



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

UNIDAD ACADÉMICA DE LOS CICLOS PROFESIONALES Y DE POSGRADO
DEL COLEGIO DE CIENCIAS Y HUMANIDADES

PREVALENCIA DE LAS INFECCIONES CERVICOVAGINALES
CAUSADAS POR *Chlamydia trachomatis* EN MUJERES DE LA
CIUDAD DE CUERNAVACA, MORELOS.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MAESTRO EN
BIOTECNOLOGIA
PRESENTA

IRMA GABRIELA ECHANIZ AVILES

CUERNAVACA, MOR.

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN

1992



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO

Pág.

I.	PRESENTACION.....	2
II.	INTRODUCCION.....	6
1.	El género <u>Chlamydia</u>	6
2.	Infecciones causadas por <u>C. trachomatis</u>	11
3.	Diagnóstico de las infecciones causadas por <u>C. trachomatis</u>	20
4.	Bibliografía.....	29
III.	Artículo: "Prevalencia de infección cervicovaginal por <u>C. trachomatis</u> en población femenina de la ciudad de Cuernavaca, Morelos".....	39
1.	Resumen.....	40
2.	Abstract.....	41
3.	Introducción.....	42
4.	Material y Métodos.....	44
5.	Resultados.....	49
6.	Discusión.....	53
7.	Bibliografía.....	57
	Carta de aceptación del artículo.....	61
IV.	Comentarios y perspectivas.....	62
1.	Bibliografía.....	67

I PRESENTACION

A partir de finales de la década de los 60's y principios de los 70's, cuando se desarrollaron los cultivos celulares para sostener el crecimiento de Chlamydia trachomatis in vivo, sobrevino una explosión de conocimientos referentes a infecciones genitales causadas por esta bacteria, su inmunidad y su genética.

Es así como el mundo de las clamidias, que inicialmente era dominio de investigación de oftalmólogos y en menor grado de veterinarios, se convirtió en campo de estudio de los investigadores de las enfermedades de transmisión sexual (ETS) y ahora representa un reto para médicos por un lado y para los investigadores básicos por el otro.

Hasta hace poco tiempo, en nuestro país carecíamos de información referente a la prevalencia de C. trachomatis, debido a la dificultad técnica y elevada inversión que representa su estudio; sin embargo, consideramos que la alta morbilidad y el costo que representan la infecciones causantes de patología genital en la mujer, justifican estudios como el que ahora se presenta.

Este trabajo representa, hasta donde sabemos, el primer esfuerzo realizado en nuestro país para aislar a C. trachomatis en cultivo de tejidos, empleando células McCoy tratadas con cicloheximida, método que actualmente se considera el estándar

con el cual se comparan todos los demás. Asimismo, nos revela la existencia de esta bacteria en mujeres en edad reproductiva, asintomática y de escasos recursos económicos, lo que nos exhorta a ampliar nuestros estudios a otras poblaciones con mayor riesgo de padecer infecciones por este microorganismo.

La investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas (CISEI), perteneciente al Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) en el departamento de Epidemiología Clínica, aprovechando la apertura que existe vía un convenio UNAM-INSP, mediante el cual los investigadores de este último se benefician de los programas de posgrado del Instituto de Biotecnología, integrando las ciencias básicas de la Biotecnología al área aplicativa de la Salud. Es así como con la asesoría de los Drs. Alejandro Alagón Cano y José Luis Puente García se llevó a cabo este trabajo, ejemplo de la ayuda mutua entre ambas instituciones.

Desde su reciente incorporación al estado de Morelos en 1989, el CISEI y las autoridades de salud del estado establecieron un programa de vigilancia epidemiológica para la detección temprana de cáncer cervicouterino y ETS en tres Centros de Salud de la ciudad de Cuernavaca, programa que ahora abarca 5 centros que son: Lagunilla, Ampliación Lagunilla, Benito Juárez, Ruíz Cortínez y Plan de Ayala, con una población total aproximada de 32,000 habitantes.

Como apoyo a este programa, contamos con dos consultorios ginecológicos, dos pediátricos y un laboratorio de transición

dentro del Hospital Regional de esta ciudad, donde un grupo de personal del CISEI integrado por pediatras, médicos generales, enfermeras, trabajadoras sociales y técnicos de laboratorio laboran diariamente prestando sus servicios a esta población. En estos consultorios es en donde, previa explicación del proyecto e invitación a participar en él, acuden la mujeres provenientes de esta comunidad. Aquí se realiza la historia clínica, toma de muestras, pruebas rápidas de laboratorio, entrega de resultados, tratamiento y seguimiento de cada paciente. Una vez obtenidas las muestras, se mantienen en refrigeración y en los medios más adecuados hasta que se transportan a la instalaciones del CISEI en donde son procesadas de acuerdo a las metodologías establecidas. Los resultados se transmiten a los médicos responsables, a la brevedad posible, con objeto de instaurar el tratamiento en caso necesario, completar el expediente de cada paciente y realizar su seguimiento.

Esta organización nos ha permitido tener acceso a sectores de la población con recursos limitados, los cuales obtienen los beneficios de una atención especializada y de la más alta calidad, al mismo tiempo que nos ayudan a generar conocimientos esenciales para el mejoramiento de la salud pública de nuestro país.

La presente tesis esta compuesta por varias partes. Primero se hace una revisión del género Chlamydia, describiendo brevemente su biología, morfología y replicación, enfatizando después las

infecciones causadas por C. trachomatis así como la metodología empleada para su diagnóstico. La parte medular del trabajo consta del artículo "PREVALENCIA DE INFECCION CERVICOVAGINAL POR C. trachomatis EN POBLACION FEMENINA DE LA CIUDAD DE CUERNAVACA, MORELOS", donde se describen en extenso los objetivos, metodología y resultados del trabajo. Asimismo, se anexa la carta de aceptación del artículo para su publicación. Por último, en la sección de comentarios y perspectivas, se resaltan puntos importantes del trabajo aquí presentado y se discuten otros no tratados en el artículo. Además, se hacen algunas reflexiones sobre el futuro de este amplio campo de investigación.

II INTRODUCCION

1. EL GENERO CHLAMYDIA

1.1 CLASIFICACION

Las clamidias son bacterias asignadas al orden de los Clamydiales, que se compone de una familia Chlamydiaceae, con un solo género, Chlamydia y tres especies, C. trachomatis, C. psittaci y recientemente, C. pneumoniae (1,2).

El género Chlamydia se encuentra definido por propiedades características entre las que destacan:

- 1) Su hábitat es intracelular obligado. Ningún miembro del género se ha observado que pueda sobrevivir fuera de las células aunque, por ahora, no se han realizado esfuerzos encaminados a alcanzar su multiplicación fuera de su huésped.
- 2) Al igual que muchos parásitos, las clamidias han desarrollado estructuras morfológicas distintas en sus etapas infecciosa y reproductiva (3). Los cuerpos elementales (CE) de las clamidias nunca se dividen. Su función es la de propagar la infección de una célula a otra del huésped, en donde se reorganizan formando cuerpos reticulares (CR) los cuales se dividen por fisión binaria en vacuolas intracitoplásmicas o inclusiones. Los CRs no infectan nuevas células, sino que se reorganizan en nuevas generaciones de CEs para completar

su ciclo de desarrollo.

- 3) La cubierta equivalente a la pared celular de la mayoría de las bacterias, tanto de los CEs como de los CRs, se asemeja a la pared de las bacterias Gram negativas, ya que consta de una membrana citoplásmica interna y otra externa (4), se desintegra con polimixina B y etilendiaminotetracetato (5, 6) y contiene una proteína de membrana externa que constituye la mitad del total de proteínas de la membrana (4). Sin embargo, a diferencia de las bacterias Gram negativas, la cubierta no contiene peptidoglicano y solo conserva algunas moléculas de este compuesto. Las clamidias tienen proteínas acarreadoras de penicilina, similares en localización, tamaño y afinidad por el antibiótico a las de las bacterias Gram negativas y su desarrollo se ve inhibido por la penicilina (7). Otro inhibidor de las clamidias es la D-cicloserina, que también afecta la síntesis de peptidoglicano, inhibiendo la formación de D- alanina a partir de L-alanina y la síntesis D-alanil-D alanina (8).
- 4) Todas la clamidias contienen un antígeno fijador de complemento liposoluble. Este antígeno específico de género es muy similar al lipopolisacárido (LPS) de las bacterias Gram negativas en su localización, su estructura química y su actividad biológica (9).
- 5) Las clamidias no contienen enzimas respiratorias excepto piridinoproteínas. Catabolizan el glutamato, glucosa y

piruvato sin producir energía útil (10). Sin embargo, los CRS de las clamidias introducen ATP y eliminan ADP fuera de su espacio intracelular, mediante un sistema de intercambio ATP-ADP, utilizando el ATP que produce la célula huésped para la síntesis de sus proteínas (11).

- 6) El genoma de las clamidias es de los más pequeños de todas las bacterias, con un peso molecular de aproximadamente 660×10^6 Da (12).

Las especies de C. trachomatis se dividen en 3 biovaras: el biovar tracoma que consiste de los serotipos A, B, Ba, C-K, el linfogranuloma venéreo (LGV) con los serotipos L1, L2 y L3 y el biovar causante de la neumonitis en el ratón (13).

Además del DNA cromosomal, la mayoría de las cepas de C. trachomatis contienen un plásmido (PM 4.4×10^6 Da) similar en todos sus serotipos (14). Su función aún se desconoce.

1.2 MORFOLOGIA Y REPLICACION

Las clamidias están compuestas de proteínas (35% w/v), lípidos (40-50%) y ácidos nucleicos. El CR metabólicamente activo contiene más RNA que el CE. La membrana externa de las bacterias contiene a la proteína de membrana externa (PME) con un peso molecular de 40×10^3 Da (4) la cual, junto con otras proteínas, mantiene la integridad del CE a través de puentes disulfuro.

La microscopía electrónica ha demostrado dos clases diferentes de proyecciones en la membrana externa de las clamidias. Las proyecciones hemisféricas se han detectado en los CEs. Los bastones en forma de pico sólo se observan en formas de desarrollo intermedio entre CE y CR (14).

El ciclo de crecimiento de las clamidias se inicia por la adherencia del CE a células susceptibles. Los serotipos de C. trachomatis A-K prefieren células epiteliales columnares, mientras que los del LGV y C. psittaci tienen un rango más amplio de células huésped.

El proceso de adherencia está influenciado por estructuras superficiales, tanto de las células huésped como del CE; sin embargo, no se han logrado identificar adhesinas clamidiales y sus correspondientes receptores celulares, aunque es indiscutible que debe de existir algún mecanismo de adhesión específico para las clamidias (16, 17). Este mecanismo podría ser sólo el efecto agregado de múltiples interacciones con ligandos débiles, que involucren varias moléculas.

Posteriormente a la adherencia, el CE penetra a la célula huésped, a través de una vesícula o fagosoma, mediante fagocitosis de partículas grandes, dependiente de la formación de microfilamentos, la cual también requiere de clatrina (18). La misma bacteria es posible que envíe señales a través de la superficie celular para estimular la endocitosis.

Una vez dentro de la célula, los CEs se reorganizan en CRs durante un periodo aproximado de 12 horas. Los CEs se dividen por fisión binaria dentro de las vesículas y comienza la síntesis de DNA, RNA, proteínas, lípidos y polisacáridos de las clamidias. Alrededor de 18-24 hrs después de la adherencia, los CRs inician su reorganización hacia CEs y, gradualmente, la relación CE/CR aumenta. Después de 24 hrs, ocurre la fusión fagolisosomal y la célula muere liberando a los CEs que se encuentran en posibilidad de infectar células nuevas. Figura 1 (3).

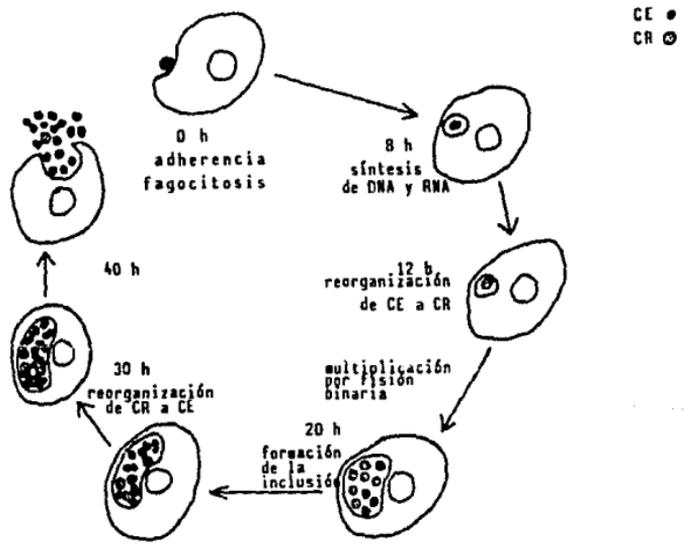


Figura 1. Ciclo de desarrollo del género Chlamydia.

2. INFECCIONES CAUSADAS POR C. trachomatis.

2.1 TRACOMA

Existen millones de personas afectadas por el tracoma en todo el mundo. Esta es una infección de la conjuntiva y la córnea, causada por los serotipos A, B, Ba y C de C. trachomatis. La enfermedad es uno de los grandes problemas de salud pública en el mundo, particularmente en áreas rurales del mundo subdesarrollado, en donde aproximadamente 2 millones de personas están ciegas y un número mucho mayor han perdido parcialmente la vista como resultado del tracoma (19).

La transmisión con material infectado se lleva a cabo en forma directa (ojo a ojo) o indirecta (manos, ropa, moscas). Los niños que habitan las zonas endémicas frecuentemente se infectan a muy temprana edad. El mejoramiento de las condiciones sanitarias y del nivel de vida han contribuido a la disminución o erradicación de la enfermedad en muchas áreas.

El tracoma es una queratoconjuntivitis crónica que generalmente afecta ambos ojos. Los primeros síntomas pueden pasar inadvertidos. Su período de incubación es de 1-3 semanas mientras que el proceso que conduce a la ceguera puede durar varias décadas.

Los pacientes pueden presentar irritación, descargas mucopurulentas o sensación de un cuerpo extraño. La

sintomatología clínica incluye enrojecimiento e inflamación de los párpados, edema, infiltración difusa y respuesta folicular de la conjuntiva, cicatrices y queratitis de la córnea.

Las inclusiones de C. trachomatis se pueden detectar en frotis obtenidos con una espátula de metal de la parte superior de la conjuntiva. El material obtenido se extiende en un portaobjetos, se fija y se tiñe con Giemsa o con anticuerpos monoclonales fluorescentes (20). El cultivo es más sensible que la microscopía para realizar el diagnóstico y se hace a partir del material obtenido mediante un hisopo de algodón de la conjuntiva.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda un programa de tratamientos con tetraciclina que ha mejorado la situación en muchos países (20). El tratamiento tópico se recomienda 2 veces al día, durante 5 días consecutivos, una vez al mes durante 6 meses.

También se han empleado la doxiciclina (en niños) y eritromicina con buenos resultados (21).

2.2 LINFOGRANULOMA VENEREO (LGV)

El linfogranuloma venereo es una enfermedad cuyo agente etiológico es C. trachomatis, serotipos L1, L2 y L3.

Siendo una enfermedad tropical, es endémica en África, India y

Asia, así como en algunas áreas de América del Sur y el Caribe. Se observa principalmente en personas de escasos recursos económicos: soldados, prostitutas y homosexuales (22).

Esta infección no sólo afecta los tejidos superficiales o mucosas, sino que se considera una enfermedad sistémica que puede afectar diversos órganos. En su etapa inicial produce una úlcera genital y linfadenopatía (bubos). Posteriormente, se puede observar daño a nivel de aparatos urogenital y gastrointestinal, que en algunas ocasiones conduce a linfoedema (elefantiasis), con daños irreparables al tejido.

El período de incubación varía desde unos días hasta varias semanas y las primeras etapas pueden pasar inadvertidas. Los ganglios linfáticos inguinales se inflaman y duelen. Después de 12-16 semanas, en la etapa secundaria, se presenta fiebre, escalofríos, dolor de cabeza, mialgias, artralgias y meningoencefalitis en algunos casos. El linfoedema puede aparecer de 1-10 años después de la etapa secundaria en los pacientes no tratados (22).

El diagnóstico se realiza mediante el aislamiento de la bacteria a partir de los ganglios linfáticos, uretra, cérvix o lesiones genitales. Se puede emplear la técnica de fijación del complemento (23), aunque su sensibilidad es limitada.

El tratamiento se efectúa a base de tetraciclina por lo menos durante 2 semanas, 500 mg por vía oral, 4 veces al día y siempre

se debe dar tratamiento profiláctico a la pareja sexual del paciente (21).

2.3 INFECCIONES GENITALES EN EL HOMBRE

En muchos países industrializados la uretritis no gonocócica (UNG) es la manifestación más común de enfermedad venérea en el hombre (24, 25). Mas del 50-60% de casos de UNG son causadas por C. trachomatis (24) y la mayoría (60-70%) de las parejas sexuales de los casos de UNG presentan cultivos genitales positivos para esta bacteria, lo que indica que la infección se transmite sexualmente.

El período de incubación de la UNG es de 1-3 semanas, mientras que el de la uretritis gonocócica es de 2-8 días. Ambos pacientes presentan disuria y descarga uretral. Clínicamente es imposible diferenciar las 2 infecciones y no es raro que se presenten al mismo tiempo.

El diagnóstico se realiza mediante el aislamiento de la clamidia en cultivo. También puede demostrarse en forma directa utilizando anticuerpos monoclonales fluorescentes. La serología no es útil ya que la infección es superficial y no genera respuesta humoral.

El tratamiento se realiza con tetraciclina o eritromicina durante 7-10 días. Las parejas de los pacientes deben examinarse y tratarse para evitar la reinfección y diseminación de casos (21).

Otras infecciones que causa C. trachomatis en el hombre son la epididimitis, prostatitis y proctitis con menor frecuencia que la UNG (26).

2.4 INFECCIONES GENITALES EN LA MUJER

El espectro de manifestaciones clínicas de C. trachomatis en la mujer se muestran en la tabla 1.

De todas la infecciones causadas por esta bacteria en la mujer, aproximadamente el 70% son asintomáticas. Por otra parte, la mayoría de éstas infecciones producen síntomas comunes que incluyen prurito vulvar, disuria, dispareunia, aumento o alteración de la descarga vaginal, dolor abdominal sangrado irregular, dolor lumbar, etc. Debido a que diversos patógenos de genitales, solos o combinados, pueden producir sintomatología similar, el diagnóstico etiológico no se puede realizar sin la ayuda del examen de laboratorio.

La prevalencia de C. trachomatis en mujeres no embarazadas, que asisten a clínicas de enfermedades de transmisión sexual (ETS), varía del 1 a más del 30% (27, 28). Handsfield et al (29) estudiaron aproximadamente 1000 mujeres que asistían a clínicas de planificación familiar y definieron criterios clínicos y demográficos para predecir la presencia de C. trachomatis. Además de que resultó más frecuente en mujeres jóvenes de 15 a 21 años, la historia de una nueva pareja sexual, la presencia de

exudado mucopurulento, sangrado cervical inducido al tomar la muestra y el empleo de anticonceptivos orales, resultaron variables independientes asociadas con infección genital por C. trachomatis.

Tabla 1

ENFERMEDADES Y SECUELAS EN LA MUJER
ASOCIADAS CON CHLAMYDIA

AGENTE	ENFERMEDAD	SECUELAS
<u>C. pneumoniae</u>	Faringitis, bronquitis, tos de larga duración, neumonía conjuntivitis	Complicaciones del miocardio ?
<u>C. psittaci</u>	Ornitosis / psitacosis, neumonía, artritis, endocarditis, perihepatitis, abortos	
<u>C. trachomatis</u> Serotipos A, B, Ba, C	Conjuntivitis, queratitis, tracoma	Deficiencias visuales, ceguera
Serotipos B, D-K	Vaginitis, cervicitis, endometritis, síndrome uretral agudo, perihepatitis, pericollitis, proctitis, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis, endometritis postparto, infección fetal, salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica	Infertilidad, dolor pélvico crónico, embarazos ectópicos, displasia celular, carcinoma del cérvix ?
Serotipos L ₁ -L ₃	Linfogranuloma venéreo, proctitis	

Las enfermedades más comunes en la mujer son el síndrome uretral agudo, la vaginitis, cervicitis mucopurulenta, endometritis y salpingitis. En algunos casos no tratados, y dependiendo del estado inmune de la paciente, pueden conducir a enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), la complicación más severa de las infecciones genitales causadas por *C. trachomatis* y un problema de salud pública importante. El término EIP se refiere a la presencia de endometritis, salpingitis o ambos. De todas las causas de infertilidad, la EIP es la más fácilmente prevenible. Cada año, en los Estados Unidos más de 1 millón de mujeres presenta por lo menos un episodio de EIP y 300,000 se hospitalizan por esta condición (30). Aproximadamente el 25% de ellas padece complicaciones a largo plazo, como son la infertilidad, embarazo ectópico o dolor pélvico crónico. Sin embargo, la prevalencia de estas enfermedades se desconoce en muchas comunidades, debido a la dificultad del diagnóstico. Este último se realiza mediante el cultivo del microorganismo y la visualización de los conductos tubarios mediante laparoscopia o laparotomía. El empleo de serología tiene un valor limitado, debido a que los anticuerpos son muy comunes en este grupo de mujeres. La IgG anticlamidia presenta generalmente títulos estacionarios y se detecta IgM solo en algunos casos.

El tratamiento se realiza empleando tetraciclina, eritromicina o doxiciclina. En el caso de la EIP, se considera que pueden estar involucrados varios microorganismos, por lo que se utilizan antibióticos de amplio espectro con evaluaciones a largo plazo (21).

Otras enfermedades menos comunes, en las cuales C. trachomatis desempeña un papel importante, son la periapendicitis (31), peritonitis (32) y perihepatitis (33).

En la etapa perinatal, C. trachomatis se asocia con ruptura prematura de membranas (RPM). Se ha demostrado que puede infectar cultivos primarios de células amnióticas humanas (34), por lo que es capaz de infectar las membranas amnióticas, produciendo inflamación, liberación de precursores de prostaglandinas y RPM (35). También se ha asociado con endometritis postparto (36) y embarazos ectópicos (37).

2.5 INFECCIONES EN EL RECIEN NACIDO

Los niños que nacen de madres infectadas con C. trachomatis tienen un riesgo del 30-50% de adquirir la infección durante su paso a través del canal del parto (38).

La conjuntivitis es el marcador que se observa primero en un recién nacido infectado. Aparece generalmente entre el 5° y 14° día de vida, varios días después que la oftalmía gonocócica y frecuentemente después de que la madre y su hijo salieron del hospital. Los síntomas de la conjuntivitis neonatal varían en severidad. Frecuentemente se presentan casos subclínicos. Los pacientes sintomáticos se caracterizan por inflamación de los párpados, conjuntiva eritematosa y descarga mucopurulenta. La infección es casi siempre bilateral.

El cultivo es el método más sensible para el diagnóstico de la infección. Los raspados de la conjuntiva también pueden utilizarse para realizar tinciones directas con Giemsa o anticuerpos monoclonales fluorescentes cuando no se cuenta con el cultivo.

Se recomienda como método profiláctico el empleo de unguento de tetraciclina, para la prevención de la oftalmía neonatal. El tratamiento se realiza con eritromicina, 25 mg/kg dos veces al día, durante dos semanas (21).

La mayoría de los recién nacidos que padecen conjuntivitis, causada por C. trachomatis, se colonizan a nivel nasofaríngeo con la bacteria, de donde se extiende al aparato respiratorio bajo causando neumonía (39). En Estados Unidos, C. trachomatis es causante del 15-73% de las neumonías afebriles en etapas tempranas de la infancia (38, 40). La neumonía comienza generalmente entre las 2-12 semanas de vida y se caracteriza por una tos leve, taquipnea y rinitis. Puede existir cianosis, vómito y bajo peso (38).

El diagnóstico de la neumonía se realiza analizando la historia clínica para detectar conjuntivitis previa, con ayuda de radiografías y mediante el aislamiento de la bacteria a partir de secreción respiratoria o biopsias (41).

El tratamiento se efectúa con eritromicina para evitar secuelas como obstrucción respiratoria en etapas posteriores (21).

3. DIAGNOSTICO DE LAS INFECCIONES CAUSADAS POR C. trachomatis

La detección de las infecciones causadas por C. trachomatis es un reto tanto para el clínico como para el personal de laboratorio. Actualmente, el conocimiento del espectro clínico de las infecciones causadas por esta bacteria y su epidemiología, se han visto limitados por la falta de sensibilidad y disponibilidad de los métodos de diagnóstico.

Independientemente del método de laboratorio que se emplee para la detección de C. trachomatis, es necesario estar concientes de manejar las muestras clinicas con extrema precaución, debido al riesgo potencial que tiene el personal de infectarse con este y otros microorganismos presentes en las muestras, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el Herpes simplex.

3.1 AISLAMIENTO DE C. trachomatis

a) Colección de la muestra

La muestra más frecuente para el aislamiento de C. trachomatis es el hisopo genital, el cual se recomienda que sea de dacrón, rayón o algodón y que se pruebe primero para detectar cualquier efecto inhibitorio sobre las células de C. trachomatis (42).

La toma debe realizarse con ayuda de un espejo vaginal (sin lubricantes) a través del cual se introduce el hisopo y se

rota firmemente en las paredes del endocervix de manera que se obtengan el mayor número de células posible. Se recomienda eliminar previamente la secreción ectocervical para disminuir la contaminación y toxicidad del cultivo.

Todas las muestras deberán procesarse dentro de las 24 hrs posteriores a su colección, período durante el cual deben permanecer a 4°C. Si esto no es posible, las muestras deben congelarse a -70°C con pérdidas hasta del 20% cuando se congelan (43).

b) Medios de transporte

El medio de transporte más comúnmente empleado es el que contiene 2-sacarosa fosfato adicionado con 2-10% de suero fetal bovino, en los cual se preservan las clamidias cuando se congelan a -70°C (44). Se deben adicionar agentes antimicrobianos, a los cuales C. trachomatis es resistente, para inhibir el sobrecrecimiento de otras bacterias y hongos. La vancomicina (10 ug/ml) y gentamicina (10 ug/ml) se emplean como agentes antimicrobianos. La nistatina (25-50 U/ml) o la anfotericina B (2.5-40 ug/ml) se pueden añadir para controlar a los hongos.

c) Cultivo de C. trachomatis

Posteriormente al empleo del huevo embrionado para el cultivo de clamidias, diversas líneas celulares se han utilizado para

el aislamiento de estas bacterias. Entre ellas se encuentran clonas de HeLa-229, McCoy, BHK-21 y células de riñón de mono verde de Buffalo (45, 46). Muchos avances han surgido desde que Gordon y Quan aislaron por primera vez a C. trachomatis en células de mamífero irradiadas (47). Por ejemplo, el descubrimiento de que la centrifugación de la muestra, una vez colocada sobre la monocapa celular, aumenta la posibilidad de aislamiento en forma importante y la adición de inhibidores químicos del metabolismo de la célula eucariote, como la cicloheximida (48), mejora la sensibilidad del método.

La línea celular con la que se obtienen mejores resultados es la McCoy que está derivada de fibroblastos de ratón. Esta se crece dentro de viales de fondo plano o placas estériles de 24 pozos, sobre cubreobjetos redondos, de tal forma que a las 24 horas de incubación se obtenga una monocapa casi confluyente. En la muestra clínica, los CEs de C. trachomatis son liberados fuera de las células, mediante sonicación o agitación vigorosa previa a la inoculación en la monocapa celular. Se recomienda inocular de 0.2 a 0.3 ml de la muestra en cada pozo. Posteriormente las placas o viales inoculados se centrifugan a 3,000 x g a 35°C durante 1 hora (49).

Seguido de la centrifugación, la muestra se elimina de la superficie de la monocapa para evitar toxicidad y se añade medio de cultivo, el cual contiene de 0.5 a 1.5 ug/ml de cicloheximida. Se incuba a 37°C, con 5% de CO₂ durante 72 hrs y, pasado este período, se fija la muestra con metanol

y se tiñe el cubreobjetos con la monocapa celular utilizando varios métodos. El más sensible es el que emplea anticuerpos monoclonales fluorescentes, aunque también se puede emplear la tinción de Giemsa o la de yodo, la cual tiñe los cúmulos de gluocógeno que se generan dentro de las inclusiones de C. trachomatis (50). En la figura 2 observamos inclusiones y cuerpos elementales de C. trachomatis, obtenidas a partir de un cultivo en células McCoy tomadas con ayuda de un microscopio Leitz de fluorescencia a 63X aumentos.

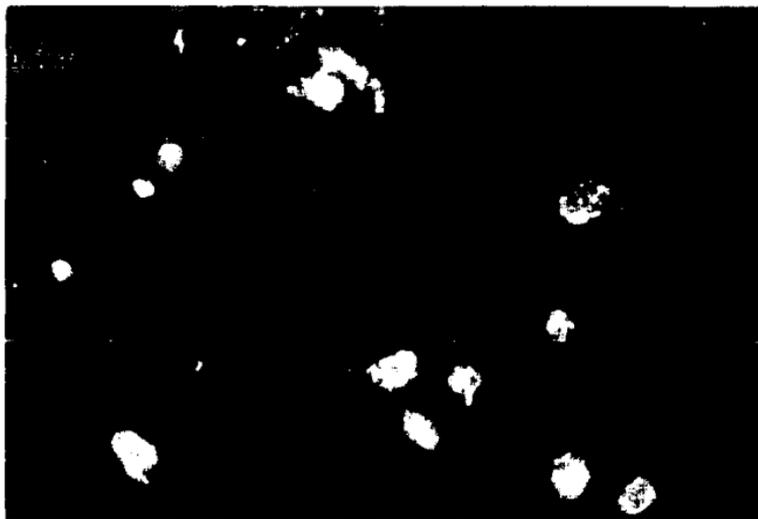


FIGURE 2. *M. H. 1000* photomicrograph of *S. tridactylus* showing the structure of the anterior part of the body. (S.W., micrograph). (S.W., micrograph).

3.2 DETECCION DE ANTIGENOS DE C. trachomatis

Los métodos para la detección inmunoquímica de antígenos de C. trachomatis se han desarrollado recientemente, basados en la visualización directa de los organismos, empleando anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína o en la detección inmunoquímica de compuestos solubles de la clamidia.

a) Inmunofluorescencia directa (IF). La detección de C. trachomatis en muestras clínicas se revolucionó gracias al desarrollo de anticuerpos monoclonales, ya que cuando se marcan con isotiocianato de fluoresceína, éstos anticuerpos permiten la detección de CEs en frotis endocervicales, uretrales, rectales o conjuntivales, así como en exudados respiratorios y nasofaríngeos. La prueba es rápida, no requiere de medios de transporte y es ideal cuando no se cuenta con un laboratorio (aunque se requiere de un microscopio de fluorescencia). En general, los anticuerpos monoclonales específicos de especie, dirigidos en contra de un epítipo de la PME, son mejores que los dirigidos en contra del LPS. La sensibilidad de la prueba se reporta desde 70 hasta el 100% (52, 53), dependiendo del valor de corte que se emplee y la muestra clínica. El examen microscópico es laborioso y debe realizarse por personal experimentado para evitar resultados falsos.

b) Ensayos inmunoenzimáticos (EIA). El número de pruebas basadas en EIA para la detección de C. trachomatis ha ido

umentando. El más utilizado es el llamado Chlamydiazyme, el cual utiliza perlas de plástico para adsorber el LPS clamidial, extraído de la muestra clínica con ayuda de una solución detergente (52). Después de que la perla se lava, se añade suero polivalente producido en ratones, purificado en contra del LPS clamidial. La inmunoglobulina anticonejo conjugada con peroxidasa se utiliza para generar color, que se detecta con un fotómetro. Esta prueba tiene una sensibilidad del 89% y un valor predictivo positivo de 80% (54).

- c) Sondas de ácidos nucleicos. El desarrollo de sondas utilizando ácidos nucleicos se ha visto obstaculizado por la escasez de RNA ribosomal de los CEs y por el número tan pequeño de organismos en las muestras clínicas. Sin embargo, estudios recientes utilizando el plásmido críptico de C. trachomatis como sonda, indican que se podría superar la sensibilidad con respecto al cultivo (55).
- d) Detección por citología. La examinación citopatológica ha desempeñado un papel muy importante en la detección de C. trachomatis desde hace varios años. La detección de los cuerpos de inclusión distintivos de las clamidias, en frotis conjuntivales teñidos con Giemsa, fue el primer indicio de infección por esta bacteria (56). La prueba del Papanicolaou también se ha empleado para la observación de clamidias, aunque estas técnicas son poco sensibles comparadas con el cultivo o con otros métodos directos (57, 58).

e) Métodos serológicos. Debido a que las ETS y las enfermedades respiratorias causadas por C. trachomatis son frecuentes y los anticuerpos se mantienen aún después de la resolución de la infección, la utilidad de los métodos serológicos es limitada y ninguna prueba disponible comercialmente nos proporciona alguna evidencia contundente de infección actual por C. trachomatis (59).

3.3 SELECCION DEL METODO

Las pruebas de laboratorio para la identificación de C. trachomatis son caras y técnicamente demandantes. Sin embargo, la elevada frecuencia de infecciones causadas por ésta bacteria requiere de tecnologías accesibles a la mayoría de los laboratorios.

Por ahora, los métodos que no emplean el cultivo no han sido evaluados adecuadamente en poblaciones de baja prevalencia. Desafortunadamente, los estudios de evaluación de esas pruebas en tipo de población invariablemente producen valores predictivos altos de pruebas negativas, pudiendo aparecer atractivos si no se analizan adecuadamente. Esto sucede debido a que el resultado de un prueba positiva es poco probable, por el solo hecho de que la prevalencia de la enfermedad es baja en esa población. Un valor predictivo alto de una prueba negativa no es suficiente para validar la prueba con propósitos de escrutinio (59).

A nivel de clínicas y hospitales, se deben tomar en cuenta factores como la edad, nuevas parejas sexuales, métodos anticonceptivos, exudado endocervical, sangrado a la toma de muestra, número de leucocitos, etc. para precedir cuales son las pacientes en los que se debe realizar un diagnóstico específico para buscar C. trachomatis.

La selección del método para la identificación de esta bacteria debe realizarse con la convicción de que ningún método es perfecto y tomando en consideración factores de laboratorio como son número de pruebas realizadas, tipo de población, problemas asociados con el transporte de las muestras, control de calidad en el laboratorio, recursos económicos y humanos. El método de aislamiento en cultivo ofrece absoluta especificidad, caracterización de cepas y aplicabilidad a todos los sitios anatómicos. Sin embargo, no es perfecto y su sensibilidad puede alcanzar sólo hasta el 80%

(53).

Mientras se desarrollan nuevas tecnologías para el diagnóstico de estas infecciones, el CDC (60) ha recomendado el tratamiento empírico en personas de alto riesgo de adquirir ETS, basados en estudios epidemiológicos y clínicos como medida de reducción de costos, complicaciones y diseminación de la enfermedad.

5 BIBLIOGRAFIA

1. Moulder JW, Hatch TP, Kuo CC, Schachter J and Storz J. Genus I. Chlamydia Jones, Rake and Stearns En: N.R. Krieg and J G Holt (ed). Bergey's manual of systematic bacteriology. 1984; Vol. 1. The Williams & Wilkins Co. Baltimore. p. 729-739.
2. Grayston JT, Kuo CC, Campbell LA, Wang SP: Chlamydia pneumoniae sp. nov. for Chlamydia sp. strain TWAR. Int J Sist Bacteriol 1989; 39: 88-90.
3. Word ME: The Chlamydial developmental cycle. En: The Microbiology of Chlamydia. Baron A (Ed), CRC Press, Boca ratón, Florida, USA, pp 71-97.
4. Caldwell HD, Kromhout J, Schachter J. Purification and partial characterization of the MOMP of Chlamydia trachomatis. Infect Immun. 1981; 31: 1161-1176.
5. Matsumoto A, Higashi N, Tamura A: Electron microscopic observations on the effects of polymixin B on cell walls of Chlamydia psittaci. J Bacteriol 1973; 104: 357-360.
6. Narita T, Wyrick PB, Manire GP: Effect of alkali on the structure of cell envelopes of Chlamydia psittaci elementary bodies J Bacteriol 1976; 125: 300-303.

7. Barbour AG, Amato KI, Hackstadt T, Perry L, Caldwell HD: Chlamydia trachomatis has penicillin-binding proteins but not detectable muramic acid. J Bacteriol 1982; 151: 420-424.

8. Moulder JW, Novasel DL, Officer JE: Inhibition of the growth of agents of the psittacosis group by D-cycloserine and its specific reversal by D-alanine. J Bacteriol 1963; 85: 707-711.

9. Hilton AA, Richmond SJ, Milne JD, Hindley F, Clarke SKR. Chlamydia A in the female genital tract. Br J Vener Dis. 1974; 50: 1-10.

10. Moulder JW: Glucose metabolism of L cells before and after infection with Chlamydia psittaci. J Bacteriol 1970; 104: 1189-1193.

11. Hatch TP, Al-Hossainy E, Silverman JA: Adenine nucleotide and lysine transport in Chlamydia psittaci. J Bacteriol 1982; 150: 662-665.

12. Becker Y. The chlamydiae: molecular biology of procaryotic obligate parasites of eucaryotes. Microbiol Rev. 1978; 42: 274-306.

13. Wang SP, Grayston JT. Human serology in Chlamydia trachomatis infections with micro-immunofluorescence. J

14. Peterson EM, de la Maza LM: Restriction endonuclease analysis of DNA from Chlamydia trachomatis biovars. J Clin Microbiol 1988; 26: 625-629.
15. Nichols BA, Setzer PY, Pang F, Dawson CR. New view of the surface projections of Chlamydia trachomatis. J. Bacteriol. 1985; 164: 344-349.
16. Hatch TP, Vance DW, Jr, Al-Hossainy E. Identification of major envelope protein in Chlamydia spp. J Bacteriol. 1981; 146: 426-429.
17. Vretou E, Goswami PC, Bose SK: Adherence of multiple serovars of Chlamydia trachomatis to a common receptor on Hela and McCoy cells is mediated by thermolabile proteins. J Gen Microbiol 1989; 135: 3299-3312.
18. Aggeler J, Werb Z: Initial events during phagocytosis by macrophages viewed from outside and inside the cell: membrane particle interactions and clathrin. J Cell Biol. 1992; 94: 613-623.
19. Schachter J. Chlamydial infections. N Engl J Med. 1978; 298: 428-435, 490-495, 540-549.
20. WHO Symposium. Guide to the laboratory diagnosis of trachoma. World Health Organization, Geneva. 1975.

21. MMWR. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. 1989; 38: 27-33.
22. Schachter J. Osoba AO: Lymphogranuloma venereum. Br Med Bull. 1983; 39: 151-156.
23. Schachter J: Chlamydial (Psittacosis-Lymphogranuloma Venereum - Trachoma Group). En: Manual of Clinical Mycobiology, 4rd ed., Lennette Et. Ed. American Society for Mycobiology, Washington, D.C. 1985. p 856-863.
24. Bowie WP, Wang SP, Alexander ER, Floyd P. Forsyth, Pollock H, Tin JS, Buchanan TM and Holmes KK. Etiology of nongococcal urethritis: evidence for Chlamydia trachomatis and Ureaplasma urealyticum. J Clin Invest 1977; 59: 735-742.
25. Stamm WE, Koutsky LA, Benedetti JK, Jorden JL, Brunham RC and Holmes KK. Chlamydia trachomatis urethral infections in men. Prevalence, risk factors, and clinical manifestarions. Ann Intern Med. 1984; 100: 47-51.
26. Berger RE, Alexander ER, Monda GD, Ansell G, McCormick and Holmes KK. Chlamydia trachomatis as a cause of "idiopathic" epididymitis. N Engl J Med. 1978; 298: 301-304.
27. Stamm WE, Holmes KK. Chlamydia trachomatis infections of the adult. En: Sexually Transmitted Diseases. Holmes KK,

- Mardh Pa, Sparling PF, Wiesner PJ, eds. New York: McGraw-Hill. 1984; pp 258-269.
28. Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE, Kiviat N, Kuo CC, Critchlow CW, Holmes KK. Mucopurulent cervicitis - the ignored counterpart in women of urethritis in men. *N Eng J Med*. 1984; 311: 1-6.
29. Handfield HH, Jasman LL, Roberts PL, Handson VW, Kothenbeutel RL, Stamm WE. Criteria for selective screening for Chlamydia trachomatis infection in women attending family planning clinics. *J Am Med Assoc*. 1986; 255: 1730-1734.
30. Westrom L, Mardh PA. Chlamydial salpingitis. *Br Med Bull*. 1983; 39: 138-144.
31. Mardh PA, Wolner-Hanssen P. Periappendicitis and chlamydial salpingitis. *Surg Gynecol Obstet*. 1985; 160: 304-306.
32. Muller-schoop JW, Wang SP, Munzinger J, Schlapfer HU, Knoblauch M, Amman RW. Chlamydia trachomatis as possible cause of peritonitis and perihepatitis in young women. *Br Med J*. 1978; I:1022-1024.
33. Wolner-Hanssen P, Westrom L, Mardh PA. Perihepatitis and chlamydial salpingitis. *Lancet*. 1980; i: 901-904.
34. Gravett MG, Nelson HP, DeRouen T, Critchlow C, Eschenbach

- DA, Holmes KK. Independent associations of bacterial vaginosis and Chlamydia trachomatis infection with adverse pregnancy outcome. J Am Med Assoc. 1986; 256: 1899-1903.
35. Minkoff H, Grunebaum AN, Schwarz RH, Feldman J, Cummings M, Crobleholme W, Clark L, Pringle G, McCormack WM. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: A prospective study of the vaginal flora in pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1984; 150: 965-972.
36. Barbucci MB, Spence MR, Kappus EW, Burkman RC, Rao L, Quinn TC. Postabortal endometritis and isolation of Chlamydia trachomatis. Obstet Gynecol. 1986; 68: 686-690.
37. Brunham RC, Binns B, McDowell, Paraskevas M. Chlamydia trachomatis infection in women with ectopic pregnancy. Obstet Gynecol. 1986; 67: 722-726.
38. Hammerschlag MR, Roblin PM, Cummings C, Williams TH, Worku M and Howard LV. Comparison of enzyme immunoassay and culture for diagnosis of chlamydial conjunctivitis and respiratory infections in infants. J Clin Microbiol. 1987; 25: 2306-2308.
39. Attenburrow AA, Baker CM. Chlamydial pneumonia in the low birth weight neonate. Arch Dis Child. 1985; 63: 1327-1356.
40. Retting PJ. Infections due to Chlamydia trachomatis from infancy to adolescence. Pediatr Infections Dis. 1986; 5:

41. Schachter J, Grossman M, Sweet RL, Holt J, Bishop E. Prospective study of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis. J Am Med Assoc. 1986; 27: 3347-3377.
42. Mahony JB and Chernesky MA. Effect of swab type and storage temperature on the isolation of Chlamydia trachomatis from clinical specimens. J Clin Microbiol. 1985; 22: 865-865.
43. Reeve, P, Owen J, and Oriel JD. Laboratory procedures for the isolation of Chlamydia trachomatis from the human genital tract. J Clin Pathol. 1975; 28: 910-914.
44. Kuo CC, Grayston JT. Factors affecting viability and growth in HeLa cells of Chlamydia sp. strain TWAR. J Clin Microbiol. 1988; 28: 812-815.
45. Wills PJ, Johnson L, Thompson RG. Isolation of Chlamydia using McCoy cells and Buffalo green monkey cells. J Clin Pathol. 1984; 37: 120-121.
46. Evans RT, Taylor-Robinson D. Comparison of various McCoy cell treatment procedures used for detection of C. trachomatis. J Clin Microbiol. 1979; 10: 198-201.
47. Gordon FB and Quan AL. Isolation of the trachoma agent in cell culture. Proc Soc Exp Biol Med. 1965; 118: 354-359.

48. Ripa KT and Mardh PA. Cultivation of Chlamydia trachomatis in cycloheximide-treated McCoy cells. J Clin Microbiol. 1977; 6: 328-331.
49. Mallinson H, Sikotra S and Arya OP. Cultural method for large-scale screening for Chlamydia trachomatis genital infection. J Clin Pathol. 1981; 24: 731-735.
50. Johnson JE and Smith TF. Comparison of Chlamydia subgroup A detection from clinical specimens after 40 and 64 hours of incubation in 5-iododeoxyuridine-treated McCoy cells. J Clin Microbiol. 1976; 3: 334-338.
51. Cles LD, Bruch K and Stamm WE. Staining characteristic of six commercially available monoclonal immunofluorescence reagents for direct diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. J Clin Microbiol. 1988; 26: 1735-1737.
52. Chernesky MA, Mahony JB, Castriciano S, Mores M, Stewart IO, Landis SJ, Seidelman W, Sargeant EJ and Leman C. Detection of Chlamydia trachomatis antigens by enzyme immunoassay and immunofluorescence in genital specimens from symptomatic and asymptomatic men and women. J Infect Dis. 1986; 169: 3757-3763.
53. Lefebvre J, Laperiere H, Rousseau H and Masse R. Comparison of three techniques for detection of Chlamydia trachomatis

in endocervical specimens from asymptomatic women. J Clin Microbiol. 1988; 26: 726-731.

54. Amortegui AJ and Meyer MP. Enzyme immunoassay for detection of Chlamydia trachomatis from the cervix. Obstet Gynecol. 1985; 40: 25-32.

55. Horn JE, Kappus EW, Falkow S and Quinn TC. Diagnosis of Chlamydia trachomatis in biopsied tissue specimens using in situ DNA hybridization. J Infect Dis. 1988; 157: 1249-1253.

56. Halberstadter L and Prowazed S von. Uber Chlamydozoenbefunde bei Blenorrhoea neonatorum non gonorrhoeica. Berl Klin Wochenschr. 1909; 46: 1839.

57. Sánchez MRM, Echániz AG, Olvera SJ, Hernández NP, Calderón JE: Detección de la infección endocervical por clamidia comparando la tinción de Papanicolaou con la inmunofluorescencia directa. Gín Obstet Mex. 1989; 57: 29-36.

58. Gupta PK, Lee Ef, Erozan Ys, Frost JK, Geddes ST, Donovan Pa. Cytologic investigations in Chlamydia infection. Acta Cytol. 1979; 23: 315-320.

59. Barnes RC.: Laboratory diagnosis of human Chlamydial infections. Clin Microbiol Rev. 1989; 2: 119-136.

60. Centers for Disease Control. Chlamydia trachomatis
infections: policy guidelines for prevention and control.
Morbidity and Mortality Weekly Report. 1985; 34: (suppl). 53-73.

PREVALENCIA DE INFECCION CERVICOVAGINAL POR C. trachomatis EN POBLACION FEMENINA DE LA CIUDAD DE CUERNAVACA, MORELOS.

QFB. Gabriela Echániz Avilés
Jefe del Departamento de Epidemiología Clínica y Diagnóstico.
Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP.

Dr. Ernesto Calderón Jaimes
Director del Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP.

Biol. Noemí Carnalla Barajas
Departamento de Epidemiología Clínica y Diagnóstico,
Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP.

Biol. Araceli Soto Noguérón
Departamento de Epidemiología Clínica y Diagnóstico
Centro de Instigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP.

Dr. Aurelio Cruz Valdez
Departamento de Epidemiología Clínica y Diagnóstico
Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP.

Dr. Rodolfo Gatica Marquina
Jefe del Departamento de Epidemiología de Campo
Centro de Investigaciones sobre Enfermedades Infecciosas, INSP

Solicitud de sobretiros: QFB. Gabriela Echániz Avilés, Apartado Postal 222-Centro. C.P. 62000, Cuernavaca, Morelos. México.

RESUMEN.

Las clamidias son un grupo de bacterias, genéticamente diverso, que presentan un ciclo de desarrollo intracelular único. El espectro de las manifestaciones clínicas de las infecciones causadas por Chlamydia trachomatis en la mujer, incluye cervicitis, síndrome uretral agudo, enfermedad inflamatoria pélvica, salpingitis y el riesgo de exposición del recién nacido al pasar a través de un canal infectado y desarrollar conjuntivitis de inclusión y/o neumonía.

Con objeto de conocer la prevalencia de las infecciones cervicovaginales causadas por C. trachomatis en población femenina de la ciudad de Cuernavaca, Morelos, se estudiaron 2,407 mujeres sexualmente activas, en edad reproductiva y aparentemente sanas, en tres colonias suburbanas de la misma ciudad. A cada mujer se le tomó una muestra cervical la cual se cultivó en células McCoy. La identificación de la bacteria se realizó utilizando anticuerpos monoclonales fluorescentes (Microtrak, Syva. Palo Alto, California). En 97/2407, se aisló C. trachomatis con una prevalencia de 4.02%. La gran mayoría de las mujeres no tenían una signología lo suficientemente aparente como para solicitar consulta médica, la leucorrea fue la manifestación clínica más frecuente en 47 de las pacientes infectadas.

Palabra clave: Chlamydia trachomatis, infección cervicovaginal.

ABSTRACT.

The chlamydiae are a genetically diverse group of bacteria with a unique intracellular development cycle. The spectrum of clinical manifestations of Chlamydia trachomatis infections in the female includes cervicitis, acute urethral syndrome, pelvic inflammatory disease, salpingitis and the risk of exposure of infants born through an infected birth canal that may develop inclusion conjunctivitis and/or pneumonia.

In order to know the prevalence of cervicovaginal infections caused by C. trachomatis in a female population in Cuernavaca, Morelos, we studied 2,407 sexually active women from a suburban area. Genital specimens were collected from each woman and cultured by using McCoy cell monolayers. Detection of the bacteria was done by staining with fluorescein-conjugated monoclonal antibodies (Syva Microtrak, Palo Alto CA). We found 97/2,407 women culture-positive for C. trachomatis with an overall prevalence of 4.02%. The most important clinical symptom observed in 47 infected women was the increased or altered vaginal discharge.

Key words: Chlamydia trachomatis, cervicovaginal infection.

INTRODUCCION

Los organismos pertenecientes al género Chlamydia son bacterias intracelulares obligadas (1). De las tres especies del género, C. trachomatis, C. psittaci y C. pneumoniae, C. trachomatis se encuentra con mayor prevalencia en diversos países. Es el agente causal más importante de enfermedades de transmisión sexual (ETS) en sociedades industrializadas (2,3) y en países en desarrollo es una causa frecuente de ceguera además de ETS (4).

En la mujer en etapa reproductiva, la infección endocervical por C. trachomatis representa un problema de salud pública. C. trachomatis infecta el endocérvix de la mujer y puede ser una causa de cervicitis mucopurulenta (5). La infección se expande frecuentemente a la uretra, dando como resultado un síndrome uretral agudo (6). La consecuencia clínica más severa de la infección genital por clamidias es la endometritis y salpingitis (7). Este tipo de infección puede ocurrir en una gran proporción de mujeres, aún en ausencia de manifestaciones clínicas y puede conducir al desarrollo de enfermedad inflamatoria pélvica que requiere hospitalización. Además, la salpingitis puede causar obstrucción o disfunción del sistema de transporte oviductal, dando como resultado infertilidad involuntaria o embarazos ectópicos (8).

La prevalencia de C. trachomatis en diversos estudios varía del 3 al 5% en mujeres asintomáticas que asisten a clínicas de

planificación familiar, aumentando a cifras mayores del 20% en mujeres que asisten a clínicas de ETS (9-11). En mujeres embarazadas, se reportan prevalencias entre 2 y 26% (12-14), que adquieren importancia cuando se considera que aproximadamente el 60 al 70% de recién nacidos que atraviesan un canal cervical, infectado con C. trachomatis, pueden adquirir la infección durante el nacimiento (7,15). Uno de cada tres recién nacidos expuestos desarrollan conjuntivitis de inclusión y uno de cada seis pueden desarrollar neumonía caracterizada por dificultad respiratoria y taquipnea, que en algunos casos requiere de ventilación asistida (16,17).

Debido a la relativa dificultad en establecer el diagnóstico de la infección (ya que la metodología de laboratorio es técnicamente demandante y costosa), se desconoce el impacto que tienen las infecciones genitales causadas por C. trachomatis en países como el nuestro.

El presente estudio se llevó a cabo con el objeto de establecer la prevalencia de infección cervicovaginal por C. trachomatis, en una población de mujeres en edad reproductiva, con bajo riesgo de adquirir infecciones por transmisión sexual (ETS) y sexualmente activas, de la ciudad de Cuernavaca, Morelos, utilizando cultivo celular como método estándar para el reconocimiento de ésta bacteria.

MATERIAL Y METODOS

Sitio de estudio. Durante el periodo de enero de 1990 a septiembre de 1991, se estudió la población localizada en la parte poniente de la ciudad de Cuernavaca, Morelos y que abarca tres colonias suburbanas adyacentes, con características socioeconómicas similares llamadas: Lagunilla, Ampliación Lagunilla, y Benito Juárez. El censo realizado con ayuda de trabajadoras sociales del Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) antes del estudio, reveló una población total de 8,627 habitantes, con la siguiente distribución: Lagunilla, 4,270 habitantes con 1,270 mujeres en edad reproductiva (consideradas entre 15 y 45 años de edad) y sexualmente activas; Ampliación Lagunilla con una población total de 1677, con 475 mujeres entre 15 y 45 años; y Benito Juárez con 2,750 y 759 mujeres respectivamente.

Después de la explicación del estudio y de haber obtenido su consentimiento por escrito para participar en él, las pacientes acudieron al consultorio ginecológico ubicado en el Hospital Civil de la misma ciudad, en donde personal calificado del INSP realizó la historia clínica de la paciente, haciendo énfasis en edad, menarca, inicio de vida sexual, pareja fija u ocasional, infecciones urogenitales previas, utilización de algún método anticonceptivo y sus repercusiones, tabaquismo y otras adicciones, embarazos, abortos y mortinatos. Posteriormente, se tomó una muestra endocervical para el aislamiento en cultivo de C. trachomatis. Se excluyeron del

estudio a las mujeres que voluntariamente decidieron no participar, a las que no habitaban en alguna de las tres colonias, a las mujeres embarazadas (las cuales se incluyeron en otro protocolo actualmente en proceso), aquellas que recibieron tratamiento antimicrobiano por algún motivo durante las semanas previas a la toma de la muestra y las que estaban menstruando el día de su cita. En los últimos dos casos, se programó una fecha diferente para la toma de la muestra y así poder incluir a la paciente. Asimismo, las mujeres embarazadas fueron incluidas en otro proyecto de riesgo perinatal de infección (datos no publicados).

Obtención de la muestra y transporte. La toma del exudado endocervical se realizó con ayuda de un espejo vaginal estéril, a través del cual se introdujeron tres hisopos de algodón estériles. El primero se utilizó para realizar examen en fresco y reconocer la presencia de Trichomonas vaginalis y exudado mucopurulento o leucorrea. El segundo se empleó para realizar una tinción de Gram y reconocer células guía, pseudomicelios, inflamación (caracterizadas por la presencia de más de 5 leucocitos polimorfonucleares por campo de 40X) y diplococos Gram negativos. Una vez eliminada la secreción ectocervical, se introdujo el tercer hisopo rotándolo en la zona de transición escamocolumnar del endocérvix. El hisopo se sumergió en un tubo de 13X100 mm que contenía medio de transporte para clamidias. El tubo se mantuvo a 4°C por no más de 6 horas hasta su llegada a las instalaciones del INSP donde se realizó el procedimiento para cultivo e identificación de la bacteria. Tanto la tinción

de Gram como el examen en fresco para la búsqueda de tricomonas, levaduras, células guía y diversos morfotipos bacterianos (vaginosis bacteriana), se realizaron en el consultorio y sus resultados se obtuvieron antes de que la paciente saliera del mismo. La exploración ginecológica se aprovechó para observar las características de la mucosa cervical y reconocer la presencia de sangrado, leucorrea, ectropión (eversión de la mucosa cervical), edema, úlceras genitales y presencia de dispositivo intrauterino.

Medios de cultivo. Medio de transporte para clamidias (MTC): Medio mínimo esencial Eagle (Gibco, Estados Unidos), al cual se le añadió suero fetal bovino (Gibco, Estados Unidos) al 10%, gentamicina 10 mg/ml y anfotericina B 1 mcg/ml. Se distribuyeron 2 ml en tubos de 13X100 mm y se mantuvieron en refrigeración por un periodo no mayor a 30 días.

Medio de crecimiento para células McCoy (MCC): Medio mínimo esencial (Gibco, Estados Unidos), más suero fetal bovino (Gibco, Estados Unidos), glutamina (Gibco, Estados Unidos) 200 mM, gentamicina 10 mg/ml y NaHCO_3 al 5%.

Medio de crecimiento para clamidias (MCLAM): Contiene lo mismo que el MCC, más cicloheximida (Sigma, Estados Unidos) 2 mg/ml y glucosa al 10%.

Aislamiento de C. trachomatis. La metodología descrita por Ripa y Mardh (18) para el aislamiento de C. trachomatis, con

algunas modificaciones, se describe a continuación:

Se utilizaron placas de 24 pozos (Costar) estériles, a las cuales se les colocaron cubreobjetos redondos de 12 mm de diámetro estériles. En cada pozo, se inoculó una concentración de 125,000 a 250,000 células McCoy/ml (fibroblastos de ratón, Center for Diseases Control, Atlanta, GA) de tal forma que a las 24 horas de incubación, a 37°C y con 5% de CO₂, se obtuviera una monocapa homogénea de células. Se eliminó el medio de cultivo de la monocapa y se sustituyó con 0.2 ml de la muestra clínica, previamente agitada vigorosamente. Se incluyeron un control negativo (0.2 ml de MCC) y uno positivo (0.2 ml de C. trachomatis serotipos D previamente amplificado) por cada placa de 24 pozos. La placa se centrifugó a 3,000 rpm, durante 1 hora a 37°C, para facilitar el contacto de las bacterias con las células. Inmediatamente después, se agregó a cada pozo 1 ml de MCLAM. La placa se incubó a 37°C durante 72 horas en presencia de 5% de CO₂.

Identificación de C. trachomatis. Después del periodo de incubación, se eliminó el medio de cultivo de cada pozo y se fijaron las células con 1 ml de metanol durante 5 min. Los cubreobjetos se sacaron de los pozos, se secaron a temperatura ambiente y se sometieron a tinción con anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína (Microtrak, Syva. Palo Alto, CA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las inclusiones de C. trachomatis se identificaron con un microscopio de fluorescencia (Diaplan, Leitz) a un aumento de 63X como

estructuras redondas u ovaladas, color verde intenso, localizadas en el citoplasma de la célula, generalmente deformándola por su tamaño. El hallazgo de una sola inclusión se consideró como cultivo positivo.

Todas las pacientes con aislamientos positivos fueron manejadas en otro protocolo, para el tratamiento, vigilancia y seguimiento de su infección.

Metodología del análisis. Se utilizó la t de Student para comparar los promedios obtenidos en las muestras por contrastar (datos cuantitativos y promedios de aislamiento de cepas).

RESULTADOS

Se estudió un total de 2407 mujeres sexualmente activas entre 15 y 45 años de edad, de las cuales 97(4.0%) presentaron aislamiento positivo para C. trachomatis, el promedio de edad de las mujeres positivas fue de 25 ± 2.3 años, el de las negativas fue de 26 ± 3.2 años. El 80% de las mujeres estudiadas se dedica a labores del hogar y 20% son empleadas (obreras) dentro de la ciudad. No se encontró diferencia en relación a la menarca entre positivas y negativas; el inicio de la vida sexual fue a los 16 ± 1.9 años para las negativas y de 13 ± 2.7 para las positivas.

El antecedente de manifestaciones urogenitales (disuria, urgencia y frecuencia a la micción, leucorrea, dolor y pesadez pélvica), fue de 2 ± 1.2 episodios por año para las negativas, comparando con 5 ± 2.0 en las positivas. No fue posible documentar en el grupo total presencia previa de ETS. El 25.8% (25/97) de las mujeres infectadas declaró haber tenido por lo menos dos parejas sexuales durante el último año precedente a la toma de la muestra; en el grupo de negativas sólo el 14.7% (340/2310) reconoció más de una pareja sexual en el mismo lapso.

El promedio general de hijos fue de 2 ± 1.6 , el parto pretérmino (menos de 37 semanas de gestación), se documentó en 145/2310 (6.3%) de las negativas y en 11/97 (11.3%) de las positivas. La prematuridad (menos de 2500 g de peso y menos de 37 semanas de gestación), se presentó en 124/2310 (5.3%) en el

grupo de negativas y en 9/97 (9.3%) de las positivas. Estos últimos datos correspondieron al último embarazo y parto de cada individuo. No fue posible documentar en la muestra de estudio la frecuencia de abortos, mortinatos, esterilidad, embarazos ectópicos, presencia de fiebre postparto, infecciones perinatales o enfermedad pélvica inflamatoria.

Los métodos anticonceptivos utilizados por la población no infectada fueron: dispositivo intrauterino (DIU) en 651/2310 (28.1%), salpingoclasia en 582/2310 (25.1%), hormonales orales 289/2310 (12.5%), hormonales inyectables en 73/2310 (3.1%), preservativo en 73/2310 (3.1%), ritmo menstrual en 49/2310 (2.1%) y ninguno en 593/2310 (25.6%). En las mujeres positivas a clamidia 38/97 (39.1%) emplearon DIU, 33/97 (34%) hormonales orales y 26/97 (27%) no utilizaron algún procedimiento anticonceptivo.

Cincuenta mujeres (51.5%) colonizadas con C. trachomatis se encontraban totalmente asintomáticas. Las manifestaciones más sobresalientes (signos clínicos) fueron leucorrea en 47/97 (48.5%), ectropión y cervicitis mucopurulenta, con superficie friable y de fácil sangrado al raspar con el hisopo, en 35/47 (74.5%). Estas pacientes únicamente referían al interrogatorio intencionado, molestia por la leucorrea y el prurito, la cual obviamente no justificaba asistir a consulta ginecológica.

Además de la presencia de C. trachomatis en las 97 mujeres positivas, se demostró en el examen en fresco la coincidencia

de T. vaginalis en 7/97 (7.2%), y de C. albicans en 2/97.

Los criterios de vaginosis bacteriana: pH ácido, presencia de células guía, ausencia de proceso inflamatorio y presencia de morfotipos corineformes, se observó en 13/97 (13.4%). No se documentó en ninguna muestra la presencia de N. gonorrhoeae.

En las mujeres negativas al cultivo de C. trachomatis, se observó presencia del T. vaginalis en 161/2310 (6.9%), 76/2310 (3.2%) tenían C. albicans y en 342/2310 (14.8%) se cumplió el criterio de vaginosis bacteriana. Otros hallazgos, obtenidos en este grupo de mujeres negativas al cultivo del patógeno en estudio, fueron: presencia de leucorrea asintomática en 873/2310 (37.7%), ectropión con cervicitis en 25/2310 (1.0%), friabilidad con sangrado mínimo al momento de la toma de la muestra en 108/2310 (4.7%) (ver Cuadro I).

En el laboratorio, el número de inclusiones de C. trachomatis que se observó varió de una hasta 46 por cubreobjeto examinado. En el 15% de las muestras sembradas, se observó toxicidad y/o contaminación caracterizada por la acidificación del medio y destrucción de la monocapa celular 24 horas después de la inoculación. Para evitar este error, se diluyó otra alícuota de la muestra original en medio MMC y se inoculó nuevamente en monocapa de células frescas. No hubo necesidad de pases múltiples.

CUADRO I
Características de 2 407 mujeres con y sin *C. trachomatis*

Aspectos	Positivas	Negativas (2 310)	P
Edad (años)	25±2.3	26±3.2	NS
Inicio vida sexual (años)	13±2.7	16±1.9	<0.01
Antecedentes urogenitales* (eventos el último año)	5±2.0	2±1.2	<0.01
Más de una pareja sexual	26.0%	15.0%	<0.01
Parto pretérmino**	11.3%	6.3%	<0.01
Prematurez**	9.2%	5.3%	<0.01
Anticoncepción:			
DIU	39.0%	28.0%	NS
Salpingoclasia		21.0%	<0.01
Hormonales	34.0%	11.3%	1<0.01
Ninguno	27.0%	25.6%	NS
Leucorrea	48.5%	37.7%	NS
Cervicitis mucopurulenta	74.5%	1.0%	<0.01
<i>Trichomonas vaginalis</i>	7.2%	6.9%	NS
<i>C. albicans</i>	2.0%	3.2%	NS
Vaginosis bacteriana	13.4%	14.8%	NS

* Disuria, urgencia, frecuencia de micciones, dolor y pesadez pélvica.

** Datos del último embarazo y parto.

DISCUSION

Chlamydia trachomatis es el patógeno más común que se aísla en la infección del tracto genital femenino y, asimismo, es quizá el agente más prevalente de las infecciones adquiridas por el tracto sexual. La presencia de infección endocervical durante la vida sexual activa y la etapa reproductiva, representa un alto riesgo de contagio potencial para la pareja sexual, así como una variedad de infecciones en la misma persona, como cervicitis mucopurulenta, salpingitis, endometritis, vulvovaginitis, infecciones intercurrentes durante el parto, que pueden extenderse al recién nacido o bien ser causa de secuelas que propician esterilidad, embarazo extrauterino o enfermedad pélvica inflamatoria (19).

En este estudio se encontró una prevalencia similar a la reportada para población asintomática en sociedades industrializadas, considerada de bajo riesgo para la adquisición y transmisión de ETS.

En estudios realizados en los EUA (19), la edad promedio de las pacientes infectadas oscila entre 13-18 años; esto es significativamente menor que la encontrada en este trabajo.

Este fenómeno pueden ser explicado en base a la temprana edad de inicio de la actividad y el mayor número de parejas sexuales en Norteamérica; así mismo, la presencia de cervicitis mucopurulenta es un factor de riesgo importante y un dato para

sospechar la presencia del patógeno (20). En general, los criterios demográficos y clínicos establecidos en otras publicaciones (20,21) coinciden con lo que se observó en esta investigación. La gran mayoría de las mujeres tenían un curso asintomático, situación que debe ser tomada en cuenta para poder documentar la presencia de C. trachomatis.

Al analizar las semejanzas y diferencias al interior del grupo de población estudiada, (tabla I), se puede observar que hay algunos aspectos diferenciales entre las mujeres que fueron positivas en el cultivo de la bacteria, comparada con el grupo que fueron negativas. Es así que puede establecerse que una mujer que ha iniciado tempranamente su vida sexual, que ha tenido antecedentes urogenitales, que tiene varias parejas sexuales y que presenta cervicitis mucopurulenta al examen ginecológico, tiene un riesgo importante para estar colonizada por C. trachomatis. Los datos retrospectivos son menos consistentes; sin embargo, al considerar el parto pretérmino, la prematuridad y el método anticonceptivo, en el año previo al estudio, se aprecia que las diferencias son significativas. Estos datos han sido observados en otras investigaciones prospectivas (22,23).

La presencia de otras ETS facilita y aumenta el riesgo de infección por C. trachomatis, ya que las alteraciones en el epitelio escamocolumnar propician la entrada de los cuerpos elementales y el establecimiento de la infección. Sin embargo, en este estudio C. trachomatis se recuperó en la misma

proporción de mujeres con o sin la presencia de T. vaginalis, C. albicans o vaginosis bacteriana. Esta situación ha sido observada en otras poblaciones (24).

En nuestra población es difícil obtener información directa de padecer o haber padecido alguna enfermedad venérea, esto se complica aún más, por la ausencia de programas oficiales o privados que permitan comprobar en forma contundente la presencia de algunas ETS. Los diagnósticos generalmente son realizados únicamente en base a los hallazgos clínicos y, obviamente, el tratamiento tiene un alto grado de empirismo.

El aislamiento de C. trachomatis en cultivo celular sigue siendo el método más sensible y específico para la identificación de esta bacteria, ya que cada cuerpo elemental que es liberado por la célula huésped da origen a una o varias inclusiones fácilmente observables, dando un efecto de ampliación en el reconocimiento del microorganismo.

Sin embargo, no es un método estándar perfecto, ya que un sólo cultivo reconoce entre el 70-80% de los casos (25). Este procedimiento, es el ideal para establecer la prevalencia de infección en poblaciones de bajo riesgo para adquirir ETS; por ahora se reconoce como el estándar para valorar otras técnicas, tales como la fluorescencia directa, en donde se utilizan anticuerpos monoclonales (MicroTrak Syva) o alguna variante de ELISA (Chlamydiazyme) (25). Estos recursos diagnósticos no han sido validados adecuadamente para establecer la frecuencia de

infección en población abierta. Su utilidad es en casos individuales.

También es de particular interés tomar en cuenta el número de pacientes asintomáticas que fueron reconocidas; ellas representan una fuente potencial de infección para su pareja sexual.

C. trachomatis no es parte de la flora bacteriana del tracto genital femenino, su presencia implica daño y riesgo de complicaciones. Por el momento, la tecnología necesaria para establecer el diagnóstico es de elevado costo, consume demasiado tiempo, requiere de equipo y personal especializado, por lo cual, estudios como el presente, no pueden ser realizados en forma rutinaria. Sin embargo, factores como el número de parejas sexuales, antecedentes urogenitales y empleo de anticonceptivos orales, así como hallazgos clínicos de cervicitis mucopurulenta y fragilidad capilar, son indicadores útiles para la búsqueda intencionada de C. trachomatis en éstas mujeres, empleando cultivo o métodos alternativos de detección del antígeno, de acuerdo a las posibilidades de cada laboratorio. La detección y tratamiento oportunos de éstas infecciones evitará la diseminación del agente etiológico y disminuirá el riesgo de complicaciones asociado con ellas.

REFERENCIAS

1. Ward ME: The chlamydial developmental cycle. En: Barron A L (Ed). Microbiology of Chlamydia. CRC Press Inc. Florida, USA, 1988:71-95.
2. Schachter J, Hanna L, Hill EC, Massad S, et al: Are chlamydial infections the most prevalent venereal disease? J Am Med Assoc 1975; 231:1252-1256.
3. Bowie WR, Jones H: Acute pelvic inflammatory disease in out-patients: association with Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. Ann Intern Med 1981; 95:685-688.
4. Shachter J: Chlamydial infections. N Engl J Med 1978; 298:428-435, 490-495, 540-549.
5. Brunham RC, Paavonen J, Stevens CE, Kiviat N, Kuo C, Holmes KK: Mucopurulent cervicitis -the ignored counterpart in women of urethritis in men. N Engl J Med 1984; 311:1-6.
6. Stamm WE, Wagner KF, Amsel R, Alexander ER, Turck M, Counts GW, Holmes KK: Causes of the acute urethral syndrome in women. N Engl J Med 1980; 303:409-415.
7. Schachter J, Grssman M: Chlamydial infections. Annu Rev Med 1981; 32:45-61.
8. Paavonen J, Teisala K, Heinonen PK, Aine R, et al:

Microbiological and histopathological findings in acute pelvic inflammatory disease. Br J Obstet Gynecol 1987; 94:454-460.

9. Hilton AA, Richmond SJ, Milne JD, Hindley F, Clarke SKR. Chlamydia in the female genital tract. Br J Vener Dis 1974; 50:1-10.
10. Oriel JD, Johnson AL, Barlow D, Thomas BJ, Nayyar K, Reeve P: Infection of the uterine cervix with Chlamydia trachomatis. J Infect Dis 1978; 137:443-451.
11. Mumtaz G, Mellars BJ, Ridgway GL, Oriel JD: Enzyme immunoassay for the detection of Chlamydia trachomatis antigen in urethral and endocervical swabs. J Clin Pathol 1985; 38:740-742.
12. Hammerschlag MR, Anderka M, Semine DZ, McComb D, McCormack WM: Prospective study of maternal and infantile infection with Chlamydia trachomatis. Pediatrics 1979; 64:142-148.
13. Hardy PH, Hardy JB, Nell EE, Graham DA, Spence MR, Rosenbaum RC: Prevalence of six sexually transmitted disease agents among pregnant inner-city adolescents and pregnancy outcome. Lancet 1984; ii:333-337.
14. Sweet RL, Landers DV, Walker C, Schachter J: Chlamydia trachomatis infection and pregnancy outcome. Am J Obstet

Gynecol 1987; 156:824-833.

15. Schachter J, Holt J, Goodner E, Grossman M, Sweet R, Mills J: Prospective study of chlamydial infection in neonates. Lancet 1979; 2:377-379.
16. Attenburrow AA, Baker CM: Chlamydial pneumonia in the low birth weight neonate. Arch Dis Child 1985; 60:1169-1172.
17. Schachter J: Overview of human diseases. En: Barron AL (Ed). Microbiology of Chlamydia. CRC Press Inc. Florida USA. 1988:153-165.
18. Ripa KT, Mardh PA: Cultivation of Chlamydia trachomatis in cycloheximide-treated McCoy cells. J Clin Microbiol 1977; 6:328-331.
19. Stamm WE, Holmes KK: Chlamydia trachomatis infections of the adult. En: Sexually Transmitted Diseases. Holmes KK, Mardh PA, Sparling PF, Wiesner PJ, eds. New York. McGraw-Hill, 1990: 181-194.
20. Handsfield HH, Jasman LL, Roberts PL, Hanson VW, Stamm WE: Criteria for selective screening for Chlamydia trachomatis infection in women attending family planning clinics. J Am Med Assoc 1986; 255:1730-1734.
21. Plummer FA, Ngugi EN: Prostitutes and their clients in the

epidemiology and control of sexually transmitted diseases.
En: Sexually transmitted Diseases. Holmes KK, Mardh PA,
Sparling PF, Wiesner PJ, eds, New York. McGraw-Hill,
1990:71-76.

22. Martin DH: Prematurity and perinatal mortality in pregnancies complicated by maternal Chlamydia trachomatis infections. JAMA 1982; 247:1585-1587.
23. Martus J: Relationships of vaginal lactobacillus sp, cervical Chlamydia trachomatis and bacterial vaginosis with to preterm birth. Obstet Gynecol 1988; 71:89-91.
24. Wolner-Hanssen P, Krieger JN, Stevens CE, Koutsky L, et al: Vaginal trichomoniasis: a cross-sectional study of clinical manifestations, adjusting for effects of coinfection in randomly selected STD clinic women. JAMA 1988.
25. Barnes RC: Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. Clin Microbiol Rev 1989; 2:119-136.



DPE/001/1992

Cuernavaca, Mor., Marzo 26, 1992.

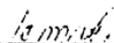
**QFB. GABRIELA ECHANIZ AVILES
P R E S E N T E**

Nos referimos a su artículo intitulado "PREVALENCIA DE INFECCION CERVICOVAGINAL POR C. TRACHOMATIS EN POBLACION FEMENINA DE LA CIUDAD DE CUERNAVACA, MORELOS", elaborado por Usted y enviado a Salud Pública de México para su posible publicación en el número especial del 5° Aniversario del INSP, CISEI.

Al respecto nos complace informarle que su artículo ha sido aceptado y aparecerá publicado en dicho número especial.

Esperando contar con su colaboración en futuras ocasiones, aprovechamos la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E


DR. MARCO V. JOSE
EDITOR HUESPED DEL No ESPECIAL
DEL 5° ANIVERSARIO DEL INSP, CISEI


DR. JUAN URRUSTI SANZ
DIRECTOR DE INFORMACION
SALUD PUBLICA DE MEXICO

C.c.p. Dra. Lucila Pacheco P.- Subdirectora de Publicaciones del
INSP.

C.c.p. Archivo

MVJ'JUS'mjm

IV COMENTARIOS Y PERSPECTIVAS

Los datos obtenidos en nuestro trabajo son comparables con los reportados en otros estudios de Norteamérica, tomando en consideración que la metodología utilizada para la detección de la bacteria fue la misma en todos ellos.

Desafortunadamente, debido a la poca accesibilidad de los métodos de diagnóstico, carecemos de esta información proveniente de otros países de Latinoamérica, en donde existen escasos reportes sobre la prevalencia de las infecciones causadas por esta bacteria (1).

Durante los últimos 5 años, se ha generado una gran actividad en el desarrollo e investigación de nuevas alternativas para el diagnóstico de laboratorio de las infecciones causadas por C. trachomatis, buscando siempre la accesibilidad de la metodología así como especificidad y sensibilidad.

Con respecto al cultivo de tejidos, recientemente se han realizado estimados más precisos de la sensibilidad del método con estudios en los cuales los pacientes han sido diagnosticados empleando cultivo de tejidos, técnicas de detección de antígeno y/o sondas de DNA (2,3). Asumiendo que un verdadero positivo ocurre cuando cualquiera de las pruebas diferentes al cultivo coinciden en su resultado, o cuando una prueba puede emplearse para verificar otra, se ha demostrado que la sensibilidad del cultivo en laboratorios

experimentados, varía del 70 al 95% dependiendo, en forma importante, de la calidad de la muestra obtenida (3).

La sensibilidad de las pruebas de inmunofluorescencia directa han mejorado, utilizando valores de corte menores para pruebas positivas (2 CEs versus 10 CEs). La calidad de la muestra repercute ampliamente en su sensibilidad y se considera que se requieren más de 5 células epiteliales por preparación para considerarla adecuada para su lectura (4). En las mejores condiciones, esta prueba alcanza sensibilidades hasta del 85% y especificidades por arriba del 95% (5); aunque estos resultados aún no se alcanzan en poblaciones de baja prevalencia, por lo tanto, no se recomienda como método de escrutinio.

Se ha empleado el plásmido de 7.5 kb para los ensayos de hibridación con ácidos nucleicos; el plásmido contiene unidades repetidas de 22 pb y existen alrededor de 7-10 copias del plásmido por clamidia. Es por ello que el plásmido representa una secuencia naturalmente amplificada, ideal para ser utilizada como sonda (6,7). También se ha empleado un fragmento del cromosoma que codifica para la PME, el cual contiene dominios conservados de 129 pb en los 15 serotipos de C. trachomatis (8). Más recientemente, se han empleado sondas de DNA que identifican regiones específicas del rRNA con resultados no muy alentadores (9). Debido a que la baja cantidad de rRNA en las muestras disminuyen la sensibilidad del método.

Estas mismas sondas se han empleado en ensayos utilizando PCR. Los mejores resultados se han obtenido empleando al plásmido críptico de C. trachomatis (10), pero aún se requiere un mayor número de estudios en muestras clínicas para determinar los valores reales de sensibilidad y especificidad. Una vez que esto se haya realizado, la simplificación y automatización de la metodología requerirán mayor atención y desarrollo.

Aún quedan en nuestro país muchos aspectos importantes sin resolver, referentes a la epidemiología de las infecciones causadas por C. trachomatis.

Estudios similares a éste deben realizarse en diferentes poblaciones, como por ejemplo en jóvenes adolescentes de las grandes ciudades, mujeres embarazadas y población considerada de alto riesgo para la adquisición y transmisión de ETS, como prostitutas y homosexuales, con objeto de tener una imagen lo más cercano a la realidad de la prevalencia de C. trachomatis.

Una vez que contemos con esta información podremos orientar nuestros esfuerzos hacia problemas aún sin respuesta.

Desconocemos cual es el grado de inmunidad que se desarrolla seguido a una primera exposición con el agente infeccioso. Así como algunos casos curan espontáneamente, otros no lo hacen e ignoramos por cuanto tiempo puede persistir la infección.

En el caso de los recién nacidos infectados, también desconocemos por cuanto tiempo se prolonga la infección y si esto puede sensibilizar a los niños para exposiciones futuras. El mundo de C. trachomatis también guarda muchos secretos sobre todo en las vías de propagación y en la forma en que se desarrolla inmunidad hacia el microorganismo.

Estos conocimientos nos ayudarán también a introducir programas de control que disminuyan los índices de infección, eviten las consecuencias a largo plazo, sobre todo en la mujer en etapas reproductivas y que, al mismo tiempo, ayuden a disminuir las otras ETS que afectan a nuestra población.

Por otra parte, en los últimos 2 a 3 años, el estudio de la biología de las clamidias ha dado como resultado un cúmulo de conocimiento, muchos de los cuales aún son descriptivos.

El ciclo de desarrollo de las clamidias y su regulación, siguen siendo un reto para los biólogos moleculares. La búsqueda de características semejantes entre los genes de Chlamydia y los de otros procariontes ha servido únicamente para enfatizar su originalidad. Resalta, por ejemplo, el hecho de que no se hayan encontrado secuencias consenso de promotor o de terminación de transcripción en su cromosoma lo cual sugiere la existencia de complejos mecanismos de regulación de la expresión genética de los genes de Chlamydia. Sin embargo, los genes que codifican para rRNA, PME y una proteína de 60 kDa, la cual presenta determinantes específicos

de especie, comparten una misma propiedad: la presencia de dos puntos de inicio transcripcional (11).

Desafortunadamente, se carece todavía de las herramientas moleculares esenciales para manipular la biología del organismo. se requiere del desarrollo de un sistema de transferencia genética (vector), de manera que se puedan medir los efectos de mutaciones definidas en el ciclo de desarrollo de las clamidias.

Seguramente, en el futuro, este extraordinario grupo de microorganismos continuará motivando y proporcionando nuevos retos tanto en las ciencias básicas como en las aplicadas.

REFERENCIAS

1. Aliaga P, Bernal J, Martinez MA, et al. Incidencia de Chlamydia trachomatis en el embarazo. Rev Chil Obstet Ginecol. 1985; 50:140-149.
2. Chernesky M, Castriciano S, Sellors J, et al. Detection of Chlamydia trachomatis antigens in urine as an alternative to swabs and cultures. J Infect Dis 1989; 161:124-126.
3. Moncada J, Schachter J, Shipp M, Bolan G, Wilber J. Cytobrush in collection of cervical specimens for detection of Chlamydia trachomatis J Clin Microbiol 1989; 27:1863-1866.
4. Kellog JA. Clinical and laboratory considerations of culture vs antigen assays for detection of Chlamydia trachomatis from genital specimens. Arch Pathol Lab Med 1989; 113:453-460.
5. Levengood CH, Schmitt JW, Addison WA, Wreeun JW, Magruder-Habib K. Direct fluorescent antibody testing for endocervical Chlamydia trachomatis factors affecting accuracy. Obstet Gynecol 1988; 72:803-809.
6. Palmer L, Falkow S. A common plasmid of Chlamydia trachomatis Plasmid 1986; 16:52-62.
7. Palva A, Jousimies-Somer H, Saikku P, Vaananen P, Soderlund H, Ranki M. Detection of Chlamydia trachomatis by nucleic acid sandwich hybridization. FEMS Microbiol Lett 1984; 23:83-89.
8. Dutilh B, Bebear C, Rodriguez P, Vekris A, Bonnet J, Garret M. Specific amplification of a DNA sequence common

- to all Chlamydia trachomatis serovars, using the polymerase chain reaction. Res Microbiol 1989; 140:7-16.
9. Peterson EM, Oda R, Alexander R, et al. Molecular techniques for the detection of Chlamydia trachomatis. J Clin Microbiol 1989; 27:2359-2363.
10. Woods GL, Young A, Scott JC, et al. Evaluation of a nonisotopic probe for detection of Chlamydia trachomatis in endocervical specimens. J Clin Microbiol 1990; 28:370-372.
11. Ward ME, Clarke IN. New perspectives in Chlamydial biology and development. En: Chlamydial Infections. Bowie WR, Caldwell HD, Jones RP, Mardh PA, Ridgway GL, Schachter J. (Eds.) Cambridge University Press, British Columbia, Canada, 1990. p. 3-14.