

46^a
2^{es}



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



**EVALUACION DEL METODO CITOLOGICO
PARA EL DIAGNOSTICO DE LA
INFECCION POR Chlamydia trachomatis
COMO CAUSA DE CERVICITIS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO
B I O L O G O
P R E S E N T A :
VICENTE DE MARIA Y CAMPOS OTEGUI
ASESOR: Q.F.I. ANDREA BECERRIL OSNAYA

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RESUMEN

Las infecciones por Chlamydia trachomatis se reconocen como las de mayor prevalencia y de las más peligrosas por sus complicaciones.

La falta de un examen diagnóstico que sea confiable, simple y barato ha limitado los esfuerzos para su control.

El método citológico, aunque fue el único ampliamente utilizado entre los años de 1909-1957 y con el cual se descubrió al microorganismo, es todavía tema de controversia en cuanto a su valor predictivo, ya que en una población de baja prevalencia éste puede disminuir. Por este motivo y ante la necesidad de contar con un método de diagnóstico se hizo una evaluación en la población adscrita a la Unidad de Medicina Familiar # 62 del IMSS, situada en el área de (Cuautitlán) Mex., utilizando la tinción de Papanicolaou y tomando como base la inmunofluorescencia directa. Se trabajó con 50 muestras formadas por 3 grupo de pacientes, a) pacientes con cervicitis a la exploración, b) pacientes con flujo de más de 3 meses y c) pacientes con más de 10 polimorfonucleares por campo.

Se obtuvo un 22% de positivos por inmunofluorescencia y un 14% por Papanicolaou, con una sensibilidad del 73%, un valor predictivo positivo del 100% y uno negativo del 91%. Los resultados que se presentan son comparables a los obtenidos por otros investigadores que dan validez al método. Consideramos que el éxito que se puede obtener del método

citológico para el diagnóstico de clamidia radica primeramente en una buena selección de los pacientes y finalmente en una observación exhaustiva de las muestras que sugieran positividad por las características del frote y con la búsqueda de todas las posibles imágenes citológicas relacionadas con la infección por Chlamydia trachomatis.

INDICE

| | <u>Página</u> |
|---|---------------|
| RESUMEN | A |
| 1. INTRODUCCION | 1 |
| 1.1. Agente Etiológico | 3 |
| 1.2. Enfermedades causadas por <u>Chlamydia trachomatis</u> | 7 |
| 1.3. Epidemiología | 11 |
| 1.3.1. Pacientes de alto riesgo | 12 |
| 1.3.2. Esquemas de tratamiento | 17 |
| 1.3.3. Prevención | 17 |
| 1.4. Métodos de diagnóstico | 18 |
| 1.5. Antecedentes | 24 |
| 2. OBJETIVOS | 27 |
| 3. MATERIAL Y METODOS | 28 |
| 3.1. Material | 28 |
| 3.2. Métodos | 31 |
| 4. RESULTADOS | 44 |
| 5. ANALISIS DE RESULTADOS | 54 |
| 6. CONCLUSIONES | 63 |
| 7. RECOMENDACIONES | 65 |
| BIBLIOGRAFIA | 65 |

1. INTRODUCCION

Las infecciones causadas por Chlamydia trachomatis se han convertido en un problema de salud pública en las últimas décadas, no por ser una bacteria resistente a los tratamientos, ya que cede a ellos fácilmente, sino por las dificultades que presenta para su diagnóstico por sus características de vida intracelular. Los métodos que se aceptan generalmente para su diagnóstico, como son el cultivo de la bacteria en línea celular y los métodos de fundamento inmunológico como la inmunofluorescencia y los ensayos inmunoenzimáticos, son caros y escapan a las posibilidades de la mayoría de los laboratorios de diagnóstico clínico en nuestro país, por lo que en muchos de ellos no se diagnóstica la bacteria.

Una opción viable para estos casos lo puede constituir el método citológico. El uso de la tinción de Papanicolaou para la identificación de las alteraciones celulares causadas por clamidia ha sido aceptado para infecciones oculares dado que es un epitelio que no se encuentra colonizado por una variedad de microorganismos como el epitelio cérvico vaginal, en donde el hallazgo de alteraciones celulares inflamatorias es más común y existe mayor variedad de causas para su aparición, por que el método pierde tanto sensibilidad como especificidad y por estas razones el método no ha sido completamente aceptado y existen tanto autores que lo apoyan como otros que lo rechazan.

En los casos en que no se cuenta con recursos para implementar un método caro y completo como el cultivo y que es necesario atender a una vasta población, es necesario contar con un método que se encuentre al alcance de las posibilidades del laboratorio. Para ello es necesario adecuar un método de este tipo y obtener todo el provecho posible aplicándolo con los criterios necesarios para ello.

1.1. Agente Etiológico.

Clamidia es una bacteria cuyo género ha sufrido cambios taxonómicos a lo largo de su historia, ya que aunque las enfermedades que causa se conocen desde muchos siglos antes de nuestra era, hasta el presente siglo se descubrió la existencia del agente etiológico, y por sus dificultades de aislamiento al ser un microorganismo intracelular, en un principio se le consideró como un virus grande y más tarde como una rickettsia.

En 1945, Jhones, Rake y Stearns establecieron las diferencias entre rickettsias y clamidias y les dieron el nombre taxonómicamente válido. (13).

Finalmente en la novena edición del manual de Bacteriología Sistemática de Bergey (1948), las clamidias se movieron del orden Rickettsiales a uno nuevo; Chlamydiales, quedando constituido de la forma siguiente:

Orden: Chlamydiales.
 Familia: Chlamydiaceae.
 Género: Chlamydia.
 Especies: Chlamydia trachomatis. (Con 15 serotipos clasificados del A al L).
Chlamydia psittaci. (Con serotipos 1 y 2) (9,13).

Recientemente se propone en algunos trabajos la aparición de una nueva especie: Chlamydia pneumoniae. (18).

Las clamidias son bacterias parásitos intracelulares obligados de células eucariotes, debido a su carencia de sistema citocrómico y por tanto anaerobias e incapaces de sintetizar trifosfato de adenosina (ATP), son dependientes del huésped.

Tienen una pared celular semejante a la de las bacterias Gram negativas y en su forma extracelular presenta una forma cocoide con un diámetro de 200-280 nm. Esta presentación, conocida como "Cuerpos Elementales", es la forma infectiva, en la cual se observa en microscopía electrónica una zona densa central o nucleoide (12) y tiene actividad metabólica mínima.

La presentación intracelular es el llamado "Cuerpo Inicial". Es amorfo y mide de 500 a 1000 nm. En cuanto a estructura se refiere, se propone que la pared celular sólo difiere de la del "Cuerpo Elemental" en que pierde los puentes en el péptidoglicán, pero la permeabilidad hacia sustancias nutrientes aumenta considerablemente. (12).

Las clamidias poseen DNA y RNA y se dividen por fisión binaria al igual que todas las bacterias. Son capaces de sintetizar todas sus proteínas. Son sensibles a los antibióticos, característica también propia de las bacterias. Presentan un marcado tropismo por el epitelio columnar simple para colonizarlo y reproducirse. (9). Las clamidias han respondido a las demandas especializadas de vida intracelular obligada por evolución hacia un ciclo que se presenta como único entre microorganismos procaríotes. (13).

Ciclo de Vida:

En una primera fase del ciclo, es fagocitado un cuerpo elemental, el cual entra en una vacuola fagocítica que evade la digestión lisosomal por algún mecanismo que no incluye la secreción de sustancias por la bacteria, pero que exige la conservación de la estructura del microorganismo. (12).

A las 8 horas, éste se reorganiza formando un cuerpo reticular, encontrándose todavía en la periferia del citoplasma de la célula huésped, siendo ésta preferentemente una célula del epitelio cilíndrico del endocérvix o de la conjuntiva en el ojo (9,13). El cuerpo reticular se divide por fisión binaria y 8 a 12 horas después se observan de 4 a 16 cuerpos reticulares en la vacuola que ha avanzado hacia el centro del citoplasma de la célula huésped y es ahora mayor. (9).

Al aumentar el número de éstos, su tamaño disminuye y a las 20 horas aparecen de nuevo los cuerpos elementales.

Las etapas de este ciclo son asincrónicas y se pueden observar sobrepuestas, con lo que se ha podido determinar la organización ultraestructural de las vacuolas y sus inclusiones, encontrándonos con una disposición particular de las clamidias que aparentemente tienen relación con la función de cada uno de los cuerpos, ya que los cuerpos reticulares, metabólicamente activos y encargados de la acumulación de energía para las funciones del organismo, los encontramos en la periferia de la vacuola y unidos a la membrana de la misma y los cuales

presentan una pared celular rígida, con una doble membrana trilaminar que se encuentra septada con una periodicidad fija y que parece estar relacionada con la ingestión de metabolitos por el cuerpo reticular. Dicha vacuola se encuentra ubicada, intracelularmente, en proximidad con el retículo endoplásmico y con mitocondrias del huésped de forma que puede satisfacer sus requerimientos energéticos. (34).

Los cuerpos elementales que ya encontramos en esta etapa del ciclo se localizan en la parte central de la inclusión. (13,34).

Para la salida de los cuerpos elementales existen mecanismos que se pueden describir de dos formas: una que simplemente consiste en la ruptura de la vacuola que prácticamente ocupa la totalidad del citoplasma en esta etapa, y por consiguiente la ruptura de la membrana celular con la consecuente liberación del microorganismo. (13).

Otra forma planteada recientemente comprende un mecanismo semejante a la exocitosis descrita para algunos virus envueltos y que consiste en el desprendimiento de una porción de membrana citoplásmica de la célula huésped llevando en el interior a los cuerpos elementales y sin llegar a la ruptura total de la célula, con lo cual se podrían explicar algunas infecciones asintomáticas. (40).

La totalidad del ciclo se lleva a cabo en un periodo de 48 horas, desde la entrada del cuerpo elemental inicial hasta la liberación de los nuevos cuerpos elementales.

1.2 Enfermedades causadas por Chlamydia trachomatis.

Chlamydia trachomatis constituye una especie que ataca principalmente al humano, a diferencia de Chlamydia psittaci, la cual es básicamente un parásito de las aves psitacinas.

Las enfermedades que causa se pueden comprender partiendo de las dos vías de infección primaria, a partir de las cuales se deriva toda la serie de complicaciones que agravan el efecto del patógeno. (Figura 1).

Las vías iniciales de entrada del microorganismo son la oftálmica y la genital:

Infecciones Oftálmicas:

Existen dos formas importantes de enfermedades oftálmicas originadas por clamidia. El tracoma, enfermedad inflamatoria crónica de los ojos que puede llevar a una cicatrización conjuntival y corneana causante de ceguera, y el paratracoma que comprende: conjuntivitis de inclusión de los adultos, queratitis difusa y tracoma endémico que normalmente no llevan a ceguera. (13).

Los serotipos implicados en las infecciones oftálmicas son A, B y C como causa de tracoma en zonas endémicas y los serotipos de la D a la K en la conjuntivitis de inclusión en zonas no endémicas de tracoma. (14). La transmisión en el tracoma ocurre de ojo a ojo muy común en los niños,

y la conjuntivitis de inclusión se transmite por contacto con las secreciones de genitales infectados con el ojo.

Infecciones Genitales en la mujer:

Se inician con la infección del epitelio columnar del endocérvix por transmisión sexual, causando en principio una entidad clínica conocida como cervicitis mucopurulenta, caracterizada por inflamación de la región acompañada de edema y/o eritema y flujo mucopurulento de color amarillento. (6). (Figura 2).

Las complicaciones locales pueden ser: La uretritis, (poco frecuente en la mujer), la vaginitis, Bartholinitis (que es la inflamación de las glándulas del mismo nombre) y fistulización hacia el recto.

Además se debe considerar una complicación a este nivel; la infección del neonato, tanto oftálmica, causando conjuntivitis de inclusión como infección respiratoria, genital y rectal, que se adquieren por el contacto con las secreciones de la madre infectada en el momento del parto. (14).

Si la infección no se resuelve a este nivel, avanza a zonas superiores del tracto genital, causando una serie de desórdenes conocidos como Enfermedad Inflamatoria Pélvica (EIP), la cual se puede explicitar como el avance de la infección por el tracto genital y las complicaciones que produce en cada lugar.

Después de provocar la cervicitis, el microorganismo asciende por el endocérnix para infectar el epitelio columnar simple del endometrio y causar endometritis que puede traer trastornos en la fertilidad y prematurez. (5).

Si la infección sigue, llega a las trompas uterinas y causa salpingitis que trae como complicaciones la infertilidad o el embarazo ectópico y posiblemente endometritis postparto, además de muerte neonatal.

Más allá de este nivel, el microorganismo puede salir del tracto genital y causar problemas en zonas circundantes como perihepatitis, peritonitis, síndrome de Reiter (enfermedad que presenta artritis además de uretritis y conjuntivitis), y se discute como causa de algunos casos de endocarditis. (5,6,13,14).

Como una entidad apartada de las ya mencionadas que comprenden inflamación de las zonas afectadas, mencionaremos en este punto la relación, aún discutida, que se ha encontrado entre la infección por clamidia y el cáncer cervical (21,22), que podría ser considerada como la complicación más grave, ya que este tipo de cáncer ocupa el primer lugar en cánceres en nuestro país, y que además es una complicación cuyo tratamiento escapa al habitual por antibióticos que resuelve todas las demás complicaciones.

En la revisión bibliográfica del tema encontramos que Chlamydia trachomatis fue aislada más frecuentemente de cérvix de mujeres con displasia y cáncer invasor, que de mujeres control. (2,3,36,37).

Atipia celular y displasia fueron encontrados más frecuentemente en mujeres con cervicitis por clamidia (3,19,29,38) y en seropositivas que en seronegativas para clamidia. (4,26,3,33,36,37):

En estudios de colposcopia seguidos de histología, se han encontrado una relación entre clamidia y cervicitis folicular en un 73% de casos en un 37% se presentó una zona de transición atípica y en un 24% se presentó neoplasia intraepitelial, en contraste con un 2% del grupo control. (33).

Infecciones Genitales en el hombre:

Son de transmisión sexual y se inician con una uretritis que puede ser gonocócica o postgonocócica en los casos asociados a Neisseria y uretritis no gonocócica. (UNG).

La uretritis se caracteriza por una inflamación en la uretra que se manifiesta como dificultad y dolor al orinar, que puede estar acompañada de un flujo amarillento purulento.

Si la infección asciende, puede llegar a sitios más especializados y causar epididimitis, prostatitis y orquitis, que traen como complicación trastornos en la fertilidad. (Figura 3).

Biovariedad Linfogranuloma Venéreo.

Las cepas de esta biovariedad son patógenos transmitidos por contacto sexual que causan infecciones sistémicas con las siguientes características: adenopatías inguinales que evolucionan hacia la

microfistulización múltiple en el hombre, a menudo acompañada de signos generales infecciosos. En ambos sexos la mayor complicación está representada por la estenosis inflamatoria de la ampolla rectal.

La enfermedad predomina en el hombre en una proporción de 10:1 con respecto a la mujer. (13,14).

1.3. Epidemiología.

En la actualidad las infecciones causadas por Chlamydia trachomatis se reconocen como las de mayor prevalencia y de las más peligrosas entre las enfermedades de transmisión sexual debido a sus complicaciones, que se derivan de infecciones crónicas y/o latentes. (13,27).

Se estima que de 3 a 4 millones de americanos sufren cada año de infecciones causadas por clamidia. Se ven afectados tanto los varones como las mujeres y los niños, pero es en las mujeres donde se ven las complicaciones más graves por razones anatómicas.

En Inglaterra y Gales donde la uretritis no gonocócica (de la cual alrededor de la mitad de los casos es causada por clamidia) es una enfermedad en la cual su incidencia casi se ha duplicado en la última década. Estas enfermedades tienen una incidencia estimada de 2.5 veces la de la uretritis gonocócica. (5).

También clamidia es responsable de alrededor de un 50% de los 500,000 casos de epididimitis aguda que se ven en los Estados Unidos

cada año, así como de la cuarta parte de los 500,000 casos de enfermedad inflamatoria pélvica reconocidos por año. (5).

Cada año más de 155,000 niños nacen de madres infectadas por clamidia con un alto riesgo de contraer infecciones en el parto.

En un estudio practicado recientemente en Canadá (1) a una población rural, de características semejantes a la que se incluye en este trabajo, cuyas principales actividades laborales son la agricultura y la manufactura en la industria de la zona, se encontró que la enfermedad de transmisión sexual de mayor incidencia es la infección genital por Chlamydia trachomatis, con cifras de 470 casos por 100,000 personas/año. Obtuvieron un 11% de casos en la población estudiada con una incidencia del triple que la gonorrea.

1.3.1. Pacientes de alto riesgo.

La edad, el número de compañeros sexuales, el estado socioeconómico y las preferencias sexuales son predictores de infección por clamidia.

- a) Edad: está inversamente relacionada con la infección. Las mujeres sexualmente activas menores de 20 años de edad tienen un riesgo y una frecuencia de infección 2 a 5 veces mayor que las de 20 a mayores, y las de entre 20 a 29 tienen mayor frecuencia que las mayores de 30 años. Igualmente, la infección en uretra es más frecuente en los varones adolescentes que en los adultos.

- b) El riesgo aumenta con el número de compañeros sexuales.
- c) La prevalencia de infección uretral por Chlamydia entre los homosexuales varones es aproximadamente un tercio de la prevalencia entre los heterosexuales, pero de un 4 a 8% de los varones homosexuales vistos en las clínicas de enfermedades de transmisión sexual tienen infección rectal por Chlamydia.

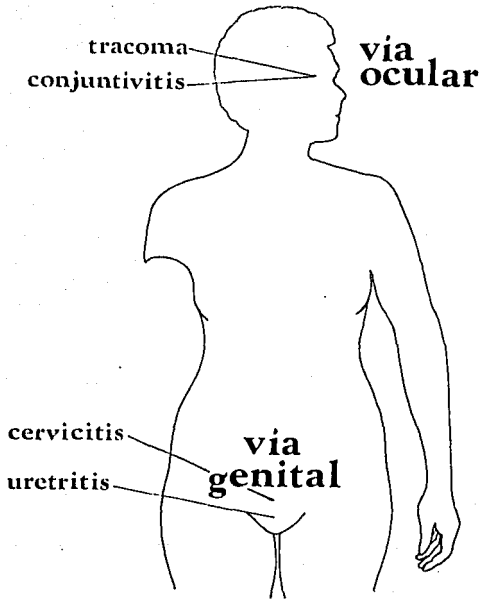


Figura 1.

En esta figura se presentan las vías de transmisión de la infección que son, la ocular y la genital y las infecciones iniciales que se presentan en cada una de ellas.

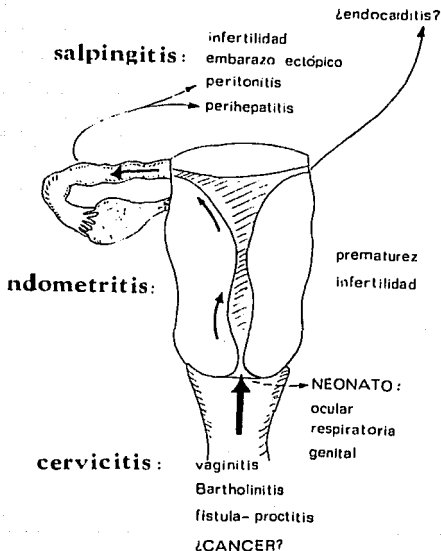


Figura 2.

En esta figura se representa el avance de la infección en el aparato genital femenino. Se indican las infecciones que causa en cada lugar y las complicaciones que trae consigo, así como las complicaciones que pueden presentarse si el microorganismo sale del tracto genital.

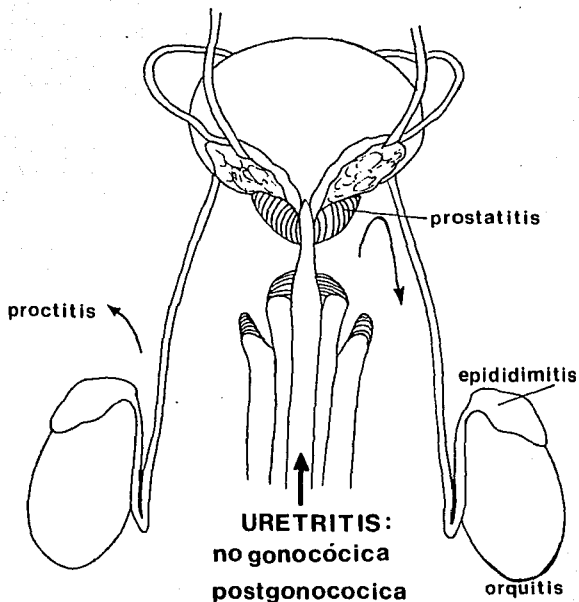


Figura 3.

Esta figura representa el avance de la infección en el aparato genitourinario masculino.

Se indican las infecciones que causa en cada lugar y las complicaciones que trae consigo, así como las complicaciones que pueden presentarse si el microorganismo sale del tracto genitourinario.

1.3.2. Esquemas de tratamiento.

Se basan en el empleo de dos antibióticos principales que se deben elegir en base a la presencia o ausencia de alergia en el paciente, en cuyo caso la primera elección es:

Doxiciclina.- 100 mg. oralmente, dos veces al día por siete días.

La segunda:

Tetraciclina.- 500 mg. oralmente, cuatro veces al día por siete días.

Las únicas variaciones a este tratamiento se presenta en embarazo y neonato con oftalmía, en los que se antepone en primer lugar la Eritromicina y como segunda opción la Amoxiciclina.

Eritromicina.- 500 mg. oralmente, cuatro veces al día por siete días, y en epididimitis aguda, Ceftriaxona, 250. intramuscular en dosis única, seguida del régimen de Doxiciclina y Tetraciclina.

No se requiere prueba posterior al tratamiento si éste se completa, ya que no hay reportes de resistencia. (6).

1.3.3. Prevención.

De todos los métodos de control, el más efectivo es la prevención de la infección primaria. La educación de los profesionales de la salud es esencial, especialmente en ausencia de una vacuna efectiva.

Es básico enterar con precisión a los profesionistas de la salud, para que a su vez éstos den información clara y en un lenguaje adecuado para que el público general se concientice de los riesgos y las complicaciones, así como de su absoluta responsabilidad para la prevención y el control de la infección y su diseminación, al ser una enfermedad de transmisión sexual. (5).

1.4. Métodos de Diagnóstico.

La causa de que las infecciones por Chlamydia trachomatis constituyan un problema de salud importante, tanto médica como económicamente, es precisamente la dificultad que presenta para su diagnóstico, ya que siendo una bacteria intracelular obligada no puede ser aislada en medios de cultivo sintéticos, además no se puede teñir en frotis directos de la lesión por técnicas rutinarias para bacterias como la tinción Gram.

Los métodos para su diagnóstico pueden dividirse en:

- I) Aislamiento de la bacteria.
- II) Métodos Inmunológicos.
- III) Método Citológico.

I) Aislamiento de la bacteria

La bacteria se puede aislar en saco vitelino de huevo embrionado de pollo y en dos líneas de cultivo celular; McCoy y HeLa 229.

El aislamiento es el método definitivo para diagnosticar la presencia de la bacteria (5), para el cual se reporta una sensibilidad del 90% y una especificidad del 100%. Sin embargo, presenta una serie de inconvenientes de índole técnica y económica, dentro de las cuales podemos enumerar los siguientes:

- a) Se requiere hacer el cultivo de la línea celular, lo cual implica la necesidad de un área especializada dentro del laboratorio con condiciones de esterilidad y material para uso exclusivo del área y lavado especial del mismo, además requiere personal especializado y el costo de los medios de cultivo para el mantenimiento de las líneas celulares es alto.
- b) La muestra debe ser tomada con máximo de 24 horas de anticipación y debe ser conservada a -70° C en un medio de transporte especial a la base de fosfato de sacarosa. (5).
- c) Se requiere un método de tinción para revelar la presencia de cultivos positivos, ya sea yodo o para mayor precisión inmunofluorescencia lo cual eleva considerablemente el costo del procedimiento.

Debido a toda esta serie de complicaciones, el cultivo de la bacteria aunque es el método más confiable, queda sólo a disposición de centros hospitalarios especializados y no es un método accesible para realizar campañas masivas de detección ni para clínicas de primera atención a población abierta.

II) Métodos Inmunológicos.

Se puede dividir a su vez en los orientados hacia la búsqueda de:

- a) Anticuerpos.
- b) Antígenos.

- a) En cuanto a la búsqueda de anticuerpos los primeros métodos que aparecieron estuvieron encaminados a detectar inmunoglobulinas circulantes tipo IgM e IgG por ensayos inmunoenzimáticos, los cuales tenían una validez discutible, ya que la infección inicial se localiza únicamente en el epitelio endocervical o conjuntival y no causa una infección sistémica por lo que los anticuerpos circulantes no aparecen en forma importante en esta fase del proceso, sino hasta que vienen las complicaciones a niveles más elevados del tracto.

Recientemente, ha aparecido métodos para la detección de inmunoglobulina del tipo A que se secreta a nivel de la mucosa infectada, lo que resulta más útil por detectar infecciones tempranas. Se lleva a cabo por ensayo inmunoenzimático, reportando una sensibilidad cercana al 90%. 23).

En el empleo de métodos de este tipo cabe enfatizar que aunque parezcan técnicamente sencillos deben ser realizados por personal capacitado y con cierta experiencia para evitar la aparición de resultados falsos, principalmente positivos.

b) Búsqueda de antígenos.

Resulta algo más confiable y ha sido empleada con más frecuencia.

El método más difundido en esta categoría es el de la inmunofluorescencia directa para detectar, tanto cuerpos reticulares como elementales en frotis directos de los epitelios afectados.

En estudios recientes realizados por Investigadores de amplia experiencia en el tema (Gupta, Quinn), se ha reportado una sensibilidad del 92% y una especificidad del 99%, sin embargo es importante mencionar que se requiere personal adiestrado para alcanzar un valor tan alto. (35).

En cuanto a ensayo Inmunoenzimático ha aparecido recientemente uno diseñado para la detección de antígeno en sedimento urinario, el cual ha resultado de buena sensibilidad para infecciones uretrales en varones, con la gran ventaja de una toma de muestra indolora como alternativa al raspado uretral. (7).

Este tipo de métodos de diagnóstico tienen un valor muy cercano al del cultivo celular y son de más rápida realización, pero siguen presentando el inconveniente del elevado costo de los reactivos y equipo especializado de laboratorio, como un microscopio de fluorescencia, lo que los hace inaccesibles para muchos centros hospitalarios de atención primaria.

III) Método Citológico.

Es el primer método con el que se diagnosticó la infección por clamidia y con éste fue descubierto el agente etiológico en 1909 por Halberstaedter y von Prowazek.

El método citológico recibe un valor semejante al del cultivo para infecciones conjuntivales, pero no así para genitales.

Dentro de los métodos de tinción que se han empleado para dichos fines, los primeros que se utilizaron fueron el de yodo y el de Glemsa.

La tinción de yodo se hizo útil debido a que en las inclusiones intracelulares por Chlamydia trachomatis se encuentra glucógeno libre. Hay dos técnicas de tinción que han sido utilizadas para revelar infección positiva en el aislamiento de la bacteria en saco vitelino junto con la de yodo, la de Machiavelo y la de Jiménez, pero su uso ha estado limitado a estos fines, ya que en citología tienen poco valor. (14).

Recientemente, por el inicio de la década de los 70's se ha popularizado el uso de la tinción de Papanicolaou para detectar infección por clamidia en frotis de epitelios afectados.

Dentro de los métodos de tinción, el de Papanicolaou nos ofrece una serie de ventajas, ya que permite la observación de mayor cantidad de datos que orientan al diagnóstico, y no solamente las inclusiones que se observan con las demás técnicas, sin embargo su utilidad ha sido

discutida desde entonces, encontrándose sensibilidades y especificidades muy variadas según los investigadores que lo han evaluado. (8,9,11,15,16,17,19,24,25,28,31,35,38).

El método consiste en la observación de vacuolas con inclusiones características en células de metaplasia escamosa del epitelio conjuntival o endocervical. (19,31).

Las ventajas de estos métodos estriban en el bajo costo, la rapidez de los mismos, la sencillez de los requerimientos de laboratorio y la posibilidad de realizarse a grandes volúmenes de población, pero su validez es aún discutida.

1.5. Antecedentes.

El método citológico para detectar la presencia de infección por Chlamydia trachomatis es el mismo con el que se estableció la existencia del agente etiológico cuando en 1907 Halberstaedter y von Prowazek describieron las inclusiones intraepiteliales en frotis conjuntivales de orangutanes infectados experimentalmente. (13).

Para el diagnóstico de infecciones oculares ha sido utilizado desde entonces con buenos resultados, empleando tinciones como la de yodo y Giemsa en lo que se le ha asignado un valor diagnóstico semejante al cultivo de la bacteria. (5).

La tinción de Papanicolaou para el diagnóstico de infecciones cervicales por Chlamydia trachomatis se comenzó a difundir por el inicio de la década de los 70's con trabajos como el de Naib (31) en 1970 donde se describen las imágenes citológicas encontradas en raspados conjuntivales de neonatos infectados y en los extendidos de las secreciones cervicales de las madres de los mismos.

En 1979 Gupta y colaboradores describen la secuencia de alteraciones morfológicas que presentan las células infectadas por clamidias en los diferentes estadios de la infección, reporte que es utilizado como base junto con el de Naib para la mayoría de una nutrida serie de trabajos que discuten la utilidad de la tinción de Papanicolaou.

En la descripción de Gupta aparecen tres estados identificables en la infección, comenzando con cuerpos cocoides de tamaño uniforme,

pequeños, localizados en la periferia del núcleo, con fina vacuolización en un citoplasma comunmente cianófilo.

En el siguiente estadio de la infección, el citoplasma se toma más vacuolado, los cuerpos cocoides se encuentran en la periferia y se pierde la forma compacta. En el tercer estadio hay pérdida de la acidofilia, las partículas de inclusión son densas y con frecuencia se encuentran en la periferia del núcleo, dichas partículas se rodean de una zona clara. (19).

En 1985 aparece una descripción más detallada por Shlina (30), en la que a las imágenes descritas por Gupta se agregan la inclusión nebulosa, que como su nombre lo indica se presenta en forma difusa y contenida en una vacuola grande que ocupa casi la totalidad del citoplasma y una forma más condensada posterior a ésta y que presenta varios cuerpos cocoides de diferentes tamaños en la gran vacuola.

Finalmente aparece en 1988 una descripción amplia de las imágenes citológicas en la infección por clamidia realizada cuidadosamente por Sekhri y colaboradores (38) en la que se establece una secuencia de siete diferentes estadios citoplásmicos en la infección.

Tipo O : las células no presentan anomalía alguna.

Tipo I : las células muestran una clara microvacuolización del citoplasma.

Tipo II : las células contienen una o más vacuolas vacías de tamaños entre 5 y 15 μ m.

Tipo III : las células metaplásicas muestran leucocitos polimorfonucleares fagocitados e incluidos en vacuolas citoplásmicas.

Tipo IV : el citoplasma de la célula está punteado por microvacuolas que contienen un gránulo central eosinófilo.

Tipo V : se presentan una o más grandes vacuolas llenas con múltiples gránulos eosinófilos.

Tipo VI : las células tienen una o más vacuolas grandes con una inclusión central homogénea, rodeada por una zona clara.

Además de estos trabajos en los que se describen las alteraciones que sufren las células infectadas por Chlamydia trachomatis, existe uno que describe algunos datos acerca de las células propias de la reacción inflamatoria, como es un número determinado de linfocitos activados y de histiocitos contados por campo y a los cuales encuentra más relación con la infección que a las imágenes citológicas en las células metaplásicas. (24,25).

2. OBJETIVOS

General.

Contar con un método rutinario accesible para el diagnóstico de infecciones por Chlamydia trachomatis en el laboratorio de la Unidad de Medicina Familiar # 62 del I.M.S.S.

Particulares.

- 1.- Evaluar la sensibilidad del método citológico para el diagnóstico de infecciones cervicovaginales por Chlamydia trachomatis.
- 2.- Observar los cambios citológicos que se presentan en el epitelio cervicovaginal como consecuencia de la infección por clamidia.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1. Material.

MATERIAL BIOLÓGICO:

Se trabajó con cincuenta exudados cérvico-vaginales obtenidos entre los días 14 y 15 del ciclo menstrual de pacientes de edades comprendidas entre los 15 y 45 años, con vida sexual activa y con alguna o todas las siguientes características clínicas: (20).

- a).- Pacientes con flujo de más de tres meses de evolución o flujo resistente al tratamiento antiinflamatorio.
- b).- Pacientes con cervicitis, caracterizada a la exploración por friabilidad, edema y/o eritema.
- c).- Pacientes con presencia de más de diez polimorfonucleares por campo en el frotis directo.

MATERIAL DE LABORATORIO.

1.- Tinción de Papanicolaou:

a) Material de cristalería:

- Cajas de tinción.
- Porta objetos.

b) Reactivos y colorantes:

- Alcohol absoluto.
- Alcohol de 96°.
- Xítol.

- Hematoxilina de Harris.
- Anaranjado G 6.
- Erosina amarillenta 50.
- Resina sintética.

c) Equipo:

- Microscopio óptico.
- Lápiz diamante.

2.- Técnica de Inmunofluorescencia:

a) Material de Cristalería:

- Cajas Petri.
- Porta objetos.

b) Reactivos:

- Solución amortiguadora de pH = 7.2
- Anticuerpo monoclonal conjugado con isotiocianato de fluoresceína (Microtrack, Siva, Co., Palo Alto, California).

c) Equipo:

- Microscopio con equipo para fluorescencia.
- Asa de platino.

3.- Bacteriología:

a) Material de cristalería:

- Cajas Petri.
- Porta objetos.

b) Reactivos y colorantes:

- Solución salina fisiológica.
- Alcohol.
- Acetona.
- Cristal violeta.
- Zafranina.

c) Medios de cultivo:

- Enriquecidos: Agar sangre.
Agar chocolate.
- Diferenciales: Agar McConkey.
Eosina-Azul de metileno.
Sangre (para hemólisis).
- Selectivos: Desoxicolato-citrato.
Manitol salado.
Tetracionato.
Tioglicolato.
Sabouraud.

d) Diverso:

- Homo.
- Incubadora.
- Autoclave.
- Refrigerador.
- Microscopio óptico
- Asa de platino.
- Mechero.

4.- Toma de muestra:

- Cama Ginecológica.
- Espejos vaginales.
- Hisopos.
- Abatelenguas.

3.2. Métodos.

TOMA DE MUESTRA.

Se colocó a la paciente en posición ginecológica y se introdujo el espejo vaginal. En seguida se tomó una muestra de la secreción presente con un hisopo de algodón, destinada al diagnóstico microbiológico rutinario, y finalmente se tomó la muestra para la realización de las tinciones, para la cual se utilizó una espátula de madera y se preparó una laminilla para tinción de Gram y una para inmunofluorescencia tomadas del fondo del saco y una más tomada del canal endocervical para tinción de Papanicolaou.

PROCESAMIENTO DE LAS LAMINILLAS.

a) Fijación:

Para las laminillas destinadas a la tinción de Papanicolaou y a la técnica de Inmunofluorescencia se realizó con 'Cytospray', el cual sería retirado más tarde, en alcohol de 96° para Papanicolaou y en una posterior fijación en acetona para Inmunofluorescencia.

La fijación de la muestra para tinción Gram se realizó con calor.

b) Tinciones:

- Las tinciones de Gram y Papanicolaou se efectuaron en la forma rutinaria según el Manual de Procedimientos de Laboratorio del I.M.S.S.

- Inmunofluorescencia:

Se depositó una gota del anticuerpo conjugado sobre un área previamente marcada por el reverso del porta objetos de aproximadamente 1 cm².

Se dejó actuar durante 30 minutos manteniéndolo en cámara húmeda y en la oscuridad.

Se lavaron las laminillas con una solución amortiguadora de pH 7.2 enérgicamente para eliminar el exceso de reactivo.

Y se dejó secar al aire.

Se observó en un microscopio con lámpara de fluorescencia.

Simultáneamente se tiñeron los controles positivos y negativo contenidos en el equipo.

- Interpretación: la presencia de cuerpos cocoides extracelulares fluorescentes indica positividad. (Figura 4).

c) Criterios para la Interpretación de las imágenes citológicas relacionadas con la infección por Chlamydia trachomatis:

En la mayoría de estudios se hace referencia a los trabajos de Gupta y Naib para detectar la presencia de la infección por clamidia, siguiendo la mayoría de ellos los criterios de estos dos autores o un criterio modificado, sin aclarar cual es la modificación, motivo por el cual en el presente trabajo de

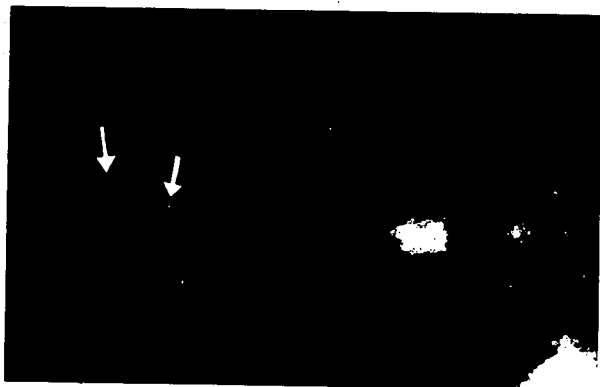
investigación, se ha considerado toda la serie de imágenes descritas por Sekri y colaboradores, además de la imagen "nebulosa" descrita por Shiina.

Se han considerado como orientadoras o sospechosas de infección las imágenes de:

- Metaplasia (Figura 5).
- Vacuolización (Figura 5).
- Paraqueratosis (Figura 6).
- Abundante reacción inflamatoria.
- Binucleación o Multinucleación (Figura 7).
- Leucocitos polimorfonucleares por células metaplásicas (Figura 8).
- Presencia de granulación en células intermedias del epitelio plano estratificado.

Como dato concluyente de infección se ha considerado la presencia del microorganismo, y que se mencionan a continuación: (34).

- Inclusiones pequeñas (1 ó 2) en vacuolas finas (Figura 9).
- Inclusiones en vacuolas de mayor tamaño. (Figura 10).
- Vacuolas ocupando casi la totalidad del citoplasma conteniendo:
 - a) Inclusión única central. (Figura 11).
 - b) Inclusión nebulosa. (Figura 12).
 - c) Múltiples inclusiones condensadas tanto basófilas como eosinófilas. (Figura 13).

**FIGURA 4.**

Inmunofluorescencia. Se observan dos cuerpos elementales teñidos por la técnica de inmunofluorescencia directa (flechas) junto a una célula epitelial.

Los cuerpos elementales se observan como dos cuerpos cocoides pequeños de color verde manzana.



FIGURA 5.

Metaplasia y Vacuolización. En esta figura se presenta un grupo de células metaplásicas (A) con Vacuolización (flecha).

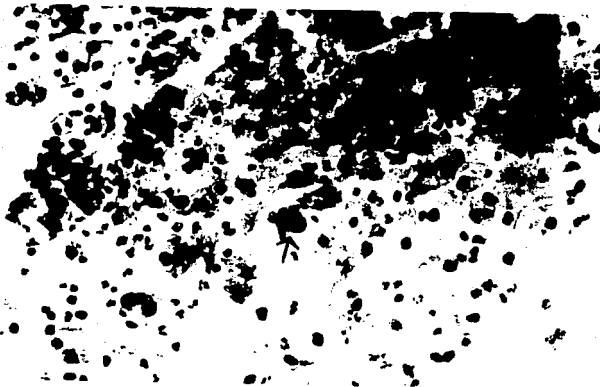


FIGURA 6.

Paraqueratosis. En esta figura se observa en el centro de la imagen una célula de paraqueratosis, es una célula eosinófila pequeña, de citoplasma ovoide, queratinizado con núcleo picnótico. (flecha).

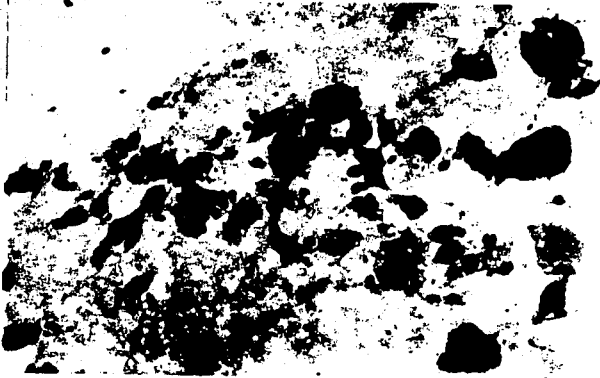


FIGURA 7.

Multinucleación. Se observa binucleación y multinucleación en células metaplásicas.

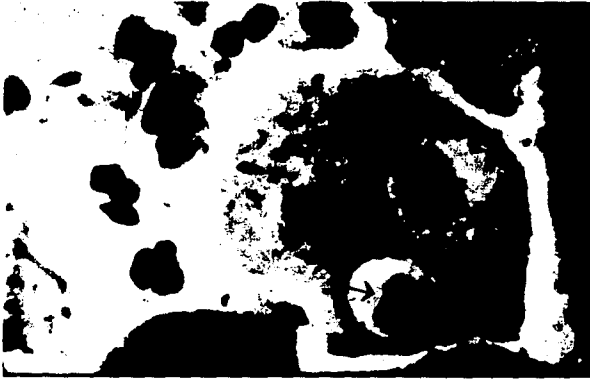


FIGURA 8.

En esta imagen se presenta una célula metaplásica con restos de polimorfonucleares incluidos en dos grandes vacuolas fagocíticas.

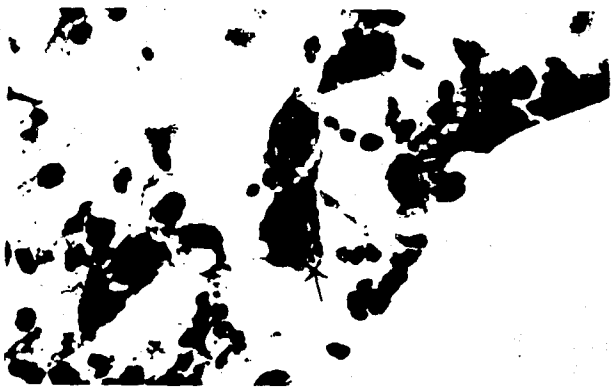


FIGURA 9.

Inclusiones Iniciales. Se observan dos inclusiones pequeñas en dos vacuolas en una célula metaplásica (flecha).

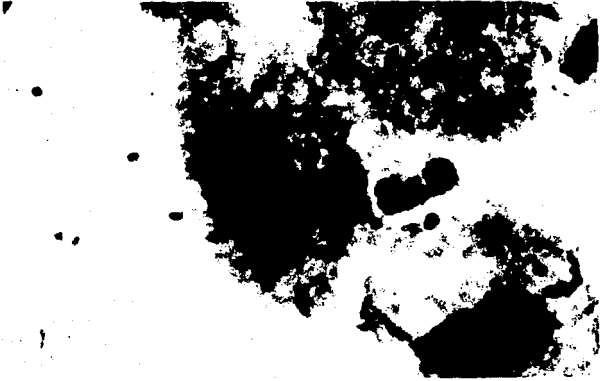


FIGURA 10.

Inclusiones Eosinófilas. Se observan tres inclusiones eosinófilas de tamaño variable en vacuolas independientes dentro de una célula metaplásica (flecha).

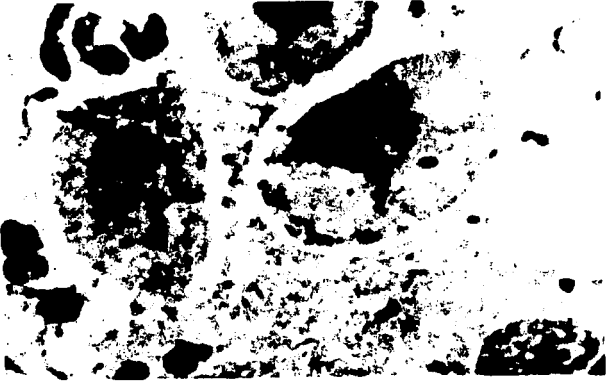


FIGURA 11.

Se observan grandes vacuolas en el citoplasma, conteniendo una inclusión única central.



FIGURA 12.

Inclusión Nebulosa. Se observa una célula epitelial con una gran vacuola citoplásmica conteniendo una inclusión nebulosa (flecha).



FIGURA 13.

Inclusión Terminal. En una vacuola citoplásmica se observan múltiples inclusiones tanto basófilas como eosinófilas.

4. RESULTADOS

Se encontraron once muestras positivas a Chlamydia trachomatis por el método de Inmunofluorescencia (22%) y siete muestras positivas por el método citológico con tinción de Papanicolaou (14%).

Todas las muestras que se encontraron positivas por tinción de Papanicolaou lo son también por el método de inmunofluorescencia. Los resultados que no corresponden a ambos métodos son cuatro muestras positivas a Inmunofluorescencia y negativas a Papanicolaou. (Cuadro # 1).

Según los resultados anteriores, se obtuvieron los siguientes datos para el método evaluado: (10).

Sensibilidad : 73%

Especificidad : 100%

Valor predictivo positivo : 100%

Valor predictivo negativo : 91%

Exactitud : 93%

Prevalencia : 28%

Las alteraciones citológicas observadas en las muestras positivas a clamidia fueron: vacuolización, metaplasia, paraqueratosis, binucleación, halos perinucleares y fagocitosis de polimorfonucleares.

En las muestras negativas a clamidia se encontró paraqueratosis en un caso que presentó además Trichomonas vaginalis y halos perinucleares en otro caso, las demás muestras negativas no presentaron alteraciones. (Cuadro # 4).

CUADRO # 1

Resultados de citología y su comparación con inmunofluorescencia.

| No. | REACCION | | FLORA | | IMAGEN CITOLOGICA | PAPANIC. IF | |
|-----|--------------|------------|------------|--|--|-------------|---|
| | INFLAMATORIA | BACTERIANA | | | | | |
| 1 | +++ | | mixta | | normal | - | - |
| 2 | + | | bacilar | | normal | - | - |
| 3 | +++ | | cocoide | | normal | - | - |
| 4 | + | | bacilar | | normal | - | - |
| 5 | ++ | | bacilar | | normal | - | - |
| 6 | - | | bacilar | | normal | - | - |
| 7 | + | | cocoide+++ | | normal | - | - |
| 8 | - | | bacilar | | normal | - | - |
| 9 | + | | cocoide | | normal | - | - |
| 10 | + | | cocoide+++ | | normal | - | - |
| 11 | + | | mixta | | normal | - | - |
| 12 | ++++ | | bacilar | | paraqueratosis, meta- plasia binucleación | + | + |
| 13 | ++ | | cocoide | | normal | - | - |
| 14 | + | | bacilar | | normal | - | - |
| 15 | + | | cocide | | normal | - | - |
| 16 | + | | cocide | | normal | - | - |

| No. | REACCION | FLORA | IMAGEN CITOLOGICA | PAPANIC. IF | |
|-----|----------|---------|------------------------------------|-------------|---|
| 17 | +++ | cocoide | paraqueratosis, Trico - mona v. | - | - |
| 18 | + | mixta | normal | - | - |
| 19 | - | bacilar | normal | - | - |
| 20 | +++ | cocoide | normal | - | - |
| 21 | ++++ | cocoide | normal | - | - |
| 22 | +++ | cocoide | normal | - | - |
| 23 | + | cocoide | normal, Gardnerella v. | - | - |
| 24 | ++ | cocoide | normal | - | - |
| 25 | - | mixta | normal | - | - |
| 26 | ++ | cocoide | eritrocitos, progesta- cional | - | - |
| 27 | +++ | bacilar | metaplasia | + | + |
| 28 | ++ | cocoide | normal. | - | - |
| 29 | - | cocoide | normal | - | - |
| 30 | +++ | --- | normal | - | - |
| 31 | + | mixta | normal | - | - |
| 32 | +++ | mixta | normal | - | - |
| 33 | ++ | bacilar | normal | - | - |

| No. | REACCION | FLORA | IMAGEN CITOLOGICA | PAPANIC. IF | |
|-----|----------|------------|--|-------------|---|
| 34 | +++ | - | metaplasia, binucleación fagocitosis | + | + |
| 35 | + | bacilar | normal | - | - |
| 36 | ++ | - | metaplasia, eritrocitos halos perinucleares | + | + |
| 37 | ++ | - | metaplasia, paraqueratosis | + | + |
| 38 | ++ | bacilar | <u>Gardnerella vaginalis</u> , espermatozoides | - | + |
| 39 | + | - | normal | - | - |
| 40 | ++ | cocoide+++ | halos perinucleares | - | + |
| 41 | ++ | bacilar | halos perinucleares | - | - |
| 42 | ++ | bacilar | binucleación, vacuolización | - | - |
| 43 | + | bacilar+++ | normal | - | - |
| 44 | + | cocoide | binucleación, paraqueratosis | - | + |
| 45 | + | mixta | normal | - | + |
| 46 | - | bacilar | normal | - | - |
| 47 | + | cocoide | normal | - | - |

| | REACCION | FLORA | | |
|-----|--------------|------------|-------------------|-------------|
| No. | INFLAMATORIA | BACTERIANA | IMAGEN CITOLOGICA | PAPANIC. IF |
| 48 | + | bacllar | binucleación | - - |
| 49 | ++ | - | metaplasia | + + |
| 50 | + | - | normal | - - |

CUADRO # 2

Resultados de bacteriología y su comparación con inmunofluorescencia.

| No. | (400 X) | (Tinc. Gram) | CULTIVO | PAPANIC | IF |
|-----|------------|--------------------------|----------------|---------|----|
| 1 | 12 - 15 | bacilos g - | sin desarrollo | - | - |
| 2 | 10 - 12 | B D ++ | F N | - | - |
| 3 | 10 | bacilos g - pleomórficos | sin desarrollo | - | - |
| 4 | 6 - 8 | B D +++ | F N | - | - |
| 5 | 12 - 14 | B D ++ | F N | - | - |
| 6 | 10 | B D | F N | - | - |
| 7 | 4 - 6 | cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 8 | 0 - 2 | bacilos g - | E. coli | - | - |
| 9 | 6 - 8 | cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 10 | 10 - 12 | cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 11 | 4 - 6 | levadura, B D | F N | - | - |
| 12 | 8 - 10 | B D | sin desarrollo | - | - |
| 13 | 12 - 15 | Moraxella sp. | F N | - | - |
| 14 | 4 - 6 | B D | sin desarrollo | - | - |
| 15 | abundantes | lavaduras, B D | sin desarrollo | - | - |
| 16 | abundantes | B D ++ | F N | - | - |

| LEUCOCITOS/CAMPO | | FROTE DIRECTO | | | |
|------------------|------------|------------------|--|---------|----|
| No. | (400 X) | (Tinc. Gram). | CULTIVO | PAPANIC | IF |
| 17 | 12 - 14 | B D, Trichomonas | F N | - | - |
| 18 | abundantes | B D ++ | Micrococcos | - | - |
| 19 | escasos | B D | sin desarrollo | - | - |
| 20 | 8 - 10 | cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 21 | abundantes | diplococos g - | <u>Neisseria</u> <u>gonorrhoeae</u> | - | - |
| 22 | 10 - 12 | cocobacilos g - | sin desarrollo | - | - |
| 23 | escasos | cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 24 | 8 - 10 | B D ++ | F N | - | - |
| 25 | 8 - 10 | B D + | sin desarrollo | - | - |
| 26 | 4 - 6 | cocobacilos g - | sin desarrollo | - | - |
| 27 | 18 - 20 | B D, bacilos g - | E. coli | + | + |
| 28 | 8 - 10 | cocos g - | <u>Gardnerella</u> <u>vaginalis</u> | - | - |
| 29 | 15 - 18 | B D | sin desarrollo | - | - |
| 30 | 4 - 6 | bacilos g - | E. coli | - | - |
| 31 | 12 - 15 | bacilos g - | F N | - | - |
| 32 | 12 - 14 | B D | F N | - | - |
| 33 | 12 - 14 | B D | F N | - | - |

| LEUCOCITOS/CAMPO | | FROTE DIRECTO | | | |
|------------------|---------|------------------------------|--|------------|---|
| No. | (400 X) | (Tinc. Gram) | CULTIVO | PAPANIC IF | |
| 34 | 10 - 12 | bacilos g -, cocos g + | FN | + | + |
| 35 | 8 - 10 | BD, bacilos g - | sin desarrollo | - | - |
| 36 | 20 - 24 | bacilos g + | FN | + | + |
| 37 | 20 - 24 | bacilos g + | FN | + | + |
| 38 | 2 - 4 | cocobac. g -, co- cos g + | sin desarrollo | - | + |
| 39 | 12 - 15 | bac g -, cocos g + | sin desarrollo | - | - |
| 40 | 2 - 4 | cocobac g -, leva- duras | <u>Candida albi-</u> <u>cans</u> | - | + |
| 41 | 8 - 10 | BD | FN | - | - |
| 42 | 8 - 10 | bac. g +, levadu- ras | <u>Candida albi-</u> <u>cans</u> | - | - |
| 43 | 6 - 8 | bac. g +, levadu- ras | <u>Candida albi-</u> <u>cans</u> | - | - |
| 44 | 8 - 10 | BD | FN | - | + |
| 45 | 10 - 12 | cocobacilos g - | <u>Gardnerella</u> <u>vaginalis</u> | - | + |
| 46 | 2 | BD | FN | - | - |

LEUCOCITOS/CAMPO FROTE DIRECTO

| No. | (400 X) | (Tinc. Gram) | CULTIVO | PAPANIC IF | |
|-----|---------|-----------------|---------------------|------------|---|
| 47 | 4 - 6 | cocobacilos g - | Enterobacter sp. | - | - |
| 48 | 4 - 6 | B D | F N | - | - |
| 49 | 20 - 24 | bacilos g + | F N | + | + |
| 50 | 6 - 8 | - | sin desarrollo | - | - |

BD = Bacilo Döderlein

FN = Flora Normal

CUADRO # 3

Bacterias observadas en los cultivos de las muestras positivas a Chlamydia trachomatis por ambas técnicas (Papanicolaou e IF).

| MUESTRA No. | FROTIS DIRECTO | CULTIVO |
|-------------|----------------------|-------------------------|
| 12 | B D | sin desarrollo |
| 27 | B D, bacilos g - | <u>Escherichia coli</u> |
| 29 | B D | sin desarrollo |
| 34 | bacilos g -, cocos g | Flora normal |
| 36 | bacilos g + | Flora normal |
| 37 | bacilos g + | Flora normal |
| 49 | bacilos g + | Flora normal |

CUADRO # 4

Resultados de la Bacteriología y la Citología de las muestras que fueron falsos negativos por el método evaluado.

MUESTRA

| No. | FROTIS DIRECTO | CULTIVO | IMAGEN CITOLOGICA |
|-----|-----------------------|-------------------------|------------------------------|
| 38 | cocobac g -, cocos g+ | sin desarrollo | <u>Gardnerella vaginalis</u> |
| 40 | cocobac g-, levaduras | <u>Candida albicans</u> | halos perinucleares |
| 44 | B D | Flora normal | binucleación, paraqueratosis |
| 45 | cocobacilos g - | <u>Gardnerella v.</u> | normal |

5. ANALISIS DE RESULTADOS

En el presente trabajo se evaluó el método citológico con tinción de Papanicolaou para el diagnóstico de la infección cervical por Chlamydia trachomatis. Se encontró con una sensibilidad del 73%, una especificidad del 100%, un valor predictivo positivo del 100% y uno negativo del 91%.

La sensibilidad obtenida se encuentra en un valor cercano al de los autores que le dan validez diagnóstica al método, con reportes de sensibilidad superiores al 80%.

Tal decremento en la sensibilidad se ve influido por los resultados discordantes que se encontraron en los métodos empleados, los cuales fueron falsos negativos en todos los casos y para los cuales se pueden hacer algunas observaciones. (Cuadro # 4).

En dos de los cuatro casos se identificó la presencia de Gardnerella vaginalis en uno por la citología y la tinción de Gram y en el otro por Gram y cultivo de la bacteria en medio sintético. En un tercer caso se observaron cocobacilos Gram (-) en el frotis directo. En estos tres casos se puede pensar en la posibilidad de una reacción cruzada por los anticuerpos fluorescentes dirigidos contra el cuerpo elemental de clamidia, ya que este presenta una pared Gram (-) y Gardnerella, además de ser un Gram (-) es una de las bacterias con las que se llega a reportar cruces en la literatura. (23).

En el caso restante se observan en la citología dos de las alteraciones inflamatorias que se han asociado en segundo y tercer lugar a la presencia de clamidia en el presente trabajo, como son paraqueratosis y binucleación, que además se menciona en casi la totalidad de reportes bibliográficos del tema. Este puede ser uno de los casos que escapan a la sensibilidad del método, ya que aunque haya alteraciones y la fluorescencia sea positiva no se encontraron cuerpos de inclusión.

El valor predictivo en el presente trabajo obtuvo un valor del 100%, lo cual significa que en las condiciones y en la población con las que se trabajó, la probabilidad de que un resultado positivo por el método evaluado nos indique que el paciente realmente tiene la infección es del 100%.

Se encontró un valor tan alto, debido a que todas las muestras que se consideraron positivas por Papanicolaou, lo fueron también por fluorescencia, es decir, que no hubo falsos positivos. Consideramos que el éxito diagnóstico que esto representa se puede deber a las siguientes razones:

Primeramente hay que recordar que aunque la sensibilidad es un valor constante que nos habla de las propiedades y la certeza intrínseca del método, los valores predictivos pueden variar en forma marcada entre poblaciones de diferente prevalencia. Por lo que la selección de la población es muy importante para obtener resultados favorables. (10,20).

Entre los autores que niegan validez para el método, encontramos en sus reportes poblaciones que presentan menos de un 15% de positivos, como en los casos de Lindner (20) con un 12.3% y Geerling (15) con un 7%, lo cual indica que en poblaciones de tan baja prevalencia el método pierde valor predictivo. En contraste, entre los autores que apoyan el método encontramos poblaciones seleccionadas más cuidadosamente y con porcentajes de positividad tan altos como el de Naib (31) con un 61% en madres de neonatos con infección ocular.

En seguida hay que considerar los criterios que se toman en cuenta para asignar la positividad de una muestra y el valor y la utilidad que se llegue a obtener de las imágenes citológicas.

Al respecto encontramos que los autores que no dan validez al método se basan en los criterios de Gupta (19) únicamente, en un criterio modificado, en los criterios rutinarios de su laboratorio de Patología (28) o simplemente evalúan la relación de cada una de las imágenes y alteraciones que se presentan con la infección, pero no en conjunto.

La lesión causada inicialmente por la infección es una inflamación cervical, como se ha mencionado anteriormente, por consiguiente es de esperarse que se encuentren alteraciones inflamatorias en las células, aunque éstas sean alteraciones inespecíficas, como la diátesis inflamatoria del extendido. La vacuolización y la aparición de células parabasales por la erosión del epitelio no son condiciones específicas a la infección, pero exigen cuidado, ya que en las etapas iniciales del ciclo

de vida de la bacteria, las vacuolas son pequeñas y las inclusiones que contienen a veces no son visibles en la observación panorámica y requieren mayor aumento, y es frecuente encontrarlas en células parabasales.

El hallazgo de fagocitosis de polimorfonucleares por células epiteliales es también inespecífico y es frecuente, y se le ha dado estrecha relación por algunos autores (38) por lo que vale la pena considerarlo.

En cuanto a las inclusiones citoplásmicas que si se pueden relacionar directamente con la presencia de la infección, hay que insistir en que la variedad de imágenes que se observan en el ciclo de vida de la bacteria es mayor que el que describió Gupta (19) en 1979, que sólo describe tres de las seis imágenes diferentes que se pueden observar en la práctica y que se apoyan en la literatura en las publicaciones de Shiina (1985) y Sekhri (1988) y que es necesario conocer para poder encontrarlas en el caso de que se presenten en el extendido.

En relación con lo anterior es de suma importancia el abordar el estudio de cada paciente desde un punto de vista conjunto en cuanto a lo bacteriológico, clínico y citológico para contar con un criterio más amplio y real, del cual se obtenga un beneficio mayor para el paciente.

En lo que respecta a esto, en las muestras que resultaron verdaderos positivos, es decir, positivo a Papanicolaou a inmunofluorescencia se encontró flora normal, por lo tanto, en el

presente trabajo no se encontró ningún otro patógeno asociado identificable por los procedimientos que se emplearon, lo cual puede resultar de utilidad para la selección de los pacientes, en los casos de leucorreas recurrentes y resistentes al tratamiento antibacteriano, en los cuales no se identifique ningún otro patógeno en el diagnóstico rutinario, tanto como en casos de problemas postgonocócicos que regresen al laboratorio, aún después de haber eliminado a Neisseria gonorrhoeae.

TRATAMIENTO DE LOS RESULTADOS.

A partir de los resultados obtenidos se calcularon los valores de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo negativo, exactitud y prevalencia, construyendo una tabla de 2 X 2 como la que se muestra a continuación: (10).

TABLA 2
TABLA DE 2 X 2 QUE DEMUESTRA UNA COMPARACION "A CIEGAS" CON EL
"ESTANDAR IDEAL"

| | | Estándar ideal | | |
|---|--|---------------------------------|------------------------------------|---------|
| | | El paciente tiene la enfermedad | El paciente no tiene la enfermedad | |
| Resultado de la prueba (conclusión basada en los resultados de la prueba) Citología exfoliativa | Positivo: El paciente parece tener la enfermedad | Verdaderos positivos a | Falsos positivos b | a + b |
| | Negativo: El paciente parece no tener la enfermedad | Falsos negativos c | Verdaderos negativos d | c + d |
| | | a + c | b + d | a+b+c+d |

Propiedades estables:

$$a / (a+c) = \text{sensibilidad}$$

$$d / (b+d) = \text{especificidad}$$

Propiedades dependientes de la frecuencia:

$$a / (a+b) = \text{valor predictivo positivo}$$

$$d / (c+d) = \text{valor predictivo negativo}$$

$$(a+d) / (a+b+c+d) = \text{exactitud}$$

$$(a+c) / (a+b+c+d) = \text{prevalencia}$$

6. CONCLUSIONES

A).- El método citológico con tinción de Papanicolaou para el diagnóstico de la infección cérvico-vaginal por Chlamydia trachomatis, trabajando en condiciones óptimas y con una población seleccionada de características semejantes a la que se incluyó en el presente trabajo, se puede considerar como adecuado.

B).- Las imágenes citológicas que se observan en la infección por Chlamydia Trachomatis, se pueden dividir en imágenes sugestivas e imágenes concluyentes y son las siguientes:

Imágenes sugestivas:

- Reacción inflamatoria abundante con presencia de histiocitos y linfocitos.
- Metaplasia.
- Vacuolización.
- Erosión del epitelio.
- Presencia de leucocitos Polimorfonucleares incluidos en vacuolas citoplásmicas de células epiteliales.
- Paraqueratosis.
- Binucleación o multinucleación.

Imágenes concluyentes:

- Microvacuolización del citoplasma con un gránulo pequeño en la vacuola, situados tanto en la periferia del citoplasma como en la región perinuclear.
- Inclusiones eosinófilas o basófilas de diámetro entre 5 y 10 micras contenidas en vacuolas.
- Vacuolas ocupando casi la totalidad del citoplasma, incluso desplazando al núcleo y conteniendo:
 - a) Inclusión única central.
 - b) Inclusión nebulosa.
 - c) Múltiples inclusiones condensadas, tanto basófilas como eosinófilas.

7. RECOMENDACIONES

Para lograr las condiciones óptimas de trabajo, necesarias para obtener la mayor eficiencia diagnóstica posible por el método evaluado, es necesario tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

Es de suma importancia manejar al paciente como un equipo de salud, en donde se incluya la participación conjunta del personal clínico, de diagnóstico microbiológico y de diagnóstico citológico, existiendo una estrecha comunicación entre las tres áreas, para de esta forma lograr un enfoque multidisciplinario que permita primeramente hacer una selección cuidadosa de la población sospechosa de la infección y a la que se aplicará el método, eliminando previamente a los patógenos de diagnóstico rutinario. En seguida se requiere la obtención de una muestra de calidad, la cual debe contar con la presencia de células endocervicales y/o metaplásicas y que se incluya material obtenido de ulceraciones, erosiones y otro tipo de lesiones visibles macroscópicamente en caso de que existan.

También es importante contar con una buena tinción citológica, ya que el diagnóstico se basa en la presencia de imágenes y alteraciones citoplásmicas que son observables en muestras teñidas adecuadamente.

Finalmente es necesario que se haga una observación a conciencia de la laminilla y que se tomen en cuenta todas las imágenes

citológicas descritas, para lo cual es necesario tener conocimiento de ellas por lo que es importante el adiestramiento y la actualización del personal que realiza los estudios.

En los casos en que la imagen de la citología resulte sospechosa de infección y en conjunto con los criterios clínico y microbiológico, se puede tornar a tal paciente como sospechoso y, en caso de no contar con un método confirmatorio, es válido aplicar tratamiento como confirmación de la infección. (6,23).

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALARY M, JOLY JR, POULIN C. Incidence of four sexual transmitted diseases in a rural community: A prospective study. Am J Epidemiol 1989; 130: 547-54.
- 2.- ALLERDING T, SCOTT WJ, BOARDMAN R. Association of Human Papilloma virus and Chlamydia infections with incidence Cervical neoplasia. Acta Cytol 1985; 29: 60.
- 3.- ARROYO G, LINNEMANN G, WESSELER T. The role of Papanicolaou Smear in the Diagnosis of Chlamydia Infections. Acta Cytol 1987; 31: 649-57.
- 4.- CARR M, HANA L, HAWETZ E. Chlamydiae Cervicitis and Abnormal Papanicolaou Smears. Obstet Gynecol 1979; 50: 27-30.
- 5.- Center for Disease Control. Atlanta, Georgia. Infecciones por Chlamydia trachomatis. Pautas para su prevención y control. Reporte 1985.
- 6.- Center for Disease Control. Morbidity and Mortality Weekly Report. Sexually Transmitted Diseases, Treatment Guidelines. 1989; 30 27-34.
- 7.- CHERNESKY M, CASTRICIAHO S, SELLORS J, STUART I, CUNNINGHAM I, LANDIS S, SEIDELMAN W, GRANT L. Detection of Chlamydia trachomatis Antigens in urine as alternative to swabs and cultures. J. Inf. Dis. 1990; 161: 124-26.

- 8.- De BORGES R, CARMONA O, MACHADO H, ESPARZA J. Chlamydial Infection in Papanicolaou Stained Smear. *Acta Cytol* 1984; **28**: 471-76.
- 9.- DELEON RODRIGUEZ I, JIMENEZ ESCALANTE Z. El Diagnóstico Citológico de Clamidia. En prensa en *Bioquímica*.
- 10.- Departamento de Epidemiología Clínica y Bioestadística. Universidad McMaster, Hamilton Ontario, Canadá. Como leer revistas médicas. *La Rev. Invest. Clin.* 1988; **40**: 73-83.
- 11.- DORMAN S, LANOS L, CARON L, SMITH T, GUELLNER J, Banks P. Detection of *Chlamydia trachomatis* in Papanicolaou Stained Cervical Smears by an Indirect Immunoperoxidase Method. *Acta Cytol* 1985; **29**: 665-69.
- 12.- FRIIS RR, Interaction of L cells and *Chlamydia psittaci*: entry of the parasite and the host responses to its development. *Ja Bacteriol* 1972; **110**: 706-21.
- 13.- GARCIA EG, Biología Molecular e Implicaciones Clínicas del Género *Chlamydia*. *Infectología* Año 10, núm. 10, 11, 12 - 1987.
- 14.- GAUDIN OG. El papel de las Chlamidia en la Patología Humana, *Medicina de Hoy y del Futuro*. Saint-Etienne, Francia. 1979.
- 15.- GEERLING S, NETTUM J, LINDNEER S, MILLER S, DUTTON L, STEVEN W. Sensitivity and Specificity of the Papanicolaou-Stained Smear in the

- Diagnosis of Chlamydia trachomatis infection. Acta Cytol 1985; 20: 671-75.
- 16.- GHIRARDINI C, BOSELI F, MESSI P, RIVASI F, TIANINI G. Chlamydia trachomatis Infections in Asiptomatic Women. Acta Cytol 1989; 33.
 - 17.- GIACOMINI G, BIANCHI G, MORETTI D. Detection of Sexually Transmitted Diseases by Urethral Cytology. The Ignores Males Counterpart of Cervical Cytology. Acta Cytol. 1989; 33: 11-15.
 - 18.- GRAYSTON T, MORDHOST C, BRUU AL, VENE S, WANG SP. Countrywide epidemics of Chlamydia pneumoniae strain TWAR 1981-1983. J Inf Dis 1989; 159: 1111.
 - 19.- GUPTA PK, LEE E, EROZAN Y, FROST J, GADES S, DONOVAN P, Cytologic Investigation in Chlamydia Infection. Acta Cytol 1979; 23: 315-20.
 - 20.- HANDSFIELD H, JASMAN L, ROBERTS P, HANSON V, KOTHENBEUTEL R, STAMM W, Criteria for Selective Screening for Chlamydia trachomatis Infection in Women atending Family Planing clinics. JAMA 1986; 255: 1730-34.
 - 21.- HARNEKAR A, LEIMAN G, MARKOWITZ S, Cytologically Detected Chlamydia Changes and Progression of Cervial Intraepitelial Neoplasias. Acta Cytol 1985; 29: 651-54.

- 22.- HEGGIE A, WENTZ B, REAGAN I, ANTHONY D. Roles of Cytomegalovirus and Chlamydia trachomatis in the Induction of Cervical Neoplasia in the Mouse. *Cancer Res* 1986; 46: 5211-14.
- 23.- HIPP SS, YANGSOOK H, MURPHY D. Assessment of Enzyme Immunoassay and Immunofluorescence. Test for Detection of Chlamydia trachomatis *J. Clin Microbiol* 1988; 25: 1938-43.
- 24.- KIVIAT N, PAAVONEN J, BRUKWAY J, CRITCHLOW C, BRUNHAM R, STEVENS C, STAM W, LOU C, DE ROUENT T, HOLMES K. Cytologic manifestations of Cervical and Vaginal Infections. *JAMA* 1985; 253: 989-96.
- 25.- KIVIAT N, PETERSON M, KINNEI-THOMAS E, TAM M, STAM W, HOLMES K. Cytological Manifestations of Cervical and Vaginal Infections. *JAMA* 1985; 253: 997-1000.
- 26.- KOPROWSKA I, ZIPFEL S. MONOCLONAL ANTIBODY (CE-407) Binding Antigens of Exfoliated Cervical Neoplastic Cells and Epithelial Cells in Human Papillomavirus and Chlamydia Associated Cervicitis. *Acta Cytol* 1988; 22: 576.
- 27.- KORDOVA N, Chlamydiae, Rickettsiae and their Cell Walls defective variants. *Can J of Microbiol* 1978; 24: 339-52.
- 28.- LINDNER N, GEERLING S, NETTUM J, MILLER S, ALTMAN K. The Cytologic Features of Chlamydial Cervicitis. *Acta Cytol* 1985; 29: 667-82.

- 29.- MECSEI R, HAUGEN O, HALVORSEN L, DALEN A. Genital Chlamydia trachomatis Infections In patients with Abnormal Cervical Smears: Effect of Tetracycline Treatment on Cell Changes. *Obstet Gynecol* 1989; 73: 317-21.
- 30.- MOLLER B, ALLEN J, TOFT B, HANSEN K. Pelvic Inflammatory Disease after Histerosalpingograpy Associated with Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis. *Br Obstet Gyneacol* 1984; 21: 1181-87.
- 31.- NAIB ZUTHER. Cytology of TRIC Agent Infection of the Eye of Newborn Infants and their Mother Genital Tracts. *Acta Cytol* 1970; 14: 390-95.
- 32.- PAAVONEN J, VESTERINEN E, MEYER B Y AL. Genital Chlamydia trachomatis Infections In Patients with Cervical Atypia, *Obstet Gynecol* 1979; 54: 289.
- 33.- PAAVONEN J, VESTERINEN E, MEYER B ET AL. Colposcopic and Histologic Findings in Cervical Chlamydia Infection. *Obstet Gynecol* 1982; 59: 712-14.
- 34.- PETERSON E, DE LA MAZA L. Chlamydia Parasitiam: Ultrastructural Characterization of the Interaction Between the Chlamydial Cell Envelope and the Host Cell. *J Bacteriol* 1988; 170: 1389-92.
- 35.- QUINN T, GUPTA PK, BURKMAN R, KAPPUS E, BARBACCI M, SPENCE M. Detection of Chlamydia trachomatis Cervical Infection: A

- Comparison of Papanicolaou and Immunofluorescence with Cell Culture. Am J Obstet Gynecol 1987; 157: 394-99.
- 36.- SCHACHTER J, HILL E, KING E, COLLEMAN V, JONES P, MEYER F. Chlamydial Infection in Women with Cervical Displasia. Am J Obstet Gynecol 1975; 123: 753-57.
- 37.- SCHACHTER J, HILL E, KING E, HEILBRON D, RAY R, MARGOLIS A, GREENWOOD S. Chlamydia trachomatis and Cervical Neoplasia. JAMA 1982; 248: 2134-38.
- 38.- SEKRI A, LE FAU A, TRADJEU JC, ANTZ M, FABRE M. What Can Be Expected from the Cytologic Examination of Cervicovaginal Smears for the Diagnosis of Chlamydia trachomatis Infection? Acta Cytol 1988; 32: 805-10.
- 39.- SHIINA Y. Cytomorfologic and Immunocytochemical Studies of Schlamydial Infections in Cervical Smears. Acta Cytol 1985; 29.
- 40.- TODD WJ, CALDWELL HD. The Interaction of Chlamydia trachomatis with Host Cells: Ultrastructural Studies of the Mechanism of Release of Biovar II Strain from HeLa 229 Cells. J. Inf Dis 1985; 151: 1037-44.
- 41.- WASHINGTON E, JHONSON L. Chlamydia trachomatis infections in the U.S. What are they costing us? JAMA 1987; 257: 2070-72.