

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

**Infección cervicovaginal e intraamniótica causada
por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*
y *Ureaplasma urealyticum* en pacientes con
embarazo de alto riesgo.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

MARÍA EUGENIA SUÁREZ BOTELLO

m342825

2005



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Nombre: **SUÁREZ BOTELLO MARÍA EUGENIA.**

Número de cuenta: **9560742-5**

Año de terminación de la carrera: **2001**

Orientación: **Bioquímica clínica**

Título del proyecto:

Infeción cervicovaginal e intraamniótica causada por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealiticum* en pacientes con embarazo de alto riesgo.

Area específica del proyecto: **Bacteriología.**

Nombre del director: **Dr. Tomás de Jesús Mendoza Martínez**

Nombre del asesor: **Q.F.B.. Ma. del Pilar Cedillo Martínez.**

Lugar donde se desarrolla el trabajo: **Laboratorio de Medicina Materno-fetal y laboratorio de Bacteriología del Centro Médico Nacional "20 de noviembre", del ISSSTE.**

A mis padres, Carlos y Alejandrina.
Gracias por todo el apoyo, por todos los valores que me
inculcaron y me impulsaron a llevar a término este importante
proyecto.

A mi esposo, Adrian.
Gracias por apoyarme e impulsarme siempre a seguir adelante
y no abandonar mis metas. Sólo con tu apoyo y comprensión
pude concluir este gran proyecto.

A mis Hermanos,
que sin su apoyo no hubiese sido posible llegar a este
momento.

Mi más grande reconocimiento a todas las personas que me apoyaron para la realización de mis estudios y de esta tesis, en especial a mi Director de Tesis, el Dr. Tomás de Jesús Mendoza Martínez, así como a mis asesores, la QFB. María de Lourdes Jiménez Perea y la QFB. María del Pilar Cedillo Martínez. A todos ellos gracias por todo su apoyo, enseñanza y sobre todo gracias por su amistad.

Deseo agradecer las facilidades proporcionadas para el desarrollo y conclusión de esta tesis al Dr. Fernando Escobedo Aguirre, Jefe del Servicio de Medicina Materno Fetal, "CMN 20 de Noviembre".

Gracias a todas las personas que en algún punto colaboraron para pulir este trabajo y hacerlo mejor. Gracias a mis sinodales pues todas sus críticas fueron muy constructivas y enriquecedoras.

A mis Familiares

Amigos y compañeros

A mis maestros

A la FES Zaragoza

Al ISSSTE
Servicio de Medicina Materno Fetal,
Laboratorio de Perinatología
y Laboratorio Central del CMN 20 de Noviembre.

Gracias.

ÍNDICE

	PÁG.
I. RESUMEN.	I
1. INTRODUCCIÓN.	1
2. MARCO TEÓRICO.	3
2.1. CAMBIOS EN EL SISTEMA REPRODUCTOR DURANTE EL EMBARAZO.	3
2.2. EMBARAZO DE ALTO RIESGO.	3
2.3. CERVICOVAGINITIS EN EL EMBARAZO.	4
2.3.1. VAGINITIS BACTERIANA.	5
2.3.2. TRANSMISIÓN VERTICAL DE LA INFECCIÓN DE LA MADRE AL FETO.	6
2.4. AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.	7
2.5. RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.	8
2.5.1. CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS CORIOAMNIÓTICAS.	8
2.5.2. INFECCIÓN COMO CAUSA DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.	9
2.5.2.1. ETAPAS DE LA INFECCIÓN.	9
2.5.3. RIESGOS DE LA RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS (RPM).	11
2.5.3.1. CLÍNICA DE LA RPM.	11
2.6. EL LÍQUIDO AMNIÓTICO.	12
2.6.1. LA AMNIOCÉNTESIS.	12
2.7. CLAMIDIA	13
2.7.1. GENERALIDADES.	13
2.7.2. MORFOLOGÍA Y CICLO DE CRECIMIENTO DE LA CLAMIDIA.	14
2.7.3. INFECCIONES PRODUCIDAS POR <i>Chlamydia trachomatis</i> .	15
2.7.3.1. RIESGOS DE CONTRAER UNA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i> .	16
2.7.3.2. SIGNOS Y SÍNTOMAS EN UNA INFECCIÓN DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR <i>C. trachomatis</i> .	16
2.7.3.3. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i> .	17
2.7.4. IMPACTO DE LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i> DURANTE EL EMBARAZO.	17
2.7.5. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LAS CLAMIDIAS.	17
2.7.6. FUNDAMENTO DE LA UTILIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA PARA LA DETECCIÓN DE <i>C. trachomatis</i> .	18
2.7.6.1. PRINCIPIO DE LA TÉCNICA.	18
2.8. MICOPLASMA	19
2.8.1. GENERALIDADES.	19
2.8.2. METABOLISMO DE LOS MICOPLASMAS.	20
2.8.3. INFECCIONES PRODUCIDAS POR LOS MICOPLASMAS EN EL TRACTO GENITOURINARIO Y SU EFECTO EN EL EMBARAZO.	20
2.8.3.1. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.	21
2.8.3.2. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR MICOPLASMA.	21
2.8.4. FUNDAMENTO DE LA UTILIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MICROCULTIVO PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE <i>U. urealyticum</i> y <i>M. hominis</i> A PARTIR DE SU METABOLISMO.	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	23
4. OBJETIVO GENERAL.	24
4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.	24
5. HIPÓTESIS.	25
6. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN.	26
7. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.	27
8. METODOLOGÍA.	28
8.1. DISEÑO ESTADÍSTICO.	28
9. MATERIAL REACTIVOS Y EQUIPOS.	30
10. PROCEDIMIENTO.	32
11. RESULTADOS.	44
12. DISCUSIÓN.	46
13. CONCLUSIONES.	48
14. RECOMENDACIONES	
ANEXO 1. DATOS DESCRIPTIVOS Y TABLAS DE RESULTADOS DEL ESTUDIO.	50
ANEXO 2. IMÁGENES DE <i>C. trachomatis</i> VISTAS EN MICROSCOPIO DE FLUORESCENCIA (Control positivo y control negativo)	55
ANEXO 3. DESCRIPCIÓN DE <i>Chlamydia trachomatis</i> Directa MicroTrak®	56
ANEXO 4. PRECAUCIONES A CONSIDERAR EN EL PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACIÓN DE <i>C. trachomatis</i> .	57
GLOSARIO	58
REFERENCIAS.	59

I

RESUMEN

El presente trabajo tuvo su origen al considerar la importancia de conocer la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal y líquido amniótico por microorganismos como *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, mismos que han sido asociados a la amenaza de parto pretérmino, a la ruptura prematura de membranas y bajo peso al nacer. Es de particular interés la población de pacientes con embarazo de alto riesgo derechohabientes del ISSSTE que acuden al Servicio de Medicina Materno-Fetal en el CMN "20 de Noviembre".

Hasta la fecha la información sobre estudios de la presencia de estos microorganismos en líquido amniótico es escasa, y su detección en general se ha logrado mediante cultivos que suelen ser complicados y cuyo tiempo para obtener un resultado es largo; por lo que se propuso desarrollar una adecuación al manejo de la muestra que permitiera su detección en dicho líquido mediante la utilización de técnicas de inmunofluorescencia y microcultivos, utilizadas regularmente sobre muestras genitales para *C. trachomatis* y *Mycoplasma* respectivamente, con el fin de obtener resultados rápidos y confiables a un costo accesible y en el menor tiempo posible. Así, se adecuó el manejo de la muestra de líquido amniótico al centrifugarla y con ello obtener un concentrado celular.

Se incluyeron en el estudio a 52 pacientes con embarazo de alto riesgo, atendidas en el Servicio de Medicina Materno-Fetal, del CMN "20 de Noviembre" ISSSTE, de 26 a 37 semanas de gestación por ultrasonido, y que mostraron síntomas de infección cervicovaginal o amenaza de parto pretérmino. Se realizó la búsqueda de *C. trachomatis* en tracto cervicovaginal (TCV) y líquido amniótico (LA) mediante una técnica de inmunofluorescencia, utilizando *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak®. La detección de *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, en ambos tipos de muestra, fue realizada mediante una técnica de microcultivo en base al metabolismo de estos microorganismos, utilizando para el fin *Mycoplasma Duo*®.

En líquido amniótico sólo se logró detectar la presencia de *U. urealyticum*, por lo que la utilidad de las técnicas utilizadas tanto para detectar *C. trachomatis* y *M. hominis* en este tipo de muestra no se pudo definir.

Se encontró que en la población de estudio, *U. urealyticum* se encuentra en tracto cervicovaginal con una frecuencia de 44.2%, mientras que en líquido amniótico tiene una frecuencia de 28.8%, por su parte *M. hominis* tiene una frecuencia de 1.9% en TCV y una presencia nula en LA. Durante en el presente estudio no se detectó la presencia de *C. trachomatis* tanto en TCV como en LA.

En base a los resultados obtenidos se encontró una asociación estadísticamente significativa y una dependencia entre la infección cervicovaginal y la infección intraamniótica causada por *U. urealyticum*, es decir la presencia de este microorganismo en L.A. depende de su presencia en tracto cervicovaginal.

Se obtuvo información adicional durante el estudio, pues se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *U. urealyticum* en tracto cervicovaginal y la amenaza de parto pretérmino, de manera que la presencia de este microorganismo en tracto genital puede representar un grado de riesgo para que se presente la amenaza de parto pretérmino.

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto reproductivo durante la gestación producen alteraciones en el organismo de la mujer, pero además tienen efecto sobre la evolución del embarazo y el desarrollo fetal. En este período las infecciones del tracto reproductivo pueden ser causa de múltiples problemas, entre éstos: aborto espontáneo, amenaza de parto pretérmino, ruptura prematura de membranas y por supuesto el parto pretérmino, que trae como principal consecuencia obviamente la prematurez del producto, lo que conlleva un mayor riesgo de mortalidad y de enfermedades del recién nacido, lo que es debido a la inmadurez pulmonar y a la posibilidad de hemorragias cerebrales. Cuanto menor es la edad gestacional al presentarse el parto, es mayor el peligro para el recién nacido.

Son diversos los microorganismos capaces de provocar una cervicovaginitis, sin embargo, las infecciones más comunes son la tricomoniasis, la candidiasis y la vaginitis bacteriana. A esta última se han relacionado microorganismos como *Chlamydia trachomatis* y *Mycoplasma* (específicamente *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*), entre otros.

Algunas infecciones pueden ser adquiridas por el producto durante el parto, al tener éste contacto con las secreciones de la madre. También las bacterias que se encuentran en tracto cervicovaginal pueden invadir de manera ascendente las membranas amnióticas provocando una infección subclínica y trayendo como consecuencia la amenaza de parto pretérmino y la ruptura prematura de membranas. Puede haber invasión de éstos microorganismos a líquido amniótico, existiendo la posibilidad de una infección en el producto, provocándole una conjuntivitis o una neumonía fetal e incluso la muerte. ⁽¹⁾ De acuerdo a datos del Servicio de Ginecoobstetricia y Medicina Materno-fetal del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE, se estima que la frecuencia de parto pretérmino es de 5-10% de todos los embarazos, y que el 70-80% de los partos pretérmino están fuertemente asociados a la presencia de infecciones.

Con los nombres de síndrome de infección del amnios, corioamnioitis o infección amniótica se califican a todas las infecciones inespecíficas de la cavidad amniótica, de sus anexos y eventualmente del feto.

Por lo anterior, se considera necesario conocer la frecuencia en México de infección por *C. trachomatis* y *Mycoplasma* (*Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*) en tracto genital, así como en líquido amniótico en pacientes con embarazo de alto riesgo. De esta manera, se enfoca el estudio a mujeres embarazadas, derechohabientes del ISSSTE y canalizadas por sus clínicas de procedencia, en diferentes estados de la República, al Servicio de Medicina Materno-fetal del CMN "20 de Noviembre" debido a su condición de alto riesgo.

Con ello se pretende implementar un programa de detección y tratamiento de dichos casos de infección, empezando por este Servicio, y así prevenir consecuencias posteriores asociadas, mismas que ya han sido previamente mencionadas.

En esta población de pacientes hasta ahora no se había llevado a cabo la búsqueda y detección de tales microorganismos en líquido amniótico, ya que la realización de cultivos para tal fin tiene un alto costo, por lo que se considera la importancia de desarrollar un procedimiento que permita su detección en dicho líquido a partir de la utilización de los mismos métodos empleados para muestras de tracto genital (inmunofluorescencia y microcultivos), con el fin de obtener resultados rápidos y confiables con un costo menor del que tiene el método de cultivo convencional.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. CAMBIOS EN EL SISTEMA REPRODUCTOR DURANTE EL EMBARAZO.

Las paredes vaginales se preparan para el momento del parto, así hay una relajación del tejido conectivo con hipertrofia de las fibras musculares, además de que aumenta el grosor de la mucosa que la reviste. El útero aumenta de 500 a 1,000 veces su capacidad y aumenta su peso de 50grs a 1,000grs aproximadamente al final del embarazo. En el cuello uterino se forma un tapón mucoso (moco muy espeso y adherente) que sella el conducto endocervical, evitando el paso de bacterias u otras sustancias al interior del útero. El tapón mucoso se expulsa al iniciar la dilatación cervical antes del parto. La vagina aumenta su elasticidad, aumentando también la secreción de flujo, el cual se presenta más espeso y generalmente blanco. ⁽²⁾

El pH vaginal se torna más ácido (pH=3-6) por un aumento en la producción de ácido láctico por los lactobacilos presentes, esto protege a la vagina de una colonización patógena bacteriana.

A medida que avanza el embarazo aumenta la población de lactobacilos, por lo que la concentración relativa del resto de la flora es menor. El aumento en la población de la flora normal no patógena contribuye a generar una especie de protección contra la invasión de microorganismos patógenos. Ello se explica por una competencia por terreno y nutrientes de la flora normal no patógena y los microorganismos patógenos que intentan instalarse. Sin embargo éstas condiciones no siempre prevalecen y los microorganismos patógenos en muchas ocasiones finalmente logran invadir el tracto cervicovaginal, además un sobrecrecimiento excesivo de ésta flora hasta ahora no patógena puede dar origen a una infección subclínica.

2.2. EMBARAZO DE ALTO RIESGO

Se denomina Embarazo de Alto Riesgo a la gestación durante la cual la madre, el feto o el recién nacido tienen o tendrán un riesgo elevado de morbilidad o mortalidad antes o después del parto.

Todo embarazo debe evaluarse para determinar si existen o pueden existir factores de riesgo. Pueden estar implicados muchos factores y se debe valorar el peso de cada uno de ellos como un incremento del riesgo. Esta valoración permite que las pacientes de alto riesgo sean derivadas a una clínica o centro de atención perinatal antes del parto, con ello se espera disminuir la morbimortalidad neonatal de forma muy significativa. Las pacientes pueden identificarse como de alto riesgo durante el período anteparto o durante el trabajo de parto. El motivo más frecuente para el traslado a dichos centros de atención perinatal es el riesgo de parto pretérmino, frecuentemente asociado con ruptura prematura de membranas.

2.3. CERVICOVAGINITIS EN EL EMBARAZO

Las infecciones que causan vaginitis pueden afectar a tres estructuras: vulva, vagina y cérvix o cuello uterino.

La flora bacteriana vaginal es un ecosistema dinámico y varía incluso día a día en la mujer. Diversos organismos pueden causar vaginitis, sin embargo, los síntomas en cada tipo de infección son similares. Las infecciones más comunes son la Candidiasis, Tricomoniasis y la vaginitis bacteriana.

Este tipo de infecciones también se han identificado como una causa altamente relacionada de parto pretérmino y ruptura prematura de membrana.

En el Cuadro 1 se describen algunos tipos de infección causantes de cervicovaginitis, así como su efecto o consecuencias sobre el embarazo.

Cuadro 1. Infecciones causantes de cervicovaginitis y sus posibles consecuencias sobre el embarazo.

Tipo de Infección	Posibles consecuencias			
	Aborto espontáneo	Ruptura prematura de membranas	Parto prematuro y bajo peso del recién nacido	Muerte fetal
Vaginitis bacteriana		x	x	
Tricomoniasis			x	
Sífilis	x		x	x
Gonorrea		x	x	

2.3.1. VAGINITIS BACTERIANA.

Microorganismos asociados a la vaginitis bacteriana, y que son capaces de causar complicaciones más serias son el Micoplasma, específicamente *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, además de *Chlamydia trachomatis*.

Dentro de los principales síntomas, la mujer puede presentar prurito, ardor vulvar, flujo grisáceo y con olor fétido que se exacerba después del acto sexual.

El Micoplasma, así como la Clamidia se han vinculado con la ruptura prematura de membranas y parto prematuro, además de corioamniotitis, placentitis, bajo peso del producto al nacer y muertes neonatales.

Además, aunque en menor frecuencia también se han relacionado otras bacterias. Las bacterias que colonizan el tracto cervicovaginal (*Bacteroides fragilis*, *Streptococcus viridans* y algunas micobacterias) producen fosfolipasa A2, enzima que es capaz de iniciar la síntesis de prostaglandinas, por conversión de ácido araquidónico, lo que finalmente estimula las contracciones uterinas.⁽³⁾

En el Cuadro 2 se presentan algunos trastornos asociados a la infección por Micoplasma y Clamidia y los síntomas de este tipo de infección a nivel de tracto reproductivo.

Cuadro 2. Trastornos asociados a la Infección por Micoplasma y por Clamidia y los síntomas de ésta infección en tracto reproductivo.

Mycoplasma	Clamidia
<p>Las bacterias causantes de la micoplasmosis son <i>Mycoplasma hominis</i> y <i>Ureaplasma urealyticum</i>. Son los principales causantes de uretritis en varones. <i>U. urealyticum</i> puede conducir a una corioamniotitis. Además, ambas especies pueden causar ruptura de membranas, e infecciones en neonatos como meningitis, infecciones del tracto respiratorio y septicemia.</p>	<p>El organismo causante de la clamidiasis es <i>Chlamydia trachomatis</i> y se transmite por vía sexual. La bacteria puede infectar la uretra, el cuello uterino o los ojos. En mujeres, la clamidiasis puede causar esterilidad, complicaciones en el embarazo, como ruptura prematura de membranas, o infectar al recién nacido durante el parto.</p>
<p>Síntomas: Generalmente las infecciones generadas en el tracto reproductivo son asintomáticas.</p>	<p>Síntomas: La mayoría de las personas infectadas en tracto reproductivo no presentan síntomas (asintomáticas). Los síntomas más comunes son flujo escaso y transparente de la uretra, enrojecimiento e irritación.</p>

2.3.2. TRANSMISIÓN VERTICAL DE LA INFECCIÓN DE LA MADRE AL FETO.

Las bacterias del tracto cervicovaginal invaden de manera ascendente membranas amnióticas, esto se conoce como "transmisión vertical", causando una infección subclínica que puede traer como consecuencia la amenaza de parto pretérmino. Puede haber, presumiblemente, invasión del líquido amniótico, y siendo éste el medio en que se desarrolla el feto, una de las consecuencias puede ser la prematuridad del recién nacido, así como bajo peso al nacer. Por supuesto, si hay invasión de líquido amniótico, además se deben considerar los posibles efectos de una infección en el producto, entre ellas una conjuntivitis o una neumonía fetal.

En el Cuadro 3 se muestran los posibles efectos sobre el feto una vez que el líquido amniótico es invadido por microorganismos como *Chlamidia* o *Micoplasma*.

Cuadro 3. Posibles efectos sobre el feto al ser invadido el líquido amniótico por *Chlamydia trachomatis* o *Micoplasma*.

Transmisión y posibles efectos en el feto.	
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Oftalmía neonatorum • Neumonía neonatal
Micoplasma	<ul style="list-style-type: none"> • Meningitis neonatal • Infecciones de tracto respiratorio • Septicemia

2001 Population Council, Inc.

Sin tratamiento, muchos de estos padecimientos pueden producir incapacidad e incluso la muerte del neonato.

La prevención y tratamiento de infecciones del tracto reproductivo pueden disminuir la incidencia de muerte perinatal y materna.

2.4. AMENAZA DE PARTO PRETÉRMINO.

Se denomina Parto Pretérmino al comienzo del trabajo de parto con borramiento y dilatación del cérvix antes de las 37 semanas de gestación.

De esta manera la amenaza de parto pretérmino se define como la presentación de contracciones uterinas, rítmicas, entre las 26 y 37 semanas, es decir antes de que la gestación haya llegado a término. Según datos del Servicio de Ginecoobstetricia y Medicina Materno-fetal del CMN 20 de Noviembre del ISSSTE, la frecuencia de parto pretérmino es de 5-10% de todos los embarazos.

Cuando se presenta el parto pretérmino la paciente debe ser valorada para excluir una etiología infecciosa o alguna otra causa (como sobredistensión uterina). Cuando el parto pretérmino es asociado a hemorragia vaginal o rotura de membranas es difícil de detener. Muchas veces es útil el reposo en cama pero, si comienza la dilatación y borramiento cervical, el parto progresa hasta el período expulsivo. El parto pretérmino no asociado con sangrado o flujo de líquido amniótico puede detenerse en el 50% de los casos mediante hidratación y reposo en cama.

Síntomas

- Contracciones uterinas regulares, con o sin dolor.
- Sensación de presión pelviana
- Dolor de espalda, caderas y vientre.
- Cambios en la secreción vaginal
- Cólicos abdominales (con o sin ganas de pujar).

Son múltiples los factores asociados con amenaza de parto pretérmino.

Factores Obstétricos.

Entre estos se incluyen anomalías uterinas, incompetencia cervical, fibromas uterinos, cirugía uterina previa, gestación múltiple, antecedentes de parto pretérmino, intervalo intergenésico menor a dos años, multigravidez, abortos previos, preeclampsia, hipertensión arterial, diabetes materna, polihidramnios y por supuesto las infecciones cervicovaginales. ^(3,4,5)

Otros factores asociados a la amenaza de parto pretérmino.

Entre ellos se mencionan el estrés de la madre, el tabaquismo y el consumo de drogas, así como la actividad sexual en el último trimestre de embarazo. También se deben considerar la edad, peso y talla materna para determinar un riesgo de parto pretérmino.

2.5. RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS

Definición

La ruptura prematura de membranas (RPM) es la ruptura de las membranas corioamnióticas con por lo menos 2 horas antes del inicio del trabajo de parto. Se acompaña frecuentemente de la salida de líquido amniótico por la vagina.

Este evento convierte un embarazo normal en un embarazo de riesgo para la madre y para el feto.

Incidencia

La ruptura prematura de membranas (RPM) tiene una incidencia global de 5 a 10% y se presenta en 30% de los nacimientos prematuros. Es de 3% luego de las 32 semanas, de 28% entre las 28 y 31 semanas y de 31% antes de la semana 28. ⁽³⁾

2.5.1. CARACTERÍSTICAS Y PROPIEDADES DE LAS MEMBRANAS CORIOAMNIÓTICAS.

Al 7mo. u 8vo. día el macizo celular interno se divide en endoblasto y epiblasto. En este último se forma una cavidad tapizada por células llamadas amnioblastos que al diferenciarse constituyen las membranas amnióticas.

El amnios aumenta de tamaño hasta rodear al embrión y termina uniéndose al corion en la 4ª. o 5ª semana cuando desaparece el celoma extraembrionario. ⁽³⁾

Las membranas corioamnióticas poseen propiedades elásticas, mismas que les permiten la capacidad de cierto estiramiento o deformidad.

El amnios posee un grosor de 0.02 a 0.5 mm. Está formado por células cúbicas formando una capa que descansa sobre otra capa de tejido conectivo denso, rico en filamentos de colágeno

2.5.2. INFECCIÓN COMO CAUSA DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.

La infección es la causa a la que se le responsabiliza de la mayor parte de los nacimientos pretérmino con y sin ruptura de membranas:

Algunas membranas son capaces de resistir la infección y terminan con un parto prematuro con bolsa íntegra, pero otras más se rompen dando el cuadro de RPM.

2.5.2.1. Etapas de la infección. ^(3, 4, 5, 6)

La infección sigue varios pasos antes de provocar la ruptura prematura de membranas.

1. La infección cervicovaginal es generada por gérmenes que han sido encontrados posteriormente en el líquido amniótico:

- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Chlamydia trachomatis*
- *Gardnerella vaginalis*
- *Mycoplasma hominis*
- *Ureaplasma urealyticum*
- *Trichomonas vaginalis*
- *Candida albicans*
- *Streptococo grupo B*
- *Anaerobios (Fusobacterium)*
- *Estafilococo aureus*
- Herpes simple

Pueden acceder a la cavidad amniótica por:

- Vía ascendente desde el cérvix o la vagina
- Diseminación hematológica a través de la placenta
- Vía retrógrada desde el peritoneo por las trompas
- Introducción accidental por procedimientos quirúrgicos

La vía ascendente es más frecuente y los gérmenes encontrados en el líquido amniótico son los mismos que se encuentran en el tracto cervicovaginal; la corioamnioítis histológica generalmente se presenta en el sitio de ruptura, y éste por lo general se encuentra muy cerca del cuello, por ejemplo, en el embarazo gemelar la corioamnioítis histológica se ve sólo en el primer feto.

La presencia de microorganismos genera un aumento de los macrófagos que liberan mediadores (citocinas) produciendo una respuesta inflamatoria. Estos mediadores pueden encontrarse en sangre, secreciones vaginales y líquido amniótico.

Los marcadores endógenos de la inflamación estimulan la síntesis de prostaglandinas y aumentan la actividad colagenasa y elastasa.

Marcadores endógenos de la inflamación.

Interleucina 1-2-6-8-10

Factor de necrosis tumoral (TNF)

Factor de activación plaquetaria (PAT)

Factores estimulantes del crecimiento de colonias (CSFs)

Proteína inhibidora de macrófagos 1 alfa (MIP 1 alfa)

Se ha demostrado que los productos bacterianos son una fuente de fosfolípasa A2 y C, pudiendo estimular también por esta vía la producción de prostaglandinas.

La presencia de estos factores vuelve al útero más sensible a la oxitocina y a las prostaglandinas E2 y F2 alfa, trayendo como consecuencia el daño en la membrana y un aumento de la contractilidad uterina por la vía de la adenilciclasa. ⁽³⁾

Estadíos de la infección. ⁽³⁾

Si no se trata y se controla inmediatamente la infección, ésta sigue por varios estadíos:

Estadio I: se da un sobrecrecimiento de microorganismos facultativos o una presencia de microorganismos patológicos en cuello o vagina (vaginitis)

Estadio II: los microorganismos ascienden a la cavidad uterina y se ubican en la decidua (deciduitis).

Estadio III: los microorganismos llegan a la cavidad amniótica (amnioítis), los vasos fetales (coriovasculitis) y/o el corion y el amnios (corioamnioítis)

Estadio IV. los microorganismos llegan al feto, pudiendo causarse una neumonía, bacteriemia o sepsis.

2.5.3. RIESGOS DE RUPTURA PREMATURA DE MEMBRANAS.

Los riesgos de ruptura prematura de membrana son aquellos que en general son riesgos de amenaza de parto pretérmino, pero además es importante enfatizar algunos otros.

Incompetencia ístmico-cervical. Esta permite el ascenso de microorganismos al poner en contacto progresivamente las membranas ovulares con la flora vaginal.

RPM como complicación de la amniocentesis. Esta complicación se presenta con más frecuencia cuando se utiliza la técnica suprapúbica que cuando se realiza la transabdominal.

2.5.3.1. CLINICA DE LA RPM

El signo patognomónico de que ya existe una corioamniotitis es la presencia del líquido amniótico purulento seguido por contractilidad aumentada que no cede a la tocólisis.

La ruptura de membranas en general precede el comienzo del trabajo de parto. Este comienza aproximadamente una hora después de haberse dado dicha ruptura en 35 a 40% de los casos. ⁽¹⁾

En el Cuadro 4 se presentan las diferencias entre la ruptura prematura de membranas (RPM) con y sin infección.

Cuadro 4. Diferencias más claras entre RPM sin la presencia de infección y RPM con infección presente.

RPM sin infección	RPM con infección
Salida de líquido amniótico por los genitales.	Salida de líquido amniótico por los genitales, que en ocasiones puede ser mucopurulento.
Disminución de la altura uterina.	Inicio de contractilidad que no cede a la tocólisis. Taquicardia materna y fetal. Leucocitosis (>15000) con neutrofilia

2.6. EL LÍQUIDO AMNIÓTICO.

El saco amniótico se forma durante la primera semana de gestación a partir de tejido propiamente embrionario. Dicho saco consiste en una capa mesodérmica (el corión) y otra ectodérmica (el amnios). Así, la cavidad amniótica crece ocupando el celoma embrionario. El agua del líquido amniótico se encuentra en equilibrio dinámico con el plasma fetal y el materno. A la par con el avance de la gestación, el líquido amniótico refleja importantes cambios metabólicos del feto, la placenta e incluso la embarazada. Además de su función de protección al feto, el líquido amniótico también constituye una fuente de proteínas para el mismo (del 10 al 15% esta constituido por proteínas). ^(2,7)

La composición original del líquido amniótico es esencialmente la misma que la del líquido intersticial, por lo que se ha considerado que puede ser el resultado de un trasudado de la piel fetal o bien un dializado del suero materno a través de las membranas fetales. Con la maduración del feto, el líquido amniótico sufre una dilución progresiva con la orina hipotónica que el mismo feto produce, aumentando su volumen de aproximadamente 50ml al final del primer trimestre de gestación hasta un promedio de un litro casi al término de la misma. ⁽⁷⁾

2.6.1. LA AMNIOCÉNTESIS.

La amniocentesis es la punción de la más interna de las membranas que forma el saco que contiene el líquido amniótico. Se realiza para extraer dicho líquido y realizar en éste estudios de diagnóstico prenatal de los trastornos congénitos, estudios de bienestar fetal, estimaciones de madurez pulmonar del feto y diagnóstico de infección intraamniótica. ^(8,9)

El momento óptimo para ejecutar la amniocentesis depende del estudio que se requiera de acuerdo a una indicación obstétrica específica y se orienta fundamentalmente a tres campos muy amplios: diagnóstico prenatal de los trastornos congénitos, entre las 14 y 16 semanas de gestación; estudios del estado del feto en cuanto a su bienestar, entre las 28 y 32 semanas; estimaciones de la madurez fetal, alrededor de la semana 36 (entre 30 y 40 semanas de gestación). Además del diagnóstico de infección intraamniótica entre las 26 y 37 semanas de gestación. ⁽⁷⁾

La amniocentesis por tratarse de un procedimiento quirúrgico invasivo debe ser realizado por personal médico especializado y entrenado para el fin.

La elección del mejor sitio para efectuar la punción depende del estadio del embarazo, de la colocación fetal y del criterio médico que utiliza guía ultrasonográfica.

2.7. CLAMIDIA

2.7.1. GENERALIDADES

Las clamidias son bacterias intracelulares no móviles. Aunque consideradas originalmente virus debido a que se multiplican en el citoplasma de las células huéspedes, ahora se las considera bacterias, puesto que contienen tanto ADN como ARN, poseen una pared celular químicamente similar a la de las bacterias gramnegativas y contienen ribosomas. ⁽¹⁰⁾

Se reconocen tres especies en el género *Chlamydia*: *C. psittaci*, *C. pneumoniae* y *C. trachomatis*.

El término Chlamydia viene del griego *Chlamys*, que significa cubierta. Se piensa que las clamidias y las rickettsias tienen un antecesor bacteriano común. Durante mucho tiempo se consideró a las clamidias como virus debido a que poseen algunas propiedades comunes o semejantes. Se reproducen únicamente dentro de las células vivas. Al igual que las bacterias, las rickettsias y los micoplasmas, las clamidias se reproducen por fisión binaria. Las clamidias presentan síntesis proteica independiente y poseen DNA y RNA juntos, mientras que los virus tienen DNA o RNA pero no ambos. ^(10, 11, 12)

Son susceptibles a antibióticos, lo que también las diferencia de los virus. Con las bacterias comparten las siguientes propiedades en general:

- a) División binaria
- b) Posesión de paredes celulares.
- c) Presencia de DNA y RNA al mismo tiempo.
- d) Posesión de ribosomas
- e) Susceptibilidad a los antibióticos.

A pesar de poseer DNA y RNA juntos, requieren la producción de ATP por parte de la célula hospedadora.

2.7.2. MORFOLOGÍA Y CICLO DE CRECIMIENTO DE LA CHLAMYDIA.

Todos los miembros pertenecientes al género *Chlamydia* son pequeñas bacterias intracelulares, que se reproducen por fisión binaria. En las células que invaden producen corpúsculos de inclusión grandes.

Producen dos tipos de inclusiones citoplasmáticas, la primera con una forma esférica, de 300nm y una porción central más densa, reciben el nombre de cuerpos elementales (CE) o clamidiosporas, y son los cuerpos de transporte, siendo altamente infecciosos y resistentes al estado extracelular. Cuando estos cuerpos elementales penetran a la célula huésped, aumentan de tamaño, convirtiéndose en cuerpos reticulados (CR) o iniciales (segundo tipo de inclusión), de 800 a 1200nm, sin capacidad infectiva, y cuyo periodo de evolución es de aproximadamente 24 horas. Posteriormente, sufren una división por fisión binaria dando lugar a nuevos cuerpos elementales infecciosos. ⁽¹²⁾

En la Figura 1 se muestra el ciclo de crecimiento de *C. trachomatis*, apreciándose los dos tipos de inclusión arriba mencionados.

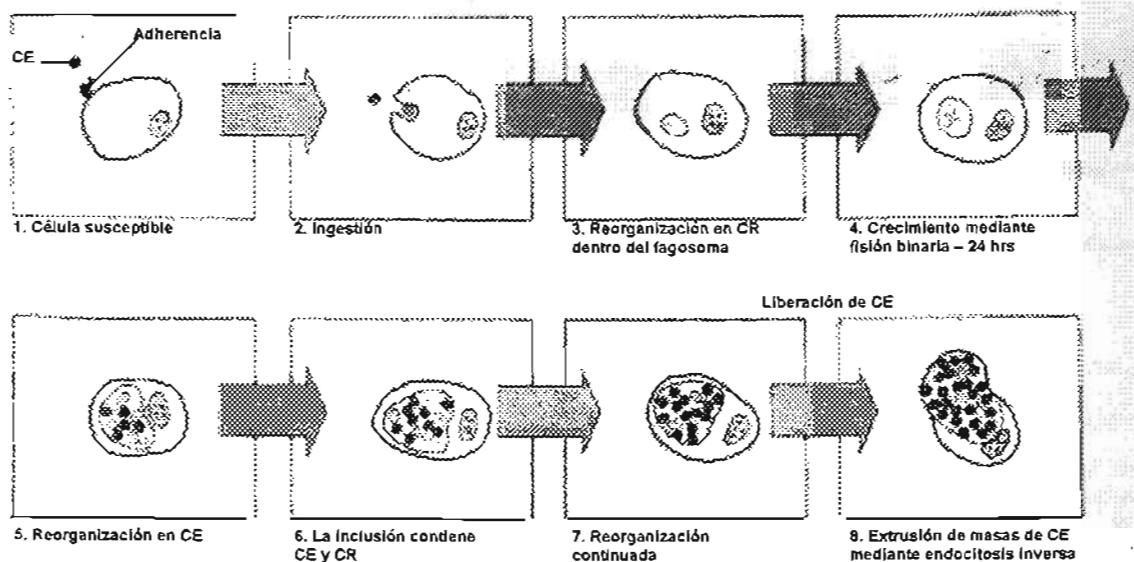


Figura 1. Ciclo de Crecimiento de *C. trachomatis* (modificado de Batteiger y Jones B: *Infect Dis Clin North Am* 1:55-81, 1987) por Murray, P., "Microbiología Médica" 2a. Ed.

El género se divide en dos subgrupos A y B. El primero incluye a *Chlamydia trachomatis*, puesto que posee en sus inclusiones una matriz de glicógeno y es sensible a la sulfadiazina. El segundo incluye a *C. psittaci* y *C. pneumoniae* y carece de ambas características.

A la coloración de Gram son negativos, tiñéndose fácilmente con colorantes básicos. Con el colorante de Giemsa, aparecen rojos, con la coloración de Macchiavello, se observan rojos, y con la de Castañeda se aprecian de un color azul intenso.

Aunque *Chlamydia* es sensible a los antibióticos que inhiben la síntesis de mureína, las pruebas químicas para la mureína han resultado negativas. Aparentemente, la pared no contiene ácido murámico (u otro aminoazúcar) de manera que la rigidez de la clamidiospora o cuerpo elemental y la sensibilidad de las células vegetativas a los antibióticos que inhiben el enlace cruzado de peptidoglucano, tienen una base desconocida. En otros aspectos, la cubierta celular es similar a la de otras bacterias Gram-negativas, incluyendo la presencia de lipopolisacárido en la membrana externa. ⁽¹⁰⁾

2.7.3. INFECCIONES PRODUCIDAS POR *Chlamydia trachomatis*.

C. trachomatis es una de las causas más comunes de enfermedades de transmisión sexual, incluyendo uretritis no gonocócica y epididimitis en hombres; cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica en las mujeres; síndrome de Reiter, conjuntivitis y neumonía neonatales debidas a transmisión desde la madre. Actualmente se considera como uno de los factores que pueden encaminar a un parto pretérmino. ^(10, 11, 12)

En el Cuadro 5 se hace referencia a los tipos de infección producidas por *C. trachomatis*, así como las posibles complicaciones de las mismas.

Cuadro 5. Tipos de infección producidas por *C. trachomatis* y sus posibles complicaciones.

Huésped	Infección	Complicaciones
Mujeres, hombres, niños	Tracoma, conjuntivitis, uretritis	Ceguera
Mujeres	cervicitis	Salpingitis, endometritis, embarazo ectópico, infertilidad, endometritis postparto
Hombres	proctitis	Epididimitis, Síndrome de Reiter
Lactantes	Conjuntivitis, neumonía, colonización asintomática faríngea y gastrointestinal.	Estenosis rectal, Obstrucción linfática

Fuente: Murray p, "Microbiología" 2ª. Ed, 1997

2.7.3.1. RIESGOS DE CONTRAER UNA INFECCIÓN POR *C. trachomatis*.

Al igual que en otras enfermedades de transmisión sexual, diversos estudios han encontrado las conductas de riesgo asociadas a la infección, como se enumeran a continuación:

- Cambios recientes de pareja sexual y múltiples compañeros sexuales (más de 3).
- Síntomas genitales como cervicitis y la presencia de otra enfermedad de transmisión sexual.

Así como con otras enfermedades de transmisión sexual, las mujeres están más propensas a ser infectadas, ya que éstas poseen una capa de células delgada y vulnerable en el cuello de la matriz o cérvix haciéndolas más vulnerables a presentar inflamación del mismo. (cervicitis) y por consiguiente, a infecciones por clamidia.

2.7.3.2. SIGNOS Y SÍNTOMAS EN UNA INFECCIÓN DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR *C. trachomatis*.

Generalmente la infección por *C. trachomatis* en tracto genital es asintomática, pero los signos y síntomas, si existen, aparecen por lo regular entre una a dos semanas luego de la infección. Los síntomas son similares a los de otra enfermedad de transmisión sexual, la gonorrea.

En algunas mujeres puede existir una leve secreción vaginal o dolor en el abdomen o pelvis; cuando la bacteria está localizada en el cérvix, la infección toma el nombre de cervicitis; cuando invade uretra recibe el nombre de uretritis no gonocócica para diferenciarla de la uretritis gonocócica (gonorrea). Cualquier contacto íntimo de los genitales, área rectal y boca o el compartir artículos para el estímulo sexual puede dar lugar a síntomas por la infección, los cuales se describen a continuación.

Es importante tomar en cuenta que el flujo vaginal anormal puede ser la manifestación de infecciones causadas por diferentes microorganismos.

En hombres la uretra por lo general es el lugar afectado llegando a estar irritada; puede ocurrir secreción uretral, dolor al orinar o aumento de la frecuencia de orinar. La infección persistente puede causar inflamación de la próstata o de los testículos.

Complicaciones más frecuentes.

- Enfermedad pélvica inflamatoria.
- Dolor pélvico crónico
- Adhesiones pélvicas o cicatrización
- En embarazadas, inicio de trabajo de parto prematuro.

Puede ocurrir cicatrización de las trompas de Falopio, que conectan los ovarios al útero, lo que puede causar un embarazo ectópico e infertilidad si no existe un tratamiento adecuado.

2.7.3.3. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR *C. trachomatis*.

Todas las Clamidias son sensibles a la tetraciclina y al cloranfenicol.

2.7.4. IMPACTO DE LA CHLAMYDIA DURANTE EL EMBARAZO.

La Clamidia puede pasar de madre a feto durante el parto. La infección por Clamidia en los recién nacidos puede causar conjuntivitis neonatal y neumonía. Además la Clamidia puede ser causa de un parto prematuro.

La frecuencia de mujeres embarazadas infectadas por *C. trachomatis* en los Estados Unidos de Norteamérica, oscila entre el 2 al 26% ⁽¹³⁻²¹⁾.

2.7.5. MÉTODOS DE DETECCIÓN DE LAS CLAMIDIAS.

Estos microorganismos poseen antígenos que pueden ser demostrados por técnicas de fijación de complemento, inhibición de hemaglutinación, neutralización y sensibilidad dérmica. Son termoestables.

Las inoculaciones de secreciones en cultivos celulares de Mc.Coy irradiados proporciona un diagnóstico de mayor sensibilidad, especialmente para el grupo A. Sin embargo es un método que requiere mayor costo y tiempo que la técnica de microinmunofluorescencia, con la que se ha conseguido la diferenciación de 15 inmutipos. ⁽¹²⁾

2.7.6. FUNDAMENTO DE LA UTILIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE INMUNOFLUORESCENCIA DIRECTA PARA LA DETECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis*.

La unión antígeno-anticuerpo es específica, cada anticuerpo reconoce y se une a un determinado antígeno. Esta unión se realiza por medio de uniones intermoleculares entre el antígeno y la zona del anticuerpo, y da lugar al complejo antígeno-anticuerpo según el modelo llave-cerradura.

La inmunofluorescencia directa es la modalidad de inmunofluorescencia en la cual los anticuerpos marcados con fluorocromos* se unen directamente al antígeno. En este caso la técnica de inmunofluorescencia directa para la detección de *C. trachomatis* consiste en incubar la muestra con anticuerpos monoclonales marcados con: isocianato de fluoresceína (FITC); así los antígenos monoclonales se unen específicamente a determinantes antigénicos presentes en la superficie celular de las clamidias. ⁽²¹⁾

En la medida que una muestra directa puede dejar ver cuerpos elementales extracelulares o corpúsculos de inclusión o ambos, el diagnóstico tendrá que basarse solamente en la presencia de cuerpos elementales. La mayor parte de los métodos de coloración no pueden detectar cuerpos elementales; por lo tanto, el diagnóstico de una infección por clamidia se ha basado en un cultivo celular, el cual es un procedimiento con ciertos requerimientos técnicos y que lleva un tiempo considerable. Puesto que con el *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak® se pueden detectar y distinguir (poder de resolución) cuerpos elementales en muestras directas de pacientes, este análisis proporciona un procedimiento simple y rápido para el diagnóstico de una infección por clamidia. ⁽²¹⁾

2.7.6.1. PRINCIPIO DE LA TÉCNICA.

Se cuenta con un preparado de anticuerpos monoclonales contra la membrana proteica externa presente en los 18 serotipos humanos conocidos de *C. trachomatis* y en las dos formas del organismo (el cuerpo elemental infeccioso y el cuerpo reticulado de réplica metabólicamente activo). Los anticuerpos están marcados con isocianato de fluoresceína. La muestra se aplica directamente sobre una concavidad de lámina y se colorea con el reactivo, el anticuerpo conjugado se une específicamente con cualquier *C. trachomatis* presente en el frotis. Se utiliza un enjuague para eliminar los anticuerpos no unidos. Así, cuando se ven las preparaciones en un microscopio de fluorescencia, los frotis coloreados de muestras de Clamidia positiva contienen cuerpos elementales o reticulados verde-manzana, contrastados con el fondo marrón-rojizo de las células con contratinción. ⁽²¹⁾

Los fluorocromos son sustancias que tienen la propiedad de emitir luz de una longitud de onda determinada cuando captan (son excitados) por una luz incidente de una longitud de onda característica.*

2.8. MICOPLASMA.

2.8.1. GENERALIDADES.

Los micoplasmas son organismos sin paredes celulares. Poseen una estructura celular extremadamente simple. Son uno de los organismos más pequeños capaces de crecimiento autónomo

A través de diversos análisis químicos se ha demostrado que no poseen componentes clave de la pared como el ácido murámico y el ácido diaminopimélico. Sin embargo, aunque se asemejan a los protoplastos por la carencia de dicha pared celular, son más resistentes a la lisis osmótica que éstos, ya que poseen una membrana celular compuesta por tres capas, la cuál es sumamente estable. ^(10,11)

En un grupo de micoplasmas los responsables de esta estabilidad parecen ser los esteroides, mientras que en otros los carotenoides u otros compuestos. Pero este tipo de micoplasmas que posee esteroides en su estructura no los sintetizan por sí mismos, sino que los necesitan preformados en el medio de cultivo.

Así en base a su requerimiento de esteroles, los micoplasmas se dividen en tres géneros:

Mycoplasma	Requiere de esteroides
Acholeplasma	No requiere de esteroides.
Thermoplasma	No requiere de esteroides, pero además son termófilos.

Debido a que carecen de pared celular, los micoplasmas no pueden teñirse con el colorante de Gram. En general tienen muy mala coloración con los colorantes de anilina. ⁽¹²⁾

Las células de Mycoplasma son en general muy pequeñas y muy pleomórficas a consecuencia de su falta de rigidez. Una sola muestra o cultivo puede presentar desde elementos cocoides, formas hinchadas mayores y estructuras filamentosas de longitudes variables, con frecuencia muy ramificadas. De esta producción de formas filamentosas con apariencia de hongo deriva el nombre de Micoplasma (myco=hongo). ^(10, 11, 12)

El crecimiento en medio líquido puede dar lugar a muchas formas diferentes, entre ellas anillos, cuerpos bacilares y espiralados, filamentosos y gránulos o cocos. Por su parte los elementos cocoides (de 0.2 a 0.3 μm) son las unidades más pequeñas de Mycoplasma capaces de crecimiento independiente.

Es difícil su observación en un microscopio óptico, y en general se observan en el microscopio electrónico. Debido a que no poseen pared celular no se emplea la tinción de Gram para su observación.

Las observaciones microscópicas sugieren que la replicación de los micoplasmas se da por fragmentación de células filamentosas que contienen diversos componentes del ADN. Aunque en realidad el mecanismo aún no se halla totalmente claro.

La mayoría de los Mycoplasmas requieren para su crecimiento medios de cultivo muy complejos. Después de 2 a 6 días de incubación en un medio especial de ágar sólido, pueden observarse con una lupa colonias aisladas con un tamaño de 20 a 500µm. Dichas colonias son redondas, de superficie granular y con apariencia de "huevo frito".

2.8.2. METABOLISMO DE LOS MICOPLASMAS.

El metabolismo energético de los micoplasmas no es único en todas sus especies. Algunas especies son oxidadoras; poseen el sistema citocromo y producen ATP por fosforilación oxidativa. Otras especies son estrictamente fermentativas y producen energía por fosforilación a nivel del sustrato, produciendo ácido láctico como producto final de la fermentación del azúcar. ⁽¹⁰⁻¹²⁾

Muchos micoplasmas utilizan la glucosa como fuente de carbono y energía, los ureaplasmas requieren urea, en particular *M. hominis* requiere de arginina. Además los micoplasmas tienen afinidad por las membranas celulares.

2.8.3. INFECCIONES PRODUCIDAS POR LOS MICOPLASMAS EN EL TRACTO GENITOURINARIO Y SU EFECTO EN EL EMBARAZO.

Algunos micoplasmas son flora normal de las vías genitourinarias, particularmente en las mujeres. En las embarazadas, la portación y sobrecrecimiento de ciertas especies de micoplasma en el cervix, como *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, se ha asociado con coriamnionitis y bajo peso del recién nacido. ⁽¹⁰⁻¹²⁾

Ureaplasma urealyticum que requiere urea para su desarrollo, también se ha relacionado con amenaza de aborto, abortos, partos pretérmino y neumonía intersticial del recién nacido. También se ha asociado con poca frecuencia a estos microorganismos y a *M. hominis* con vaginitis, salpingitis, enfermedad inflamatoria pélvica y fiebre postparto. ⁽¹⁰⁻¹²⁾

Algunos estudios han relacionado la presencia en el tracto cervicovaginal de *U. urealyticum* y/o *M. hominis* con la ruptura prematura de membranas.

En caso de abortos sépticos ha sido posible cultivar *M. hominis* y *U. urealyticum* a partir de los tejidos fetales.

Diversos estudios a nivel internacional reportan prevalencia de *M. hominis* para mujeres embarazadas de un 7 a un 18%, mientras que se ha reportado la prevalencia de *U. urealyticum* de un 18 a un 57%. ⁽²²⁻³¹⁾

2.8.3.1. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

Las muestras consisten en secreciones uretrales o genitales.

La observación microscopía directa es inútil. Las muestras se siembran en medios sólidos especiales y se incuban a 37°C de 3 a 7 días, o en caldos especiales que se incuban aeróbicamente. Las colonias formadas por lo general tienen un aspecto de "huevo frito".

Es necesario realizar al menos una resiembra para obtener un crecimiento adecuado que permita la observación microscópica ya sea por tinción o inmunofluorescencia.

El método de microcultivo e identificación a partir de su capacidad para metabolizar arginina (*M. hominis*) o urea (*U. urealyticum*) ha sido poco utilizado, sin embargo ha demostrado ser un método práctico, rápido y muy sensible. ⁽³²⁾

2.8.3.2. TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR MICOPLASMA.

El crecimiento de los micoplasmas no es inhibido por la penicilina y otros antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular, pero son sensibles a otros antibióticos que actúan sobre objetivos distintos de la pared. El desarrollo de estos microorganismos puede suprimirse con espectinomicina. Las tetraciclinas y eritromicina en dosis de 2g diariamente para los adultos pueden dar una mejoría clínica pero no erradican al micoplasma. ⁽¹¹⁾

2.8.4. FUNDAMENTO DE LA UTILIZACIÓN DE LA TÉCNICA DE MICROCULTIVO PARA LA DETECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE *U. urealyticum* y *M. hominis* A PARTIR DE SU METABOLISMO. ⁽³²⁾

Los microcultivos son pruebas simples que se han desarrollado para demostrar en forma clara una determinada característica bioquímica como presencia o ausencia de una determinada actividad enzimática, determinada vía metabólica, crecimiento a una determinada temperatura, crecimiento en presencia de inhibidores, etc. No significan de ninguna manera un estudio profundo del metabolismo bacteriano.

En este caso los microcultivos se utilizan para determinar la actividad de una vía metabólica a partir de un sustrato que se incorpora en un medio de cultivo y que la bacteria al crecer transforma o no.

La técnica consiste en cultivar el microorganismo en un medio que contiene un determinado sustrato y luego de la incubación visualizar el crecimiento y la degradación de dicho sustrato, ya sea por viraje de un indicador o por agregado de un reactivo revelador de la presencia del sustrato, o de algún producto de su degradación.

Algunas bacterias como *Ureaplasma urealyticum* hidrolizan la urea por medio de la enzima ureasa liberando amoníaco y dióxido de carbono. Estos productos alcalinizan el medio generando un viraje en el indicador, que generalmente es el rojo de metilo.

El *Mycoplasma hominis* es capaz de degradar la arginina, primero por la ruta de la arginasa, en la que se produce ornitina y urea, después mediante la hidrólisis final de la urea por la enzima ureasa, generando amoníaco y dióxido de carbono lo que provoca un viraje en el indicador rojo de metilo debido a la alcalinización del medio.

Así, *U. urealyticum* metaboliza la urea, mientras que *M. hominis* es capaz de metabolizar arginina.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se desea conocer la frecuencia de infección del tracto reproductivo por microorganismos como *C. trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, particularmente en la población de pacientes con embarazo de alto riesgo, derechohabientes que acuden al Servicio de Medicina Materno-Fetal en el CMN "20 de Noviembre", ISSSTE. Hasta la fecha la información sobre estudios de la presencia de estos microorganismos en líquido amniótico es escasa, y su detección solo se ha logrado mediante cultivos que suelen ser costosos y cuyo tiempo para obtener un resultado es muy largo.

Se sabe que estos microorganismos se transmiten vía sexual, y la importancia de conocer la frecuencia de infección por los mismos se debe a que éstos además de provocar una cervicovaginitis, se hallan relacionados a la ruptura prematura de membranas, amenaza de parto pretérmino, cuya principal consecuencia es la prematuridad del recién nacido, que trae a su vez la posibilidad de la inmadurez pulmonar, entre otros trastornos al producto.

También se sabe que algunas infecciones pueden ser adquiridas por el producto durante el parto, al tener éste contacto con las secreciones de la madre. Incluso algunos microorganismos son capaces de invadir de manera ascendente las membranas amnióticas y atravesarlas provocando una coriamnioitis e infecciones al feto como conjuntivitis o neumonía fetal.

Por lo anterior, surgen las siguientes interrogantes.

¿Cuál es la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal de estos microorganismos para nuestra población de estudio?

¿Podremos detectar estos microorganismos en líquido amniótico utilizando las mismas técnicas que para su búsqueda en tracto cervicovaginal?

¿Con que frecuencia podrán estos microorganismos atravesar membranas e invadir líquido amniótico?

4. OBJETIVO GENERAL

Conocer la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal (TCV) y líquido amniótico (L.A.) por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, en la población de pacientes con embarazo de alto riesgo de 26 a 37 semanas de gestación, atendidas en el Servicio de Medicina Materno-Fetal del CMN "20 de Noviembre" del ISSSTE.

4.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Desarrollar y describir el procedimiento adecuado para la detección de *C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum*, en líquido amniótico.
2. Conocer la frecuencia con la que el microorganismo encontrado en tracto cervicovaginal también es hallado en líquido amniótico.

5. HIPÓTESIS

Se considera la importancia de conocer la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal y líquido amniótico por microorganismos como *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*, mismos que han sido asociados a la amenaza de parto pretérmino, a la ruptura prematura de membranas y bajo peso al nacer. Es de particular interés la población de pacientes con embarazo de alto riesgo derechohabientes del ISSSTE que acuden al Servicio de Medicina Materno-Fetal en el CMN "20 de Noviembre".

Por lo anterior, se establecen las siguientes hipótesis de trabajo:

1. Se espera que la frecuencia de infección de *Chlamydia trachomatis* en tracto cervicovaginal sea similar a lo reportado en estudios semejantes y que al menos en un 60% del líquido amniótico de las pacientes infectadas a nivel genital se detecte la presencia de este microorganismo.
2. Se espera que la frecuencia de infección de *Mycoplasma hominis* en tracto cervicovaginal sea similar a la reportado en estudios semejantes y que al menos en un 60% del líquido amniótico de las pacientes infectadas a nivel genital se detecte la presencia de este microorganismo.
3. Se espera que la frecuencia de infección de *Ureaplasma urealyticum* en tracto cervicovaginal sea similar a lo reportado en estudios semejantes y que al menos en un 60% del líquido amniótico de las pacientes infectadas a nivel genital se detecte la presencia de este microorganismo.

6. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo de investigación es de tipo observacional, prolectivo, transversal y descriptivo, que incluyó a pacientes con embarazo de alto riesgo, entre 26 y 37 semanas de gestación, atendidas en el Servicio de Medicina Materno-fetal del CMN "20 de Noviembre" del ISSSTE, y que al momento del estudio mostraban sintomatología de infección cervicovaginal o amenaza de parto pretérmino.

7. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Se incluyen en el estudio todas las pacientes con embarazo de alto riesgo, con 26 a 37 semanas de gestación, atendidas en el Servicio de Medicina Materno-Fetal del CMN "20 de Noviembre" del ISSSTE, que muestren sintomatología de infección en dicho tracto o amenaza de parto pretérmino. Y además de las cuales se pueda obtener toda la información de las variables consideradas en el estudio.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Se excluyen del estudio aquellas pacientes con menos de 26 semanas de gestación o más de 37 semanas de gestación al momento del interrogatorio.

8. METODOLOGÍA.

Se incluyeron a 52 pacientes con embarazo de alto riesgo, atendidas en el Servicio de Medicina Materno-Fetal, del CMN "20 de Noviembre" ISSSTE, en el periodo comprendido de 2 de Mayo del 2001 al 1º. de Abril de 2002, que cumplieron con todos los criterios de inclusión; embarazos de 26 a 37 semanas de gestación por ultrasonido, y que mostraron síntomas de infección cervicovaginal o amenaza de parto pretérmino.

Se realizó un registro continuo de dichas pacientes, según acudieran a atenderse en el Servicio de Medicina Materno-fetal, en el que se incluyeron sus características descriptivas (nombre, edad, semanas de gestación, diagnóstico presuntivo). Se tomaron las muestras cervicovaginales para detección de *C. trachomatis* y Micoplasma y se procesaron dentro de los 7 días posteriores.

Se dio seguimiento a la evolución de estas pacientes, y de aquellas programadas para amniocentesis se obtuvo una muestra de líquido amniótico para detección de los microorganismos anteriores. Se procesaron las muestras dentro de los 2 días subsecuentes.

Se realizó la detección de *C. trachomatis* en tracto cervicovaginal y líquido amniótico mediante una técnica de inmunofluorescencia, utilizando *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak®. La detección de Micoplasma (*Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum*) en tracto cervicovaginal y líquido amniótico se realizó mediante una técnica de microcultivo en base al metabolismo de estos microorganismos, utilizando Mycoplasma Duo.

De aquellas pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, y de las cuales se hayan obtenido y procesado muestras de tracto cervicovaginal y de líquido amniótico al final del periodo de estudio, se realizó la revisión del expediente para obtener todos los datos necesarios para completar el estudio, incluyendo la evolución del embarazo.

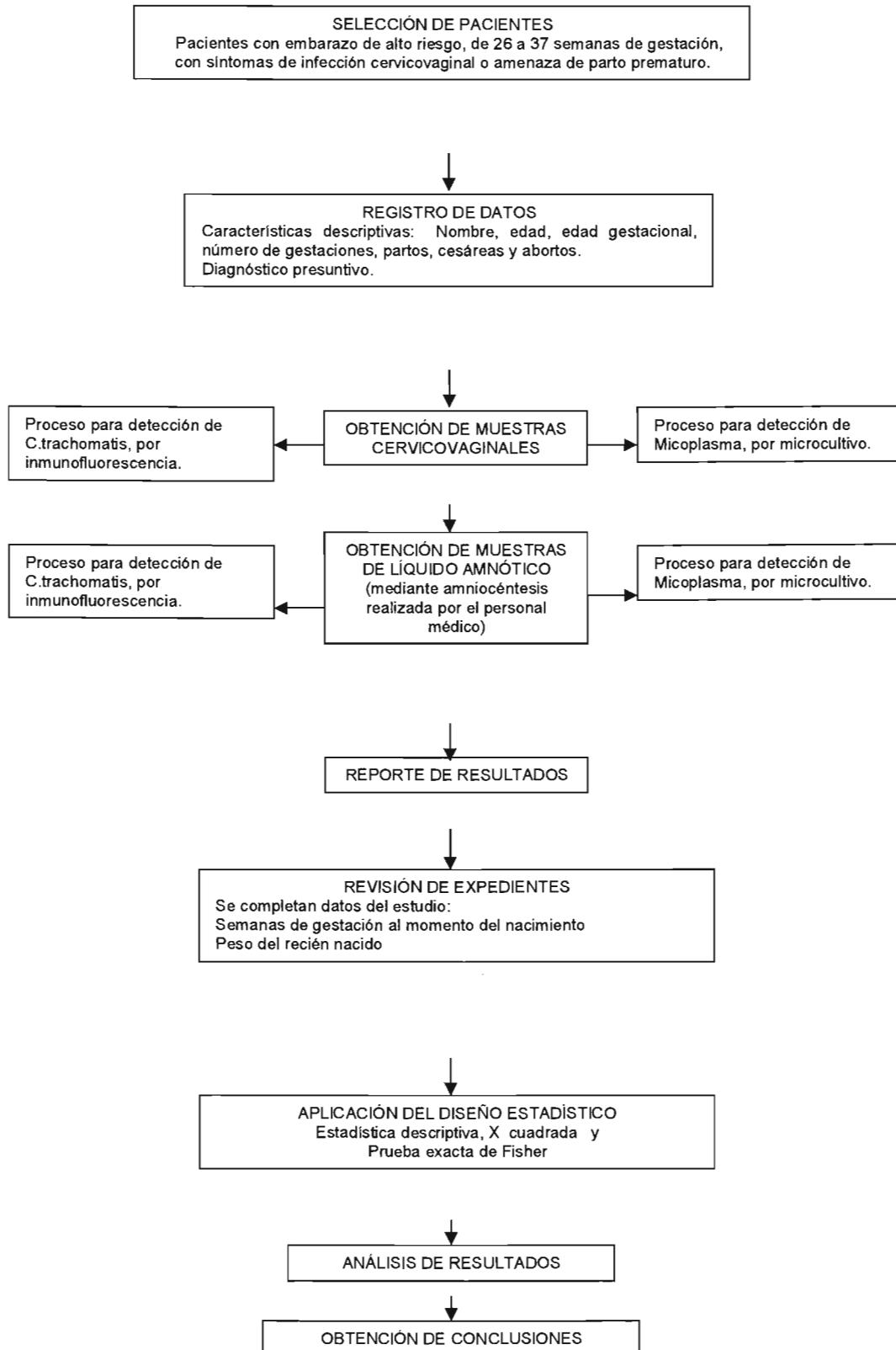
Por último, se efectuó el análisis estadístico de los resultados para obtener conclusiones.

8.1. DISEÑO ESTADÍSTICO

El diseño estadístico incluye:

1. Estadística descriptiva.
2. Prueba de hipótesis, χ^2 cuadrada
3. Prueba exacta de Fisher

METODOLOGÍA DIAGRAMA DE FLUJO



9. MATERIAL, REACTIVOS Y EQUIPOS.

9.1. MATERIAL PARA TOMA DE MUESTRA CERVICO-VAGINAL

9.1.1. Para detección de *C. trachomatis*.

- Cepillos citológicos estériles
- Láminas de vidrio con concavidad
- Ampolletas de metanol para fijar la muestra.

9.1.2. Para detección de *M. hominis* y *U. urealiticum*.

- Hisopo estéril
- Viales con medio de suspensión preparado para toma y transporte de muestras (MYCOPLASMA DUO).

9.2. MATERIAL Y EQUIPO PARA TOMA Y MANEJO DE MUESTRA DE L.A.

El líquido amniótico se obtiene en el quirófano por el procedimiento de amniocentesis.

9.2.1. Material para manejo de la muestra en el laboratorio:

- Tubos cónicos de propileno de 15ml, graduados, con tapón de rosca estériles.
- Pipetas Pasteur estériles.
- Tubos de ensayo de 13 X 100.

9.2.2. Equipo para el manejo de la muestra en el laboratorio:

- Centrífuga

9.2.3. Material para la preparación de la muestra de L.A. para la detección de *C. trachomatis*:

- Láminas de vidrio con concavidad.
- Ampolletas de metanol para fijar la muestra

9.2.4. Material para la preparación de la muestra de L.A. para la detección de *M. hominis* y *U. urealiticum*:

- Viales con medio de suspensión preparado para toma y transporte de muestra (MYCOPLASMA DUO).

9.3. REACTIVOS, MATERIAL Y EQUIPO PARA EL PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS

9.3.1. Detección de *C. trachomatis* en muestras cervicovaginales y muestras de líquido amniótico:

9.3.1.1. Reactivos

- Kit *Chlamydia trachomatis* directa , MycroTrak (por inmunofluorescencia)
 - Reactivo para *C. trachomatis*, liofilizado
 - Diluyente de reconstitución
 - Fluido de montaje
- Agua destilada
- Aceite de inmersión

9.3.1.2. Material

- Pipeta graduada de 2ml estéril.
- Pipeta automática de 25µl.
- Puntas para pipeta automática.
- Gasas húmedas.
- Papel absorbente
- Rejilla.
- Cubreobjetos.

9.3.1.3. Equipo

- Microscopio de fluorescencia
 - con un primer filtro de 450 a 490nm,
 - un segundo filtro de 520 a 560nm
 - y un objetivo de 100x

9.3.2. Detección de *M. hominis* y *U. urealiticum* en muestras cervicovaginales y muestras de líquido amniótico:

9.3.2.1. Reactivos:

- Kit Mycoplasma Duo para identificación y titulación diferencial.
 - Microplacas de 6 pocillos
 - 2 pocillos de sustrato deshidratado para identificación y titulación diferencial de *U. urealiticum*.
 - 2 pocillos de sustrato deshidratado para identificación y titulación diferencial de *M. hominis*.
 - 1 pocillo de enriquecimiento.
 - 1 pocillo de dilución.
 - Frasco de diluyente con tapón cuentagotas.

9.3.2.2. Material

- Micropipetas de plástico
- Hojas adhesivas.

9.3.2.3. Equipo

- Estufa a 37° C.

10. PROCEDIMIENTO

La detección de *C. trachomatis* se lleva a cabo mediante una técnica de inmunofluorescencia, utilizando la prueba *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak®, mientras que la detección de *M. hominis* y *U. urealyticum* se realiza mediante una técnica de microcultivo, utilizando la prueba *Mycoplasma Duo*.

Dichas pruebas se utilizan en muestras cervicovaginales de la manera habitual, pero probaremos utilizar las mismas para la detección de estos microorganismos en líquido amniótico, para lo cual primero se debe preparar la muestra de líquido en el laboratorio

10.1. TOMA DE MUESTRA CERVICOVAGINAL PARA IDENTIFICACIÓN DE *C. trachomatis*.

Este procedimiento es realizado por un médico, o bien, por personal clínico entrenado.

Se deben tener todas las precauciones de manejo y desecho de materiales biológicos potencialmente infecciosos.

1. Limpiar el exocuello con una torunda de algodón estéril, para limpiar el exceso de secreción mucosa. Desechar la torunda
2. Introducir cuidadosamente el cepillo citológico en el canal endocervical.
3. Tocando la pared cervical, girar el cepillo citológico una vuelta completa (360°).
4. Retirar el cepillo raspando ligeramente la pared vaginal, con la finalidad de obtener un buen número de células representativas de todo el tracto cervicovaginal.
5. Preparar la lámina inmediatamente después de retirar el cepillo.

10.1.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA APLICAR SOBRE LAS LÁMINAS.

1. Colocar la parte del cepillo citológico que contiene la muestra horizontalmente en el centro de la concavidad de la lámina.
2. Girar el cepillo aplicando cierta presión, moviéndolo hacia delante y hacia atrás a través de la concavidad.
3. Verificar que el frotis cubra toda la concavidad.
4. Dejar que la muestra seque completamente al aire.
5. Colocar la lámina horizontalmente, e inundarla con 0.5 ml de metanol, para fijar la muestra, y dejar que el líquido se evapore por completo.

10.1.2. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

Láminas preparadas para detección de *C. trachomatis*.

Si la muestra no va a ser procesada inmediatamente para su lectura, se debe almacenar de la siguiente forma:

Las láminas preparadas deben ser almacenadas en sus empaques de cartón individuales, los cuales deben ser etiquetados con los datos de la paciente y la fecha de la toma. Deberán mantenerse a la siguiente temperatura:

- A temperatura ambiente de 20° a 30° C, hasta por 24 horas.
- En refrigeración, entre 2° a 8° C, hasta por siete días después de la toma de la muestra.
- A -20° C por más de 7 días y hasta 3 meses.

Si la muestra por algún motivo debiera ser transportada, se recomienda realizarlo bajo las mismas condiciones de almacenamiento, utilizando para el fin una caja de material aislante (unicel) con bolsas de gel refrigerante, hielo o hielo seco.

10.2. TOMA DE MUESTRA CERVICOVAGINAL PARA IDENTIFICACIÓN DE *M. hominis* y *U. urealiticum*.

Este procedimiento es realizado por un médico, o bien, por personal clínico entrenado.

Se deben tener todas las precauciones de manejo y desecho de materiales biológicos potencialmente infecciosos.

1. Limpiar el exocuello con una torunda de algodón estéril, para limpiar el exceso de secreción mucosa. Desechar la torunda.
2. Introducir cuidadosamente un hisopo de algodón en el canal endocervical.
3. Realizar un raspado de la pared cervical, para obtener un buen número de células.
4. Bajando cuidadosamente el hisopo, realizar un raspado de la pared vaginal.
5. Retirar el hisopo con mucho cuidado.
6. Inocular la muestra en 2ml de medio de suspensión, contenidos en el vial (Mycoplasma Duo), sumergiendo y agitando ligeramente el hisopo dentro del vial. El medio de suspensión debe estar previamente a temperatura ambiente.
7. Desechar el hisopo y tapar perfectamente el vial.

10.2.1. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

Viales con muestra para identificación de *M. hominis* y *U. urealyticum*

La muestra puede almacenarse para su posterior procesamiento:

- Durante 24 horas, a temperatura ambiente.
- Hasta 48 horas, entre 2° y 8° C.
- Hasta 6 meses, congelado a -20° C.

Si fuera necesario la muestra debe transportarse en el medio de suspensión. Se recomienda realizarlo bajo las mismas condiciones de almacenamiento, utilizando para el fin una caja de material aislante (unicel) con bolsas de gel refrigerante, hielo o hielo seco.

10.3. TOMA DE MUESTRA DE LÍQUIDO AMNIÓTICO.

La muestra de L.A. se obtiene mediante el procedimiento de amniocentesis, misma que por tratarse de un procedimiento quirúrgico invasivo debe ser realizado por personal médico especializado y entrenado para el fin, y dentro de un área totalmente aséptica como el quirófano.

10.3.1. MANEJO DE LA MUESTRA DE LÍQUIDO AMNIÓTICO.

1. La muestra debe ser manejada en condiciones de asepsia y antisepsia.
2. Se quita la aguja de la jeringa, y se vacían 10ml de L.A. a un tubo cónico estéril con tapón de rosca.
3. Se coloca el tapón para sellar perfectamente el tubo.
4. Se centrifuga la muestra a 3000 rpm durante 10 minutos.
5. Se decantan 8 ml del sobrenadante de L.A. (el cual es utilizado para otras pruebas habituales del laboratorio de Medicina Materno-fetal), en un tubo de ensayo.
6. Se resuspende el botón celular en los 2ml del L.A. que quedaron en el tubo cónico.
7. Con el resuspendido anterior se prepara la muestra para detección de *C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum*.

10.3.2. PREPARACIÓN DE LA LÁMINA PARA DETECCIÓN DE *C. trachomatis* EN LÍQUIDO AMNIÓTICO.

1. Colocar una lámina con concavidad sobre una superficie horizontal
2. Con una pipeta Pasteur estéril se deposita una gota del resuspendido final de L.A. sobre la concavidad de la lámina.
3. Se extiende la muestra en toda la concavidad, ayudándose con la punta de la pipeta.
4. Dejar que la muestra seque completamente al aire.
5. Inundar la muestra con 0.5 ml de metanol, para fijarla, y dejar que el líquido se evapore por completo.

10.3.3. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

Láminas para detección de *C. trachomatis*.

Si la muestra no va a ser procesada inmediatamente para su lectura, se debe almacenar y/o transportar siguiendo las mismas recomendaciones que para las muestras de exudado cervicovaginal (10.1.2)

10.4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA IDENTIFICACIÓN DE *M. hominis* Y *U. urealyticum*.

1. Con una pipeta Pasteur estéril se deposita aproximadamente 1ml del resuspendido final de L.A. y se agrega a los 2ml del medio de suspensión contenidos en el vial (Mycoplasma Duo). El medio de suspensión deberá estar previamente a temperatura ambiente.
2. Se cierra el vial y se agita ligeramente para homogeneizar la muestra.

10.4.1. ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE DE LA MUESTRA.

Viales con muestra para identificación de *M. hominis* y *U. urealyticum*

Si la muestra no va a ser procesada inmediatamente para su lectura, se debe almacenar y/o transportar siguiendo las mismas recomendaciones que para las muestras de exudado cervicovaginal (10.2.1)

10.5. MÉTODO DE DETECCIÓN DE *C. trachomatis* EN MUESTRAS DE EXUDADO CERVICOVAGINAL (ECV) Y DE LÍQUIDO AMNIÓTICO (L.A.)

10.5.1. PRINCIPIO.

Se tiene un preparado de anticuerpos monoclonales contra la membrana proteica externa principal presente en los 18 serotipos humanos conocidos de *C. trachomatis* y en las dos formas del organismo: el cuerpo elemental infeccioso y el cuerpo reticulado de réplica metabólicamente activo.

Los anticuerpos están marcados con isocianato de fluoresceína. Cuando se aplica directamente la muestra sobre una concavidad de lámina y se colorea con el reactivo, el anticuerpo conjugado se une específicamente con cualquier *C. trachomatis* presente en el frotis. Con un paso de enjuague se eliminan los anticuerpos no unidos. Así, cuando se ven las preparaciones en un microscopio de fluorescencia, los frotis coloreados de muestras de Clamidia positiva contienen cuerpos elementales o reticulados verde-manzana, contrastados con el fondo marrón-rojizo de las células con contratinción.

10.5.2. DESCRIPCIÓN DE LOS REACTIVOS.

Reactivo para *C. trachomatis* y diluyente de reconstitución.

El reactivo contiene anticuerpos monoclonales de murinos purificados específicos, marcados con fluoresceína, contra *C. trachomatis*, contratinción de azul de Evans y supresores de coloración no específica en una solución tampón de proteína estabilizada.

El diluyente de reconstitución contiene 0.1% de ázida sódica en agua desionizada.

Después de la reconstitución, mantenga el reactivo a una temperatura ambiente de 20° a 25° C durante 30 minutos antes de utilizarlo.

Fluido de montaje.

Con un pH de 9.4 el fluido de montaje contiene un tampón de fosfato, glicerol y un agente destinado a retrasar la fotodecoloración.

10.5.3. PREPARACIONES CONTROL.

Las preparaciones Control Positivas *C. trachomatis* contienen células de mamíferos fijadas y cuerpos elementales y reticulados que se aproximan a la apariencia de organismos de Clamidia en una muestra positiva. El diagnóstico en muestras de pacientes tiene que basarse solamente en la presencia de cuerpos elementales.

Las preparaciones Control Negativas contienen solamente células de mamíferos.

Las preparaciones deben permanecer selladas hasta su utilización y mantenerse a una temperatura entre 2° y 8° C. Antes de sacar una preparación control de su empaque para su utilización, ésta debe dejarse a temperatura ambiente por un lapso de entre 5 y 15 minutos y utilizarla inmediatamente.

Precaución: Las Clamidas en preparaciones de control positivas MicroTrak® han demostrado ser no infecciosas en cultivo; sin embargo, se aconseja que los usuarios tomen las mismas precauciones de seguridad que aquéllas tomadas al manejar y desechar otros materiales biológicos potencialmente infecciosos.

10.6. PROCEDIMIENTO PARA DETECCIÓN DE *C. trachomatis* EN MUESTRAS DE EXUDADO CERVICOVAGINAL (ECV) Y LÍQUIDO AMNIÓTICO (L.A.)

Se deben tomar todas las precauciones de seguridad para manejo y desecho de materiales biológicos potencialmente infecciosos.

1. Preparar el reactivo de acuerdo a las instrucciones del Anexo 3
2. Dejar que el reactivo, las preparaciones control y las muestras de la paciente (ECV y LA) alcancen la temperatura ambiente.
3. Añadir 30 µl de reactivo a cada preparación de control y muestra fijada.
4. Con ayuda de un aplicador estéril, distribuir el reactivo en toda el área de la concavidad de la lámina, sin raspar la muestra. Refrigerar inmediatamente después el reactivo restante de 2° a 8°.
5. Dejar incubar las preparaciones durante 15 minutos a temperatura ambiente en una cámara bien humidificada, resguardándolas de la luz. Se debe evitar que se sequen los anticuerpos en las muestras, ya que el secado provocará una unión no específica.
6. una vez transcurridos los 15 minutos, se lavan las láminas bajo el chorro de agua destilada durante 30 segundos.
7. Se elimina el exceso de humedad del borde de cada preparación, esta se debe resguardar en todo momento de la luz excesiva.
8. Añadir una gota de fluido de montaje en el centro de la concavidad de la lámina. Colocar un cubreobjetos encima de la gota, evitando la formación de burbujas.
9. Leer las preparaciones utilizando para ello un microscopio de fluorescencia. Utilizar el objetivo de inmersión para una mejor lectura.

Nota: si no es posible leer inmediatamente las preparaciones después de la coloración, almacenarlas en un lugar oscuro de 2° a 8° C dentro de las 24 horas siguientes. Dejar que las preparaciones alcancen la temperatura ambiente antes de la lectura o habrá condensación, provocando oscurecimiento de las muestras.

10. Rastrear completa y cuidadosamente toda la concavidad buscando organismos de Clamidia.
11. Realizar las observaciones e interpretar la lectura. (Ver interpretación de la lectura.)

10.6.1. OBSERVACIONES EN LA LECTURA.

Organismos de Clamidia: Las formas más comunes en las muestras positivas de *C. trachomatis* son los cuerpos elementales extracelulares, los cuales asemejan puntas de alfiler individuales de fluorescencia brillante de color verde-manzana. El diagnóstico debe basarse únicamente en la presencia de cuerpos elementales. La preparación control positiva debe emplearse como guía para el diagnóstico.

También pueden estar presentes otras formas del organismo. Algunas Clamidias (aproximadamente 2-3 veces el tamaño de un cuerpo elemental) pueden colorearse con un halo periférico. Estos representan organismos inmaduros de cuerpos reticulados o formas intermediarias entre cuerpos elementales y reticulados liberados de inclusiones rotas. Raramente se ven inclusiones intactas de *Chlamydia* intracelular.

Otro material fluorescente. Cualquier partícula fluorescente que tenga forma irregular, sea diferente en tamaño o apariencia de los cuerpos elementales de Clamidia, o tenga una fluorescencia amarilla, blanca, roja, o cualquier otra diferente a la verde-manzana, deberá considerarse como un artefacto. Por otra parte se tendrá que desechar cualquier partícula que emita una fluorescencia "vitrea" intensamente brillante o tenga un color verde-oliva más apagado.

Los anticuerpos monoclonales utilizados en el reactivo de *Chlamydia trachomatis* directa MicroTrak® son altamente específicos para la membrana proteica externa principal de *C. trachomatis*. Sin embargo, ciertas especies de bacterias (por ejemplo, los estafilococos) pueden ligar algunas inmunoglobulinas a sus superficies, por ejemplo, un anticuerpo de MicroTrak® (una inmunoglobulina) y aparecer fluorescentes. A pesar de esto, en todos los casos de coloración de bacterias, los cuerpos elementales de *C. trachomatis* pueden distinguirse de las bacterias por sus características morfológicas. Los cuerpos elementales de Clamidia tienen aproximadamente 300nm de diámetro y se colorean uniformemente sobre toda la superficie, mientras que las células de bacteria son generalmente 2-3 veces más grandes que dichos cuerpos elementales y tienden a colorearse en el borde, dando por resultado una apariencia de rosquilla

10.6.2. EVALUACIÓN DE LA LECTURA.

Preparaciones de control. Por lo menos 10 cuerpos elementales con un fondo de contraste rojizo-marrón de células con contratinción tendrán que ser identificables en una preparación de control positiva. En la preparación de control negativa no se tendrá que visualizar fluorescencia, aunque las células con contratinción tendrán que ser visibles.

La apariencia de los cuerpos elementales en la preparación de control positiva se tendrá que utilizar como referencia en la evaluación de los cuerpos elementales en muestras de pacientes.

Resultados Negativos. Si los frotis coloreados son exentos de organismos de *Clamidia*, entonces se podrá informar de un resultado negativo. En el informe se debe indicar si había o no células epiteliales

cilíndricas o cúbicas en el frotis. La sensibilidad del análisis de *C. trachomatis* depende de la presencia de células epiteliales cilíndricas o cúbicas, 10-20 células epiteliales cilíndricas o cúbicas son suficientes para que el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* sea exacto.

10.6.2.1. DIAGNÓSTICOS POSITIVOS.

- Con la presencia de 5 cuerpos elementales de *Chlamydia* o más en muestras cervicovaginales, se informará de un resultado positivo
- Debido a la alta dispersión de células, se considerará un resultado positivo cuando se encuentre la presencia de 2 o más cuerpos elementales en líquido amniótico.

Nota: Si se observan menos cuerpos elementales de *Clamidia* con respecto a los criterios establecidos por el laboratorio, se debe sospechar de una infección. Para establecer el diagnóstico, se debe tomar otra muestra y analizarla.

10.6.2.2. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS.

En poblaciones con una alta frecuencia de infecciones por Clamidia, un resultado positivo del *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak® se considera positivo para una infección por *C. trachomatis*. En poblaciones con una baja frecuencia de infección (5% o menos), un resultado positivo del *C. trachomatis* Directa MicroTrak® tendrá que interpretarse cautelosamente.

10.6.3. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD.

En el caso de muestras urogenitales, la sensibilidad de *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak® es de un 92%, mientras que la especificidad es de un 98%. En el caso de muestras de líquido amniótico no se ha determinado la especificidad y la sensibilidad de esta prueba.

10.6.4. PARÁMETROS CRÍTICOS.

1. La obtención de una muestra adecuada es decisiva para la ejecución del análisis.
2. Antes de la fijación, asegúrese de que el material untado en la lámina sea visible en la concavidad de la lámina. Cuando se cubre correctamente, la lámina tendrá un aspecto opaco. Las células deben ser visibles en una concavidad antes de que se pueda registrar un resultado negativo.
3. En las muestras de líquido amniótico se debe centrifugar la muestra a fin de obtener un buen cúmulo de células, pero al mismo tiempo la resuspensión sirve para que éstas no aparezcan encimadas en el frotis y sea imposible la lectura de dicha muestra.
4. Para verificar la ejecución del procedimiento de coloración y el funcionamiento del microscopio, se debe analizar tanto la preparación control positiva de *C. trachomatis* como una preparación control negativa, en paralelo con cada serie de muestras de pacientes. Utilizar la apariencia de los cuerpos elementales en la preparación de control positiva de *C. trachomatis* como una referencia.

5. No se ha verificado el funcionamiento de la prueba en muestras de líquido amniótico.
6. El reactivo de trabajo (reactivo reconstituido con exactamente 2.0 ml del diluyente de reconstitución) se optimiza para detectar los 18 serotipos humanos conocidos de *Chlamydia trachomatis*. Una dilución o adulteración del reactivo de trabajo puede acarrear pérdida de sensibilidad.
7. Al untar las láminas con la muestra, tener cuidado de hacerlo dentro del perímetro de la concavidad, esto asegura que el reactivo no se salga fuera de la concavidad al momento de colorear.
8. 30 µl de reactivo es suficiente para cubrir un frotis celular contenido en una concavidad de lámina de 8 mm. Modificaciones del procedimiento pueden acarrear dificultades para cubrir todo el frotis con este volumen.
9. Los objetivos en aceite de alta calidad para la detección y la confirmación proporcionarán una sensibilidad máxima al procedimiento de análisis. La utilización de un objetivo de aceite con aumento de 100x es esencial para la confirmación de la morfología de un cuerpo elemental.

10.7. MÉTODO PARA DETECCIÓN DE *U. urealiticum* y *M. hominis* EN MUESTRAS DE EXUDADO CERVICOVAGINAL Y DE LÍQUIDO AMNIÓTICO (32)

El género *Mycoplasma* es un microorganismo comensal que coloniza la mucosa del tracto urogenital y a causa de algunas circunstancias se multiplican de forma desmedida, dando lugar a diversas enfermedades.

Mycoplasma Duo permite cultivar, identificar y determinar el título diferencial del micoplasma urogenital, *Ureaplasma urealiticum* y *Mycoplasma hominis*., con un método de lectura simplificada que asegura una interpretación exacta de investigación, entre 24 a 48 horas.

10.7.1. PRINCIPIO

La identificación y titulación de micoplasmas urogenitales están basadas en las propiedades específicas del metabolismo de cada organismo:

Hidrólisis de - urea por *Ureaplasma urealiticum*
 - arginina por *Mycoplasma hominis*.

con la liberación de amoníaco y la alcalinización del medio. Estos componentes se hallan contenidos en micropocillos que a su vez están dispuestos sobre una microlámina.⁽³²⁾

La reacción se visualiza por el cambio de color del pH indicador de amarillo al rojo (rojo fenol).

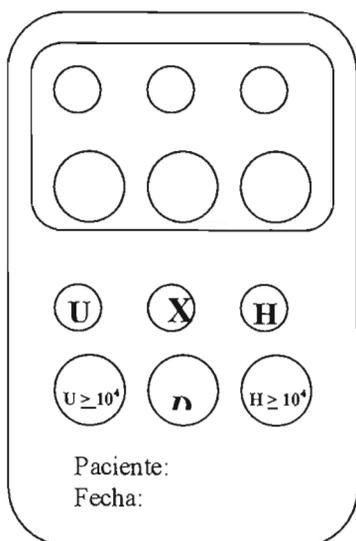
Micropocillo amarillo: ausencia de micoplasmas

Micropocillo rojo: presencia de micoplasmas.

10.7.1.1. LA MICROLÁMINA

1. Descripción.

- Cada microlámina incluye 6 pocillos conteniendo:
- Sustratos deshidratados para la identificación.
- Factor de crecimiento para asegurar una **óptima sensibilidad**
- Agentes inhibidores del crecimiento para la flora polimorfa contaminante y asegurar una **óptima selectividad**.



U y U_{≥10⁴} : Identificación y titulación de *U. urealyticum* (contiene urea).

H y H_{≥10⁴} : Identificación y titulación de *M. hominis*. (contiene arginina)

D: Pocillo de dilución.

X : Medio selectivo enriquecido para micoplasmas. (Preparación de la muestra para el antibiograma).

2. Funcionamiento

La identificación está basada en la hidrólisis específica de la urea o la arginina por la especie de micoplasma presente en la muestra, la cual se distingue por un cambio de color del pocillo conteniendo el sustrato apropiado, sin alterar el medio:

Si el pocillo U se pone de color rojo: presencia de *U. urealyticum*.

- Si el pocillo H se pone de color rojo: presencia de *M. hominis*.
- Si ambos pocillos U y H se ponen de color rojo: presencia de ambos, *U. urealyticum* y *M. hominis*.

La titulación está basada en el principio de diluciones en un medio líquido. Mediante sucesivas diluciones de la muestra en un medio de suspensión en el pocillo D (dilución 10⁻¹), y finalmente en los pocillos U_{≥10⁴} y H_{≥10⁴} (diluciones 10⁻²), donde la titulación de la cepa puede ser determinada.

Este título se verifica cotejando el número de pocillos, cuyo color haya cambiado hacia rojo dentro de las 24 ó 48 horas; cada pocillo en color rojo contiene por lo menos una UCC (Unidad Cambiante de Color), ver el diagrama de lectura.

El título se expresa en el número de UCC/ml de muestra. La técnica permite la titulación a niveles alrededor de 10^{-3} y 10^{-4} /ml, cuyos niveles de umbral patogénico: 10^{-3} /ml para *Ureaplasma urealyticum* y 10^{-4} /ml para *Mycoplasma hominis* en muestras cervicovaginales. Para líquido amniótico se considerará patogénico cualquier título positivo.

10.7.2. PROCEDIMIENTO.

La siembra en la microlámina debe realizarse tomando todas las precauciones para el manejo de materiales biológicos potencialmente infecciosos.

El procedimiento a seguir es paso a paso el indicado en el inserto de Micoplasma Duo mismo que a continuación se describe: ⁽³²⁾

1. Utilizando el frasco cuentagotero, distribuir 4 gotas (200 μ l) del diluyente en cada uno de los tres pocillos de la fila de debajo de la microlámina. $U \geq 10^4$, D y $H \geq 10^4$.
2. Utilizando una micropipeta, distribuir el medio de suspensión sembrando con la muestra.
 - 4 gotas (100 μ l) en cada uno de los tres pocillos de la fila de arriba de la microlámina: U, X y H.
 - 1 gota (25 μ l) en el pocillo D.
3. Dilución 10^{-2} . Utilizando una micropipeta diferente (es indispensable cambiar cada vez de pipeta para las diluciones, debido a que los micoplasmas se adhieren al plástico), homogeneizar a fondo el contenido del pocillo (aspirando y descargando el contenido 3 veces), a continuación aspirar la suspensión y transferir una gota (25 μ l) al pocillo $U \geq 10^4$ y otra gota (25 μ l) al pocillo $H \geq 10^4$. Todas las micropipetas utilizadas deben ser desechadas.
4. Cubrir la microlámina con una hoja adhesiva.
5. Incubar durante 24 horas a 37°C en una estufa, a continuación si fuera necesario, prolongar la incubación por otras 24 horas. (Ver Lectura e interpretación).

10.7.3. LECTURA E INTERPRETACIÓN.

Lectura

- La primera lectura se lleva a cabo después de las 24 horas de incubación: esto proporciona un resultado definitivo en las muestras con título alto (10^4 UCC/ml).
- Es necesario realizar una segunda lectura después de las 48 horas de incubación para:
 - Confirmar resultados negativos.
 - Detectar las cepas presentes a bajos títulos ($\leq 10^3$ UCC/ml)
 - Detectar las cepas presentes en títulos altos ($\geq 10^4$ UCC/ml), pero caracterizados por un metabolismo de baja actividad.

Interpretación.

Pocillo rojo:

U: presencia de *U. urealyticum*H: presencia de *M. hominis*.

Pocillo amarillo:

U: ausencia de *U. urealyticum*H: presencia de *M. hominis*.

El diagrama de lectura e interpretación es idéntica para ambas especies de micoplasma.

- Realizar la lectura de los micropocillos DUO U y $U \geq 10^4$ para valorar *U. urealyticum*.
- Realizar la lectura de los micropocillos DUO H y $H \geq 10^4$ para valorar *M. hominis*.

El MICOPLASMA DUO permite la titulación diferencial de las dos especies de micoplasma, que pudieran estar ambos presentes en la misma muestra.

Con MICOPLASMA DUO las muestras se clasifican como sigue:

- Negativo
- Positivo para *U. urealyticum*: el cambio de color ocurre sólo en el pocillo/s U.
- Positivo para *M. hominis*: el cambio de color ocurre sólo en el pocillo/s H.
- Positivo para ambos *U. urealyticum* y *M. hominis*: un cambio de color en ambos pocillos indica que las dos especies están presentes en la muestra.

Llevar a cabo la lectura de titulación de cada especie.

Nota: Lectura diferida (p.ej. fin de semana): Todos los resultados permanecen estables a partir de 48 horas, sea cual sea el título, por lo que es posible realizar la lectura diferida.

11. RESULTADOS.

Se realizó el estudio incluyendo a 52 pacientes con embarazo de alto riesgo cuyas edades se encontraban entre los 23 y los 45 años, con 26 a 37 semanas de gestación y que presentaban síntomas de infección cervicovaginal o amenaza de parto pretérmino, obteniéndose los siguientes datos descriptivos del grupo.

Cuadro 6. Datos descriptivos del grupo.

	$\bar{x} \pm DE$	MÍNIMO	MÁXIMO
EDAD MATERNA	33.6 \pm 4.7	23.0	45.0
SEMANAS DE GESTACION (al momento del estudio)	34.2 \pm 2.3	26.0	37.0
GESTACIONES (incluyendo la actual))	2.4 \pm 1.4	1.0	8.0
SDG AL NACIMIENTO	35.4 \pm 2.1	29.3	38.3

El 25 % de las pacientes era primigesta, para el 58 % era la 2ª o 3ª gestación, mientras que el 17 % se encontraba en su 4ª a 8ª gestación. Siendo pacientes con embarazo de alto riesgo, fueron sometidas a control para tratar que el producto alcanzara la maduración necesaria para sobrevivir, por lo que en la mayoría de los casos (en el 88%) el embarazo fue resuelto vía cesárea, mientras el restante se resolvió por parto. La resolución del embarazo se dio entre las 29.3 y las 38.3 semanas de gestación (Anexo 1).

De las 52 pacientes incluidas en el estudio, 39 pacientes (75%) en algún momento de la gestación presentaron amenaza de parto pretérmino (APP).

Durante la búsqueda de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en el tracto cervicovaginal y el líquido amniótico de estas pacientes se encontraron los siguientes resultados:

En el presente estudio no se encontró ningún caso positivo para *Chlamydia trachomatis* en exudado cervicovaginal, así como tampoco se detectó *C.trachomatis* en líquido amniótico.

En cuanto a *Mycoplasma hominis* en exudado cervicovaginal, de 52 casos solo se encontró un caso positivo, siendo la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal por *M. hominis* de 1.9%. No se detectó la presencia de *M. hominis* en líquido amniótico.

En 23 de los casos se detectó la presencia de *U. urealyticum* en ECV, con lo que se determina que la frecuencia de infección por *U. urealyticum* en tracto cervicovaginal es de 44.2% para nuestra población de estudio. En el líquido amniótico de 15 pacientes se detectó la presencia de *U. urealyticum* por lo que la frecuencia de infección de *U. urealyticum* en L.A. es de 28.8% para dicha población.

Cuadro 7. Resultados para *M. hominis* y *U. urealiticum*.

<i>M. hominis</i> en ECV	APP 39 casos (75%)	<i>U.urealiticum</i> en ECV 23 casos (44.2%)	<i>U.urealiticum</i> en L.A. 15 casos (28.8%)
<i>M. hominis</i> en L.A. Cero casos	U.u en ECV + U.u en L.A. 15 casos 15/52 (28.8%) 15/23 (65.2%)	APP + U.u en ECV 17 casos 17/52 (32.7%) 17/39 (43.6%)	APP + U.u en L.A. 11 casos 11/52 (21.2%) 11/39 (28.2%)

U.u : *Ureaplasma urealiticum*

APP: Amenaza de parto pretérmino

ECV: Exudado cervicovaginal

L.A : Líquido amniótico.

Del total de 52 casos, 15 (28.8%) presenta *U. urealiticum* tanto en ECV como en L.A. De esta manera, de los 23 casos en que se detectó *U. urealiticum* en ECV en el 65.2% de ellos este microorganismo atravesó membranas amnióticas encontrándose en L.A.

Aplicando una Prueba exacta de Fisher se determina que existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *U. urealiticum* en tracto cervicovaginal y su presencia en líquido amniótico con una $p < 0.0001$, es decir, que la presencia *U. urealiticum* en L.A. depende de su presencia en ECV.

En 17 casos (32.7%) del total del estudio, las pacientes presentaron *U. urealiticum* en ECV y además en algún momento de la gestación presentaron amenaza de parto pretérmino. Así, de las 39 pacientes que presentaron APP al 43.6% se les detectó *U. urealiticum* en ECV.

Sometiendo los resultados a una prueba de dependencia χ^2 tenemos que existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *U. urealiticum* en tracto cervicovaginal y la amenaza de parto pretérmino con una $\chi^2 = 12.9$ y una $p < 0.001$. Así, existe una dependencia entre la APP y la presencia de *U. urealiticum* en tracto cervicovaginal.

De las 39 pacientes que presentaron APP, a un 28.2% se les detectó *U. urealiticum* en L.A.

Al aplicar una Prueba exacta de Fisher, tenemos que con una $p = 0.26$, no es posible establecer una asociación estadísticamente significativa entre la APP y la presencia de *U. urealiticum* en líquido amniótico. El número de casos donde se encontró este microorganismo en líquido amniótico no es suficiente para establecer dicha asociación.

12. DISCUSIÓN

El presente estudio fue realizado para determinar la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal y líquido amniótico (L.A) por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* y *Ureaplasma urealyticum* en mujeres con embarazo de alto riesgo, para lo cual se tomó como grupo de estudio a pacientes de 26 a 37 semanas de gestación, derechohabientes del ISSSTE y atendidas en el Servicio de Medicina Materno-fetal del CMN "20 de Noviembre". Estos microorganismos, además de provocar una cervicovaginitis, están relacionados a la amenaza de parto pretérmino. Además, en caso de una invasión de éstos a líquido amniótico, existe la posibilidad de una infección en el producto, lo que podría provocarle una conjuntivitis o una neumonía fetal. Así, en base a los resultados de dicho estudio se pretende implementar un programa de detección y tratamiento de tales casos de infección y prevenir las consecuencias asociadas.

Fueron utilizadas las técnicas de inmunofluorescencia directa para la detección de *C. trachomatis*, y la de microcultivo para la detección de Micoplasma (*M. hominis* y *U.urealyticum*), tanto para exudado cervicovaginal como para las muestras de líquido amniótico (L.A). Dichas técnicas no habían sido probadas y estandarizadas para este último tipo de muestra, sin embargo se decidió probar con ellas y tratar de lograr la detección de tales microorganismos en L.A. La finalidad es la obtención de resultados rápidos y confiables a un menor costo que el generado por los cultivos tradicionalmente empleados.

No se encontró ningún caso positivo de *C. trachomatis* en exudado cervicovaginal, así como tampoco en líquido amniótico. Esto parece ser indicativo de que en nuestra población de estudio la frecuencia de infección en tracto reproductivo por este microorganismo es muy baja, prácticamente nula. De acuerdo con la literatura, la frecuencia de infección en TCV por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas es de 2-26%⁽¹³⁻²¹⁾ por lo que se esperaba un resultado similar en nuestra población de estudio. Sin embargo, dentro de los factores biológicos que pudieron influir en los resultados está el hecho de que como tratamiento para infecciones de otra índole se administran frecuentemente antibióticos como cloranfenicol y tetraciclina a los cuales estos microorganismos son sensibles. También es importante considerar entre los factores que pudieron haber influido en el resultado, la toma de la muestra, la técnica utilizada y los puntos críticos de la misma, aunque se debe mencionar, que en cuanto a la técnica y toma de muestra, los controles indicaron que estas fueron realizadas de manera correcta, y en cuanto a los puntos críticos, éstos fueron cuidados durante todo el procedimiento. Así, en el caso de las muestras de líquido amniótico no es posible determinar la utilidad del método empleado, puesto que todas las muestras incluyendo las de tracto cervicovaginal fueron negativas. Se recomienda, en la medida de lo posible, incrementar el número de pacientes de estudio para obtener resultados mejor respaldados, vigilando en extremo los puntos críticos de la técnica. Por lo anterior estos resultados deben tomarse con reservas y no establecer conclusiones absolutas sobre los mismos.

De 52 casos, solo se encontró un resultado positivo, el 1.9%, de *M. hominis* en tracto cervicovaginal, y ninguno en líquido amniótico, lo que indica que la frecuencia de infección por este microorganismo en la población de estudio es baja comparada con lo reportado en la literatura mundial⁽²²⁻³¹⁾. No detectándose este microorganismo en líquido amniótico es imposible determinar la utilidad de la técnica utilizada para el estudio. Al igual que en el caso anterior se recomienda, en la medida de lo posible, incrementar el número de pacientes de estudio para obtener resultados más contundentes.

Para *U. urealyticum* se encontró una frecuencia de infección en tracto cervicovaginal del 44.2%, lo que coincide con lo reportado en la literatura mundial ⁽²²⁻³¹⁾.

En el mismo grupo de estudio, 15 fueron los casos positivos para *U. urealyticum* en líquido amniótico, representando el 28.8% del total. De esta manera se estableció una asociación estadísticamente significativa con una $p < 0.0001$ entre la infección cervicovaginal y la infección intraamniótica causadas por este microorganismo. De 23 casos donde se encontró *U. urealyticum* en exudado cervicovaginal (ECV) un 65.2% también lo presentó en líquido amniótico, lo que es coherente con lo esperado. Además nunca se presentó el microorganismo en líquido amniótico sin haberse presentado en ECV, por lo que se establece que la presencia de *U. urealyticum* en L.A. depende de su presencia en ECV. Esto porque primero se debe dar la infección en tracto cervicovaginal y posteriormente por vía ascendente este microorganismo podrá atravesar membranas e invadir líquido amniótico.

Por otra parte, se encontró que el 75% de las pacientes del estudio presentó amenaza de parto pretérmino (APP), así de 39 pacientes que presentaron APP, al 43.6% se les detectó *U. urealyticum* en ECV, por lo que con una $\chi^2 = 12.9$ y una $p < 0.001$ se establece una asociación estadísticamente significativa entre la APP y la presencia de *U. urealyticum* en ECV. De acuerdo a ello, existe cierto riesgo de que la presencia de *U. urealyticum* en tracto cervicovaginal pueda ser factor para que se presente la amenaza de parto pretérmino.

Lo anterior respalda la intención de establecer la determinación de *U. urealyticum* como rutina en las pacientes embarazadas y con ello prevenir las posibles complicaciones de este tipo de infección sobre el embarazo, así como sobre el producto.

El número de casos en que se presentó *U. urealyticum* en líquido amniótico es insuficiente para establecer que por sí sola esta condición pueda representar un factor de riesgo para que se presente la APP, esto es porque como ya se mencionó, primero se debe dar la infección en tracto cervicovaginal y posteriormente estos microorganismo podrán atravesar membranas para llegar a líquido amniótico.

En el estudio no se pudo buscar relación de estos tres microorganismos (*C. trachomatis*, *M. hominis* y *U. urealyticum*) con el parto pretérmino y la ruptura prematura de membranas, puesto que en la mayoría de los casos el embarazo se resolvió tempranamente mediante cesárea debido a otras complicaciones en el mismo, o bien se dio tratamiento para alargar el embarazo el mayor tiempo posible y asegurar la maduración fetal.

Para *U. urealyticum* se logró su detección en un buen número de casos tanto en ECV como en L.A., por lo que se considera a la técnica de microcultivo como una buena alternativa para la detección e identificación de estos micoplasmas en líquido amniótico, ya que es una técnica más fácil, rápida y económica que los cultivos tradicionales. Se considera un factor crítico el haber establecido una adecuación al manejo de la muestra de líquido amniótico mediante la concentración celular por centrifugación para lograr la detección de estos microorganismos en el mismo. Dadas las características de este líquido biológico, la variabilidad en cuanto a volúmenes y concentración de componentes de acuerdo a la edad gestacional no nos permite obtener titulaciones microbiológicas.

13. CONCLUSIONES

Para la detección de *Chlamydia trachomatis* en líquido amniótico no es posible determinar la utilidad de la técnica empleada (inmunofluorescencia directa), puesto que todas las muestras incluyendo las de tracto cervicovaginal fueron negativas

Se encontró que *M. hominis* se encuentra en tracto cervicovaginal con una frecuencia de 1.9%, la cual es menor a la reportada en la literatura. No se logró la detección de este microorganismo en líquido amniótico, por lo que no es posible determinar la utilidad de la técnica utilizada para la búsqueda de este microorganismo en este tipo de muestra.

Ureaplasma ureliticum se encuentra en tracto cervicovaginal con una frecuencia de 44.2% que coincide con lo reportado en otros estudios y en líquido amniótico con una frecuencia de 28.8%. En un número considerable de casos el microorganismo se localizó tanto en TCV como en LA.

Se considera la técnica de microcultivo como una buena alternativa para la detección e identificación de este último microorganismo en L.A., ya que es una técnica más fácil, rápida y económica que los cultivos tradicionales para el fin, sin embargo se recomiendan más estudios con un mayor número de pacientes para justificar de manera definitiva el uso de esta técnica para este tipo de muestras.

Adicionalmente se encontró que existe una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de *Ureaplasma ureliticum* en tracto cervicovaginal con la amenaza de parto pretérmino.

Así del estudio se concluye que la presencia de *U. ureliticum* en líquido amniótico depende de su presencia en tracto cervicovaginal, confirmándose la vía de invasión ascendente, así como que la presencia de dicho microorganismo en tracto genital puede constituir un factor de riesgo para que se presente la amenaza de parto pretérmino.

Lo anterior fortalece la intención de establecer la determinación de *U. ureliticum* como rutina en las pacientes embarazadas, ello para poder controlar este tipo de infecciones lo más temprano posible y prevenir las posibles complicaciones que las mismas pudiesen acarrear tanto en el curso del embarazo, como directamente sobre el producto.

14. SUGERENCIAS

El hecho de contar con datos de la frecuencia de infección en tracto cervicovaginal y líquido amniótico por estos tres microorganismos en la población de pacientes con embarazo de alto riesgo es de gran importancia ya que de ello dependerá que se puedan implementar estrategias para prevenir los riesgos inherentes a la misma. Aunque se sabe que es difícil contar un número elevado de muestras de líquido amniótico ya que al obtenerse éste por un método invasivo solo es recomendado por el ginecoobstetra en casos muy particulares, y mediante previa autorización por escrito de la paciente, se recomienda hasta donde sea posible, incrementar el número de pacientes en estudios futuros para obtener resultados más contundentes.

**ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA**

Anexo 1

**DATOS DESCRIPTIVOS Y
TABLAS DE RESULTADOS DEL ESTUDIO**

Tabla 1. Datos descriptivos del grupo de estudio. Pacientes con embarazo de alto riesgo, con 26 a 37 semanas de gestación (SDG), atendidas en el Servicio de Medicina Materno-fetal, del CMN "20 de Noviembre, ISSSTE, y que presentaron síntomas de una infección en tracto genital o amenaza de parto pretérmino (APP).

	CODIGO DE IDENTIFICACION	Edad años	SDG	G	P	C	A	DIAGNOSTICO
1	PI2002-PN1-001	33	34.5	3	0	0	2	APP + OLIGOHIDRAMNIOS
2	PI2002-PN1-002	31	35.1	2	1	0	0	APP + ANTEC. ADENOMA
3	PI2002-PN1-003	32	29.3	2	0	1	0	APP + OLIGOHIDRAMNIOS
4	PI2002-PN1-004	34	30.6	1	0	0	0	APP + PREECLAMIA LEVE
5	PI2002-PN1-005	34	30.6	1	0	0	0	APP + PREECLAMIA LEVE
6	PI2002-PN1-006	31	34.2	2	0	1	0	APP + DIABETES MELLITUS TIPO II
7	PI2002-PN1-007	40	35.2	4	2	0	1	APP + DIABETES GESTACIONAL
8	PI2002-PN1-008	26	30.1	3	2	0	0	APP + INTOL A CARBOHIDRATOS
9	PI2002-PN1-009	34	33.4	5	4	0	0	DIABETES GESTACIONAL
10	PI2002-PN1-010	33	35.1	4	3	0	0	APP + TAQUICARDIA FETAL
11	PI2002-PN1-011	36	36.0	1	0	0	0	APP + INTOL A CARBOHIDRATOS
12	PI2002-PN1-012	38	35.4	1	0	0	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
13	PI2002-PN1-013	29	32.6	2	0	0	1	APP
14	PI2002-PN1-014	38	34.3	4	2	1	0	APP
15	PI2002-PN1-015	23	37.0	2	0	1	0	ANTEC. DE NEFRECTOMIA
16	PI2002-PN1-016	31	36.0	2	0	0	1	APP + DIABETES GESTACIONAL
17	PI2002-PN1-017	45	35.0	3	1	0	1	APP
18	PI2002-PN1-018	28	32.5	2	0	0	1	APP + RUPTURA PREMAT DE MEMBRANAS
19	PI2002-PN1-019	35	26.0	3	1	0	1	APP + RUPTURA PREMAT DE MEMBRANAS
20	PI2002-PN1-020	36	31.3	1	0	0	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
21	PI2002-PN1-021	37	36.0	1	0	0	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
22	PI2002-PN1-022	28	34.4	1	0	0	0	APP + TAQUICARDIA FETAL
23	PI2002-PN1-023	28	36.5	1	0	0	0	APP + FLUJOMETRIA ALTERADA
24	PI2002-PN1-024	39	33.4	2	0	1	0	DIABETES GESTACIONAL
25	PI2002-PN1-025	33	36.0	2	1	0	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
26	PI2002-PN1-026	34	35.6	2	0	1	0	APP + FLUJOMETRIA ALTERADA

G= Num. de gestaciones, incluyendo el actual.
P= Num. de partos previos a la gestación actual.
C= Num. cesáreas previas.
A= Num. de abortos previos.

Tabla 1. (Continuación).

	CODIGO DE IDENTIFICACION	Edad años	SDG	G	P	C	A	DIAGNOSTICO
27	PI2002-PN1-027	28	33.3	1	0	0	0	DIABETES MELLITUS TIPO I
28	PI2002-PN1-028	33	36.4	2	0	1	0	APP
29	PI2002-PN1-029	43	34.2	6	2	0	3	APP + RUPTURA PREMAT DE MEMBRANAS
30	PI2002-PN1-030	36	34.6	2	0	1	0	APP + FLUJOMETRIA ALTERADA
31	PI2002-PN1-031	33	29.6	3	0	0	2	ANTEC. DE ABORTO RECURRENTE
32	PI2002-PN1-032	33	33.6	2	0	1	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
33	PI2002-PN1-033	31	31.4	1	0	0	0	DIABETES GESTACIONAL
34	PI2002-PN1-034	41	34.0	6	1	0	4	APP + CARDIOPATIA FETAL
35	PI2002-PN1-035	39	36.0	3	0	2	0	DIABETES GESTACIONAL
36	PI2002-PN1-036	31	35.6	8	3	0	4	ANTEC. CRISIS CONVULSIVAS
37	PI2002-PN1-037	35	37.0	3	1	1	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
38	PI2002-PN1-038	35	35.5	2	0	0	1	ANTEC. MIOMECTOMIA
39	PI2002-PN1-039	35	37.0	3	0	2	0	INTOL. A CARBOHIDRATOS
40	PI2002-PN1-040	30	35.6	2	0	1	0	APP + ANTEC. DE PRODUCT. MALFORMADO
41	PI2002-PN1-041	32	35.3	2	1	0	0	INTOL. A CARBOHIDRATOS
42	PI2002-PN1-042	38	30.0	2	0	1	0	PREECLAMPSIA LEVE
43	PI2002-PN1-043	40	36.5	1	0	0	0	APP + DIABETES GESTACIONAL
44	PI2002-PN1-044	39	36.0	2	0	1	0	INTOL. A CARBOHIDRATOS
45	PI2002-PN1-045	33	34.2	1	0	0	0	APP + PREECLAMPSIA
46	PI2002-PN1-046	38	37.0	4	0	2	1	INTOL. A CARBOHIDRATOS
47	PI2002-PN1-047	27	35.2	2	0	1	0	APP + GEMELAR
48	PI2002-PN1-048	27	35.2	2	0	1	0	APP + GEMELAR
49	PI2002-PN1-049	42	36.1	4	1	2	0	RH (-)
50	PI2002-PN1-050	29	33.5	2	0	0	1	APP + DIABETES GESTACIONAL
51	PI2002-PN1-051	30	33.5	2	0	1	0	DIABETES GESTACIONAL + HIPERT. ARTER.
52	PI2002-PN1-052	27	37.0	1	0	0	0	PRODUCTO ENFALOCELE

G= Num. de gestaciones, incluyendo el actual
P= Num. de partos previos a la gestación actual
C= Num. cesáreas previas a la gestación actual
A= Num. de abortos previos a la gestación actual

Tabla 2. Resultados de la determinación de la presencia de *C. trachomatis*, *M. hominis* (M.h) y *U. urealyticum* (U.u) en exudado cervicovaginal (ECV) y líquido amniótico (L.A)

	Chlam ECV	M.h ECV	U.u ECV	U.u ECV título		Chlam L.A	M.h L.A	U.u L.A	
1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		1	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		6	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		11	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
12	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		12	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		13	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
14	NEGATIVO	POSITIVO	POSITIVO	>10.000		14	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
15	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		15	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
16	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		16	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
17	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		17	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
18	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		18	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
19	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		19	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
20	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		20	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
21	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		21	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
22	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		22	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
23	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		23	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
24	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		24	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
25	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		25	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
26	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		26	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO

G= Num. de gestaciones, incluyendo el actual
P= Num. de partos previos a la gestación actual
C= Num. cesáreas previas a la gestación actual
A= Num. de abortos previos a la gestación actual

Tabla 2. (Continuación).

	Chlam ECV	M.h ECV	U.u ECV	U.u ECV título		Chlam L.A.	M.h L.A.	U.u L.A.
27	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
28	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
29	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
30	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
31	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
32	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
33	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
34	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
35	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
36	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
37	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
38	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
39	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
40	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
41	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
42	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
43	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
44	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	<1.000		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
45	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
46	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
47	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
48	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
49	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO
50	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
51	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO	0		NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
52	NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO	>10.000		NEGATIVO	NEGATIVO	POSITIVO

G= Num. de gestaciones, incluyendo el actual
P= Num. de partos previos a la gestación actual
C= Num. cesáreas previas a la gestación actual
A= Num. de abortos previos a la gestación actual

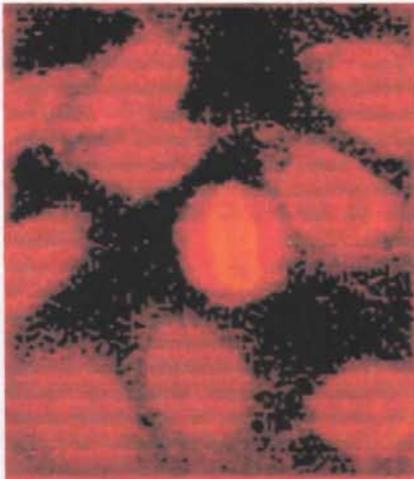
Tabla 3. Datos de la evolución del embarazo y del recién nacido.

	VIA DE NACIMIENTO	SDG AL DIA DE NACIMIENTO	PESO DEL RECIEN NACIDO (gramos)	GASOMETRIA	SEPSIS EN EL RECIEN NACIDO		VIA DE NACIMIENTO	SDG AL DIA DE NACIMIENTO	PESO DEL RECIEN NACIDO (gramos)	GASOMETRIA	SEPSIS EN EL RECIEN NACIDO
1	CESÁREA	34	2600	NORMAL	NO	27	CESÁREA	34	3000	NORMAL	NO
2	PARTO	36	2370	NORMAL	NO	28	CESÁREA	36	2610	NORMAL	NO
3	CESÁREA	30	340	ALTERADA	NO	29	CESÁREA	34	1910	NORMAL	SI
4	CESÁREA	31	1900	NORMAL	NO	30	CESÁREA	36	2630	NORMAL	NO
5	CESÁREA	31	1600	NORMAL	NO	31	CESÁREA	33	2900	NORMAL	NO
6	CESÁREA	37	3400	NORMAL	SI	32	CESÁREA	34	2450	NORMAL	NO
7	CESÁREA	37	3000	NORMAL	NO	33	CESÁREA	36	1765	NORMAL	NO
8	CESÁREA	35	2220	NORMAL	NO	34	CESÁREA	35	2500	NORMAL	NO
9	PARTO	38	2700	NORMAL	NO	35	CESÁREA	37	2620	NORMAL	NO
10	CESÁREA	36	2850	NORMAL	NO	36	PARTO	38	2730	NORMAL	NO
11	PARTO	34	2250	NORMAL	NO	37	CESÁREA	37	3020	NORMAL	NO
12	CESÁREA	36	2325	NORMAL	NO	38	CESÁREA	36	2520	NORMAL	NO
13	CESÁREA	33	2350	NORMAL	NO	39	CESÁREA	37	3100	NORMAL	NO
14	CESÁREA	35	2250	NORMAL	NO	40	CESÁREA	36	2680	NORMAL	NO
15	CESÁREA	38	2950	NORMAL	NO	41	PARTO	36	2370	NORMAL	NO
16	CESÁREA	36	2850	NORMAL	NO	42	CESÁREA	30	1317	NORMAL	NO
17	CESÁREA	35	2700	NORMAL	NO	43	CESÁREA	36	2500	NORMAL	NO
18	CESÁREA	33	2150	NORMAL	SI	44	CESÁREA	36	2630	NORMAL	NO
19	CESÁREA	29	1530	NORMAL	SI	45	PARTO	34	2950	NORMAL	NO
20	CESÁREA	33	2050	NORMAL	NO	46	CESÁREA	37	2520	NORMAL	NO
21	CESÁREA	37	3200	NORMAL	NO	47	CESÁREA	37	2130	NORMAL	NO
22	CESÁREA	37	2500	NORMAL	NO	48	CESÁREA	37	2865	NORMAL	NO
23	CESÁREA	37	2910	NORMAL	NO	49	CESÁREA	37	3550	NORMAL	NO
24	CESÁREA	38	2770	NORMAL	NO	50	CESÁREA	37	2250	NORMAL	NO
25	CESÁREA	36	2560	NORMAL	NO	51	CESÁREA	36	2250	NORMAL	NO
26	CESÁREA	35	2300	NORMAL	NO	52	CESÁREA	38	3675	NORMAL	NO

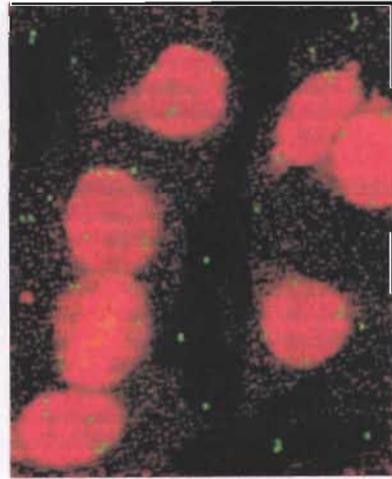
ANEXO 2: de controles positivo y negativo, tratadas con reactivo de inmunofluorescencia para la detección de *Chlamydia trachomatis*, y observadas en un microscopio de fluorescencia, de campo oscuro.



Microscopio de fluorescencia, de campo oscuro



Las preparaciones Control Negativas contienen solamente células de mamíferos.



Las preparaciones Control Positivas *C. trachomatis* contienen células de mamíferos fijadas; y cuerpos elementales y reticulados que se aproximan a la apariencia de organismos de chlamydia en una muestra positiva.

ANEXO 3. DESCRIPCIÓN DE *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak®

De Trinity Biotech plc.

Descripción del producto	Cantidad/ Volumen
<i>Chlamydia trachomatis</i> Directa Syva MicroTrak® , consistente en: Reactivo para <i>Chlamydia trachomatis</i> * Diluyente de Reconstitución Fluido de Montaje	60 análisis 2.0 ml 5.0 ml 6.0 ml
Equipo de Toma de muestra de <i>Chlamydia trachomatis</i> MicroTrak®** , consistente en: Lámina de vidrio con una concavidad Cepillo citológico Torundas de Dacron Metanol para fijar	20 juegos 1 lámina 1 cepillo 2 torundas 0.5ml
Láminas Control <i>Chlamydia trachomatis</i> Directa MicroTrak®** , consistente en: Láminas Control Positivas <i>C. trachomatis</i> Láminas Control Negativas	5 láminas 5 láminas.

*El reactivo para muestra directa se suministra liofilizado. El volumen indicado es el que se requiere para su reconstitución.

**Se adquieren por separado.

Reactivo y Diluyente de Reconstitución.

El reactivo contiene anticuerpos monoclonales murinos purificados específicos, marcados con fluoresceína, contra *C. trachomatis*, contraindicación de azul de Evans y supresores de coloración no específica en una solución tampón de proteína estabilizada.

Para reconstituir el reactivo liofilizado, retire la cinta metálica y el tapón de caucho del vial del reactivo; dispense 2.0 ml del diluyente de reconstitución suministrado y luego, tire el diluyente restante. Vuelva a colocar el tapón del reactivo y agite suavemente el vial con movimiento circular para disolver el polvo. Apunte la fecha de reconstitución en la etiqueta del vial del reactivo.

Después de la reconstitución, mantenga el reactivo a una temperatura ambiente de 20-25° C durante 30 minutos antes de utilizarlo.

Cuando no se utilice, almacene el reactivo entre 2 y 8° C. No lo congele ni exponga a la luz fuerte. Cuando se utiliza de acuerdo a las instrucciones, se puede utilizar el reactivo reconstituido durante 12 semanas.

Fluido de montaje.

- Con un pH de 9.4, el fluido de montaje contiene un tampón de fosfato, glicerol y un agente destinado a retrasar la fotodecoloración. Almacene el fluido de montaje entre 2 y 8° C.

Láminas Control.

- Las preparaciones Control Positivas *C. trachomatis* contienen células de mamíferos fijadas y cuerpos elementales y reticulados que se aproximan a la apariencia de organismos de chlamydia en una muestra positiva. El diagnóstico en muestras de pacientes tiene que basarse solamente en la presencia de cuerpos elementales. Las preparaciones Control Negativas contienen solamente células de mamíferos.

Las preparaciones se suministran en sobres de papel aluminio sellados y separados que contienen desecador. Almacenar las preparaciones selladas a 2-8° C. Antes de sacar una preparación de su sobre de papel de aluminio, dejarla a una temperatura ambiente de 20-25° C por lo menos durante 5 minutos. Al abrir el sobre, verificar el desecador, a fin de comprobar la conservación; si el desecador no está azul, no se puede verificar un almacenamiento sellado y se debe desechar la preparación. Utilizar la preparación inmediatamente después de haberla sacado de su sobre. Cuando se procede de acuerdo a las instrucciones, las preparaciones de control no coloreadas pueden emplearse hasta la fecha de vencimiento impresa en el sobre de papel aluminio.

ANEXO 4. PRECAUCIONES A CONSIDERAR EN EL PROCEDIMIENTO DE IDENTIFICACION DE *C. trachomatis*.

- El Análisis Directo de Muestras de *Chlamydia trachomatis* MicroTrak® está destinado a un uso diagnóstico *in vitro*.
- El reactivo para muestra directa y el diluyente de reconstitución contienen ázida sódica. El ázida sódica puede reaccionar con el plomo y cobre de las cañerías y formar ázidas metálicas sumamente explosivas. En el momento de tirar los desechos, enjuague con gran cantidad de agua para evitar la acumulación de ázida.
- La adulteración de los reactivos puede alterar las características de funcionamiento de los mismos.
- Cuando no se utilice, debe almacenarse el reactivo entre 2 y 8° C. No lo congele ni exponga a la luz fuerte
- Las Clamidias en preparaciones de control positivas MicroTrak® han demostrado ser no infecciosas en cultivo; sin embargo, se aconseja tomar las mismas precauciones de seguridad que aquéllas tomadas al manejar y desechar otros materiales biológicos potencialmente infecciosos.
- Si los controles positivos y negativos no se pueden distinguir entre sí, la prueba es inválida.(Ver Solución de Problemas, en lo que se refiere a posibles causas de resultados de control discrepantes).
- No utilice el reactivo, el diluyente de reconstitución, las preparaciones de control ni el fluido de montaje después de las fechas de vencimiento indicadas en las etiquetas de los envases.
- Un microscopio de fluorescencia que funcione bien es crucial. El funcionamiento del ensayo puede verse afectado por variaciones del wataje de la ampolla, la intensidad y el alineamiento, el tipo de iluminación y los filtros.
- Si se observan repetidamente demasiado pocas células, modificar adecuadamente el procedimiento de la toma de muestras o del untado de la misma en la lámina (p.ej. raspando un área mayor del cervix, apretando más el cepillo contra la lámina al momento del untado).
- Si se observan escasas células en las muestras de líquido amniótico, se debe resuspender el botón celular en menor cantidad de líquido después del centrifugado.
- Si las células con contratinción o el control positivo no son visibles con el microscopio de fluorescencia, reemplazar o realinear la ampolla y verificar filtros.
- Utilizar solamente láminas limpias. Una sustancia extraña puede provocar configuraciones fluorescentes irregulares. Tener cuidado de evitar cualquier contaminación durante la manipulación de muestras.
- Una coloración densa alrededor del perímetro de la concavidad puede indicar que el reactivo se secó antes del enjuague o durante la incubación. El secado del reactivo puede provocar falsos resultados negativos; si células con este tipo de coloración fueran negativas, repetir el ensayo.

GLOSARIO

Aborto	Interrupción precoz del embarazo, espontánea o inducida, seguida por la expulsión del producto gestacional por el canal vaginal. Puede estar precedido por pérdidas sanguíneas por vagina.
Cervicitis	Inflamación del cervix.
Cistitis	Inflamación de la vejiga.
Coriovasculitis	Inflamación de los vasos fetales.
Eclampsia	Convulsiones durante el embarazo. Mal controladas pueden dar lugar a la muerte en la madre.
Embarazo ectópico	Implantación del producto de la fecundación fuera de la cavidad uterina.
Enfermedad inflamatoria pélvica	Infección aguda que compromete el tracto genital femenino (ovario, trompas de Falopio, útero). Se manifiesta por dolor, fiebre y descarga purulenta por vagina.
Incompetencia cervical	Se define como la incapacidad del cuello para retener el embarazo intrauterino hasta el término de la gestación, con pérdida repetitiva del producto en el segundo trimestre.
Intervalo interginésico	Período de tiempo entre una gestación y otra.
Oftalmia neonatorum	Comúnmente conocida como oftalmia purulenta o conjuntivitis hemorrágica. Se produce al contaminarse los ojos del niño al atravesar el canal de parto.
Polihidramnios	Aumento en el volumen normal de líquido amniótico.
Pre-eclampsia	Hipertensión debida al embarazo. Mal controlada puede derivar en eclampsia.
Síndrome de Reiter.	Se define como una artritis de los varones adultos, asociada generalmente a conjuntivitis y uretritis. La causa se desconoce, pero hay estudios que sugieren como agente causal a Mixovirus o al micoplasma.
Uretritis	Inflamación de la uretra.

REFERENCIAS

1. Carrera Macía José M., "Protocolos de obstetricia y medicina perinatal", 3ª. ed., Masson 1993.
2. Manual Merk, Castellano 10ª. ed., Publicaciones MSD, España 2000.
3. Illia Ricardo, Valenti Eduardo., "Ruptura prematura de membranas", www.saim.org.ar/rpm.htm
4. Blanco López Sergio., "Ruptura prematura de membranas", *Pub Ginecol Obstet* 2000, 5: 33-40.
5. Ortigosa Corona E., "Factores relacionados con el conocimiento de los signos de alarma durante el embarazo", *Ginecol Obstet*, México 1996., 64: 90-95.
6. Cortez Lara P., Alvarez y García C., "Factores epidemiológicos vinculados a ruptura prematura de membranas en embarazo pretérmino" *Rev Salud Pública y Nutrición*, Edic. Especial No.1, Feb 2000.
7. Jiménez Perea Ma. De Lourdes, "Manual de procedimientos de laboratorio de embarazo de alto riesgo" CMN-20 de Noviembre, ISSSTE.
8. Valdez Abreu M, Díaz Martínez AG, "La amniocentesis como técnica de diagnóstico prenatal" *Rev Cubana Obstet Gynecol* 1997; 23(2-3): 67-74
9. Aguirre Reyes Alicia., "Cristalografía en líquido amniótico" Tesina para el Diplomado de Mejoría de Control de la Calidad, México 1997.
10. Brock TD, Madigan MT, "Microbiología" 6a. Ed. Ed. Prentice Hall Hispanoam., México 1991., 670-675.
11. Jawetz Ernest "Microbiología médica", 10ª. ed., ED. El Manual Moderno, México 1989, 273-284
12. Murray Patrick, Kobayashi GS., "Microbiología médica" 2ª. Ed. , Pub. Harcourt Brace, Madrid 1997. 353-358, 372-380.
13. Scope, *Chlamydia trachomatis*. Educación Médica Continúa. www.drscope.com/pac/gineobs/g4/g4-pag57.htm.
14. Cheung Kwonk., Machado Guillermo, Gonzalez Sergio. Un estudio epidemiológico limitado sobre la incidencia de infección por clamidia en mujeres. *Salud Fronteriza*, Vol. VIII, No. 2, 1992 pp.11.
15. Tomas GB, Jones J., "Isolation of *Chlamydia trachomatis* from amniotic fluid", *Obstet Gynecol* 1990 Sep; 76(3): 519-529.
16. Hammerschlang, M.R., Andreaka M., SemineD., Prospective study of maternal and infantile infection with *Chlamydia trachomatis* *Pediatrics* 64: 142-148, 1979.
17. Grossman, M. Schachter., Prospective studies in *Chlamydia* in newborns. In *Chlamydia Infections*. P-A pp. 213-216. Elsevier Biomedical Press. Amsterdam, The Netherlands, 1982
18. Heggie. AD., Lumicas, *Chlamydia trachomatis* infection in mothers and infants. *Am. J. Dis. Child.* 135: 507-511, 1981.
19. Nugent, R.P., Berlin L., Risk factor for *Chlamydia trachomatis* infection in high risk population of pregnant women. In *Chlamydia infections*. D. Oriol et al, Eds: pp 189-192. Cambridge University Press. Cambridge England, 1986.
20. Vile Y, Carroll SG, Watts P, Ward M, Nicolaidis KH., "*Chlamydia trachomatis* infection in prelabour amniorrhexis" *Br J ObstetGynaecol* 1997 Sep; 104(9):1091-1093.
21. *Chlamydia trachomatis* Directa MicroTrak: Instructivo., Trinity Biotech plc. Co. Wicklow, Ireland.
22. Robinson D, "Vaginal flora changes associated with *Mycoplasma hominis*" *Am J Obstet Gynecol*, Feb 1998, 178(2).
23. Arya OP, Tong CY, "Is *Mycoplasma hominis* a vaginal pathogen?" *Sex Transm Infect* 2001 Feb;77(1):58-62
24. Cedillo Ramírez L. Gil C, "Association of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with some indicators of nonspecific vaginitis" *Rev Latinoam Microbiol* 2000, Jan-Mar; 42(1): 1-6.
25. Donders gg, Van Bulck B., "Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion", *Am J Obstet Gynecol* 2000 Aug; 183 (2): 431-437.
26. Chua KB, Ngeow YF, "Colonization and transmission of *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* from mothers to full and preterm babies by normal vaginal delivery", *Med J Malaysia* 1999 Jun; 54(2): 242-246.
27. Berg TG, Philpot KL, " *Ureaplasma/Mycoplasma*-infected amniotic fluid: pegnancy outcome in treated an nontreated patients", *J Perinatol* 1999 Jun; 19(4): 275-277.

28. Shimada M, Kotani T, "Two patients with premature labour associated with *Mycoplasma hominis* infection" *J Med Microbiol* 1998 Feb; 47(2): 179-82
29. Chua KB, Ngeow YF; "Ureaplasma urealyticum and *Mycoplasma hominis* isolation from cervical secretions of pregnant women and nasopharyngeal secretions of their babies at delivery" *Singapore Med J* 1998 Jul; 39(7):300-302.
30. Gauthier DW, Meyer MJ, "Expectant management of premature rupture of membranes with amniotic fluid cultures positive for *Ureaplasma urealyticum* alone" *Am J Obstet Gynecol* 1994 Feb; 170(2): 587-590.
31. Horowitz S, Mazor M, " Infection of the amniotic cavity with *Ureaplasma urealyticum* in the midtrimester of pregnancy", *J Reprod Med* 1995 May; 40(5): 375-379.
32. *Mycoplasma Duo*: Instructivo., Bio-Rad, France.
33. Angeles C.A., Mendez JF., "Ruptura prematura de membranas en embarazos pretérminos" *Ginec Obstet, México* 1988, 56: 207-212
34. Baker FJ, "Manual de técnicas de microbiología médica" 3ª. ed., Ed. Acribia, Madrid, España 1990.
35. Ohinski Robert., "Bioquímica" 5ª. Ed., Ed. Addison-Wesley Iberoamericana, E.U.A. 1991, 677-679.
36. Cherney AH., Pernol M., Taylor C., "Diagnóstico y tratamiento ginecobstétricos" *El manual moderno, México* 1997, pp 217-240.
37. Davis Bernard, "Tratado de microbiología", 2ª. ed, Salvat Editores, España 1978, 952-965.
38. Divo Alejandro, "Microbiología Médica" 2ª. d. Ed. Interam, México 1971, 259-270.
39. Gravett MG, Humel D, "Preterm labor associated with subclinical amniotic fluid infection and with bacterial vaginosis", *Obstet Gynecol* 1986 Feb; 67(2): 229-237.
40. Hernández Andrade E., López García R., " Ruptura prematura de membranas y corioamnioitís" *Rev. Perinatol* , Abril-junio 1994, 9(2).
41. Issler Juan Ramón, "Fisiología del líquido amniótico", *Rev de posgrado Cat. Via Med, Facult Med- UNNE, Sep* 2000.
42. Volta Roberto A, et al; "Líquido amniótico: Investigaciones clínicas aplicadas al conocimiento fetal", Ed. Med. Panam. 1975.