrofotómetro 	<ul style="list-style-type: none"> - Vortex - Incubadora - Baño de María - Quick Wash -Pipetas automáticas de 25, 50 y 200 ul. -Lector de ELISA

TABLA NO. 6 : RESULTADOS DE CHLAMYDIAZYME VRS. ENZYGNOST

		ENZYGNOST		
		POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
CHLAMYDIAZYME	POSITIVO	5	2	7
	NEGATIVO	1	88	89
	TOTAL	6	90	96

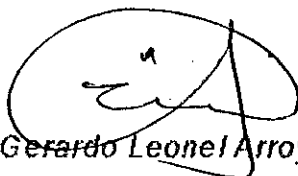

~~Carmina Diaz Zogbi~~

Estudiante



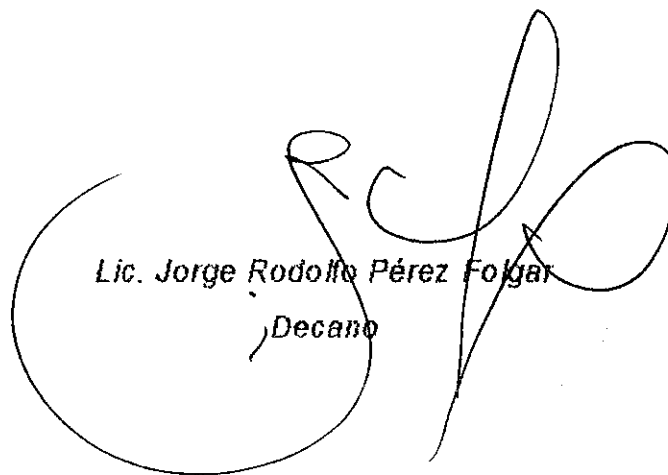
Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

Asesor



Lic. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

Director de Escuela



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar

Decano