

11234
28



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "BERNARDO SEPULVEDA"
DIVISION DE OFTALMOLOGIA

UTILIDAD DEL METODO DE INMUNOFLUORESCENCIA EN
LA DETECCION DE INFECCION OCULAR POR CHLAMYDIA
TRACHOMATIS EN NIÑOS ESCOLARES ASINTOMATICOS
DE UNA POBLACION INDIGENA DE CHIAPAS, MEXICO

TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGIA
P R E S E N T A
DRA. LIDIA DIAZ VARGAS

DIVISION DE OFTALMOLOGIA, HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS

MEXICO, D. F.,

2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



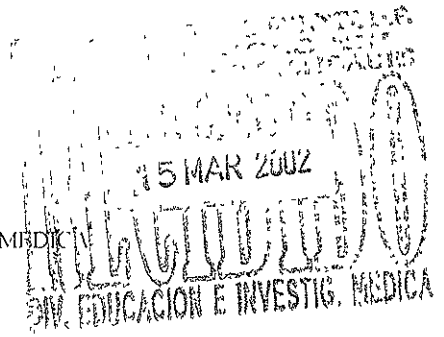
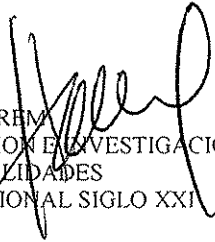
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

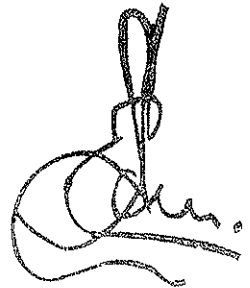
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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.

DR JOSE HALABE CHEREM
DIVISION DE EDUCACION E INVESTIGACION MEDICA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



DR ERNESTO DIAZ DEL CASTILLO
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACION
EN OFTALMOLOGIA
JEFE DIVISION DE OFTALMOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI



ASESORES DE TESIS

DRA IRMA HUERTA ALBAÑIL
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE OFTALMOLOGIA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI




DR PABLO GOLDSCHMIDT
DR EN FARMACOLOGIA MOLECULAR Y VIROLOGO
PROFESOR CATEDRATICO EXTRAORDINARIO INVITADO POR LA
DIRECCION GENERAL EDUCATIVA Y CULTURAL DE LA SECRETARIA DE
RELACIONES EXTERIORES
RESPONSABLE DE LA SECCION DE MICROBIOLOGIA DEL BANCO DE
TEJIDOS HUMANOS DE PARIS

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la
UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el
contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: DIAZ VARGAS

FECHA: 12-09-2002

FIRMA: 

La vida solo puede ser comprendida hacia atrás,
pero únicamente puede ser vivida hacia delante

S. Kierkegaard

INDICE

Antecedentes históricos	2
Clasificación y características de las chlamydias	2
Enfermedades oculares producidas por chlamydias	3
Pruebas diagnosticas de laboratorio para la detección de chlamydia	5
Algunos factores sociodemograficos del estado de Chiapas	7
Planteamiento del problema	10
Objetivo	10
Hipótesis	10
Material y métodos	11
Resultados	12
Discusión	15
Conclusión	16
Bibliografía	18

RESUMEN

La *Chlamydia Trachomatis* es la causa más común de conjuntivitis folicular crónica, inicia como una conjuntivitis folicular y si no es tratada persiste hasta producir ceguera. Afecta a cerca de 400 millones de personas en el mundo, principalmente en países pobres. El diagnóstico se basa en cultivos, serología y determinación de anticuerpos.

La inmunofluorescencia ha demostrado ser de utilidad por lo que es una opción de diagnóstico en áreas de pocos recursos.

OBJETIVO Determinar la utilidad de la inmunofluorescencia en el diagnóstico de conjuntivitis por *Chlamydia* en una población de niños escolares asintomáticos en San Cristóbal, Chiapas.

MATERIAL Y METODOS Estudio prospectivo, descriptivo, que incluyó niños de 6 a 12 años de edad, sin síntomas oculares. Se realizó evaluación conjuntival con microscopía, a quienes presentaron folículos conjuntivales se les tomó muestra de la conjuntiva tarsal mediante raspado y se analizó por inmunofluorescencia.

RESULTADOS Se examinaron un total de 486 niños asintomáticos, de estos 149 (30.65%) presentaron folículos conjuntivales y son el motivo de este análisis.

De los niños con folículos conjuntivales, se documentó *Chlamydia trachomatis* en 25 de las muestras analizadas por inmunofluorescencia, (12 niños y 13 niñas) lo que corresponde al 16.77% de afectación.

CONCLUSIONES La inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales es una técnica rápida, eficaz y de fácil adquisición para detectar conjuntivitis crónica por *Chlamydia*, tiene aplicación en nuestro medio rural, aunque requiere una interpretación experta y microscopio fluorescente.

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Desde tiempos remotos se han observado y descrito las manifestaciones de enfermedad por chlamydias. El tracoma es una de las enfermedades conocidas y descritas en Egipto 15 siglos antes de Cristo. El papiro de Ebers escrito hace 3800 años, es uno de los documentos médicos más antiguos que se conocen, y ahí describe perfectamente las características clínicas del tracoma así como diversas formas de tratamiento, como el uso del sulfato de cobre, que aun se utiliza en algunas regiones del mundo. Por otra parte los bubones inguinales del linfogranuloma en hombres, fueron descritos desde hace 200 años y la psitacosis o fiebre de los loros fue observada en Suiza en 1880.

En 1910 ya se relacionaba la conjuntivitis de los recién nacidos con infecciones del cervix de las madres mediante inclusiones citoplasmáticas en el raspado de la conjuntiva y del cervix.

Años después se logró cultivar a la *Chlamydia* en 1957, aunque con algunas dificultades por contaminación. En 1965 se describe un nuevo método de cultivo para aislar al germen con mejores resultados. Y a partir de 1968 se logró describir la existencia de varias especies de *chlamydia*.

CLASIFICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS CHLAMYDIAS

Los miembros de la familia *Chlamydiae* son bacterias intracelulares obligadas que fueron consideradas inicialmente como virus, ya que son parásitos intracelulares obligados de las células eucariotas debido a su incapacidad de sintetizar ATP. Poseen una membrana interna y externa, contienen ADN y ARN, presentan ribosomas procariotas S70, sintetizan sus propias proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, presentan diversas enzimas, se multiplican por fusión binaria y son sensibles a numerosos antimicrobianos.¹

Carecen de la capa de peptidoglucanos entre la membrana interna y externa, se multiplican en el citoplasma de sus células huésped, carecen de mecanismos para producir energía metabólica y no pueden sintetizar ATP, son parásitos intracelulares obligados.

Las *chlamydias* tienen dos formas diferentes: el cuerpo elemental, infeccioso, extracelular, de pequeño tamaño (300-400 nm), y el cuerpo reticulado, no infeccioso, intracelular y de mayor tamaño (800-1000 nm). El pequeño tamaño del cuerpo elemental lo sitúa entre los seres procariotas más diminutos.²

Las *chlamydias* se dividen en 4 especies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pecorum*. Solo las 3 primeras son reconocidas como patógenos humanos.^{1,3}

La *Chlamydia trachomatis* produce inclusiones intracitoplasmáticas compactas que contienen glucógeno. Incluye agentes de enfermedades humanas como tracoma, conjuntivitis de inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, cervicitis, neumonitis del lactante, linfogranuloma venéreo y además neumonitis en ratones.

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Desde tiempos remotos se han observado y descrito las manifestaciones de enfermedad por chlamydias. El tracoma es una de las enfermedades conocidas y descritas en Egipto 15 siglos antes de Cristo. El papiro de Ebers escrito hace 3800 años, es uno de los documentos médicos más antiguos que se conocen, y ahí describe perfectamente las características clínicas del tracoma así como diversas formas de tratamiento, como el uso del sulfato de cobre, que aun se utiliza en algunas regiones del mundo. Por otra parte los bubones inguinales del linfogranuloma en hombres, fueron descritos desde hace 200 años y la psitacosis o fiebre de los loros fue observada en Suiza en 1880.

En 1910 ya se relacionaba la conjuntivitis de los recién nacidos con infecciones del cervix de las madres mediante inclusiones citoplasmáticas en el raspado de la conjuntiva y del cervix.

Años después se logró cultivar a la *Chlamydia* en 1957, aunque con algunas dificultades por contaminación. En 1965 se describe un nuevo método de cultivo para aislar al germen con mejores resultados. Y a partir de 1968 se logró describir la existencia de varias especies de *chlamydia*.

CLASIFICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS CHLAMYDIAS

Los miembros de la familia *Chlamydiae* son bacterias intracelulares obligadas que fueron consideradas inicialmente como virus, ya que son parásitos intracelulares obligados de las células eucariotas debido a su incapacidad de sintetizar ATP. Poseen una membrana interna y externa, contienen ADN y ARN, presentan ribosomas procariotas S70, sintetizan sus propias proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, presentan diversas enzimas, se multiplican por fusión binaria y son sensibles a numerosos antimicrobianos.¹

Carecen de la capa de peptidoglucanos entre la membrana interna y externa, se multiplican en el citoplasma de sus células huésped, carecen de mecanismos para producir energía metabólica y no pueden sintetizar ATP, son parásitos intracelulares obligados.

Las *chlamydias* tienen dos formas diferentes: el cuerpo elemental, infeccioso, extracelular, de pequeño tamaño (300-400 nm), y el cuerpo reticulado, no infeccioso, intracelular y de mayor tamaño (800-1000 nm). El pequeño tamaño del cuerpo elemental lo sitúa entre los seres procariotas más diminutos.²

Las *chlamydias* se dividen en 4 especies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pecorum*. Solo las 3 primeras son reconocidas como patógenos humanos.^{1,3}

La *Chlamydia trachomatis* produce inclusiones intracitoplasmáticas compactas que contienen glucógeno. Incluye agentes de enfermedades humanas como tracoma, conjuntivitis de inclusión, uretritis no gonocócica, salpingitis, cervicitis, neumonitis del lactante, linfogranuloma venéreo y además neumonitis en ratones.

La *Chlamydia pneumoniae* produce inclusiones intracitoplasmáticas carentes de glucógeno. En los humanos es causa de infección del aparato respiratorio.

La *Chlamydia psittaci* produce inclusiones intracitoplasmáticas difusas sin glucógeno. Incluye a los agentes de la psittacosis en humanos, ornitosis en las aves, meningoneumonitis y neumonitis felina y otras enfermedades de animales.

La *Chlamydia trachomatis* como se menciona antes, produce un amplio espectro de enfermedades clínicas, es además la causa más común de conjuntivitis folicular crónica (cuadro 1) ^{4,5}

CUADRO 1 - DIFERENTES ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CHLAMYDIA Y LOS SEROTIPOS QUE LAS PRODUCEN

ESPECIES	SEROTIPOS	ENFERMEDAD
Trachomatis	D, E, F, G, H, I, J, K	Mujeres Cervicitis, salpingitis, embarazo ectópico, esterilidad, endometritis, perihapatitis Hombres Uretritis, epididimitis, prostatitis, S Reiter Adultos Conjuntivitis de inclusión Neonatos conjuntivitis de inclusión, neumonía, otitis media
Trachomatis	A, B, Ba, C	Tracoma
Trachomatis	L1, L2, L3	Linfogranuloma venéreo
Pneumoniae	TWAR	Infecciones respiratorias epidémicas
Psittaci	Animal	Enfermedades oculares y respiratorias raras

ENFERMEDADES OCULARES PRODUCIDAS POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS

El tracoma inicia como una conjuntivitis folicular y si no es tratada persiste hasta producir ceguera, esta enfermedad se encuentra en todo el mundo, es un problema mayor de salud pública en algunas partes de África, Oeste medio, India y sureste de Asia. Existen áreas endémicas también en América latina, Australia y las Islas Pacífico. Una conjuntivitis menos severa se observa en países tropicales y subtropicales ^{4,6}

Afecta a no menos de 400 millones de personas en el mundo, en el norte de África el porcentaje de preescolares infectados es de 70-90%, se estima que en el mundo 6 millones de personas sufren de ceguera y en la India hay más de 2 millones de ciegos a causa del tracoma ^{3,7}

El tracoma es una enfermedad asociada con la pobreza, en donde las condiciones insalubres favorecen la transmisión de un gran número de infecciones.

En México el tracoma ocular se ha observado como un padecimiento muy antiguo en la región de los altos del estado de Chiapas, favorecido por factores ambientales, demográficos, socioeconómicos y culturales, que al conjuntarse influyen negativamente sobre las condiciones de vida de las comunidades. A nivel nacional existen otros estados

La *Chlamydia pneumoniae* produce inclusiones intracitoplasmáticas carentes de glucógeno. En los humanos es causa de infección del aparato respiratorio.

La *Chlamydia psittaci* produce inclusiones intracitoplasmáticas difusas sin glucógeno. Incluye a los agentes de la psittacosis en humanos, ornitosis en las aves, meningoneumonitis y neumonitis felina y otras enfermedades de animales.

La *Chlamydia trachomatis* como se menciona antes, produce un amplio espectro de enfermedades clínicas, es además la causa más común de conjuntivitis folicular crónica (cuadro 1) ^{4,5}

CUADRO 1 - DIFERENTES ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CHLAMYDIA Y LOS SEROTIPOS QUE LAS PRODUCEN

ESPECIES	SEROTIPOS	ENFERMEDAD
Trachomatis	D, E, F, G, H, I, J, K	Mujeres Cervicitis, salpingitis, embarazo ectópico, esterilidad, endometritis, perihapatitis Hombres Uretritis, epididimitis, prostatitis, S Reiter Adultos Conjuntivitis de inclusión Neonatos conjuntivitis de inclusión, neumonía, otitis media
Trachomatis	A, B, Ba, C	Tracoma
Trachomatis	L1, L2, L3	Linfogranuloma venéreo
Pneumoniae	TWAR	Infecciones respiratorias epidémicas
Psittaci	Animal	Enfermedades oculares y respiratorias raras

ENFERMEDADES OCULARES PRODUCIDAS POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS

El tracoma inicia como una conjuntivitis folicular y si no es tratada persiste hasta producir ceguera, esta enfermedad se encuentra en todo el mundo, es un problema mayor de salud pública en algunas partes de África, Oeste medio, India y sureste de Asia. Existen áreas endémicas también en América latina, Australia y las Islas Pacífico. Una conjuntivitis menos severa se observa en países tropicales y subtropicales ^{4,6}

Afecta a no menos de 400 millones de personas en el mundo, en el norte de África el porcentaje de preescolares infectados es de 70-90%, se estima que en el mundo 6 millones de personas sufren de ceguera y en la India hay más de 2 millones de ciegos a causa del tracoma ^{3,7}

El tracoma es una enfermedad asociada con la pobreza, en donde las condiciones insalubres favorecen la transmisión de un gran número de infecciones.

En México el tracoma ocular se ha observado como un padecimiento muy antiguo en la región de los altos del estado de Chiapas, favorecido por factores ambientales, demográficos, socioeconómicos y culturales, que al conjuntarse influyen negativamente sobre las condiciones de vida de las comunidades. A nivel nacional existen otros estados

que en menor proporción han registrado casos de tracoma como Durango Sonora y Tabasco

En el país son muy pocos los datos que se han podido obtener sobre la incidencia de chlamydia. Hasta donde sabemos en el sector Salud únicamente los casos de linfogranuloma venéreo son de notificación obligatoria, por lo tanto, no se lleva un registro de todos los casos de chlamydia.

La transmisión es por medio de las secreciones y se da de ojo a ojo, de manos a ojos y por medio de ropa contaminada, e incluso las moscas que se alimentan de las secreciones oculares de niños infectados pueden actuar como un mecanismo de transmisión¹⁵. La enfermedad se presenta casi siempre en la infancia y se manifiesta de forma brusca acompañada de una inflamación de la conjuntiva, a las pocas semanas se produce una acumulación de linfocitos, polimorfo nucleares y de macrófagos, formando folículos. Después se produce una vascularización de la córnea, que generalmente afecta el limbo superior, seguida de una infiltración de la córnea (que recibe el nombre de pannus) fibrosis conjuntival y puede ocasionar ceguera parcial o total.

Asociado a infecciones bacterianas, especialmente especies de hemophilus, contribuye a la inflamación conjuntival y produce infiltrados marginales corneales. Aparece triquiasis en muchas personas afectadas. La ulceración corneal aparece como resultado de la constante abrasión del ojo por las pestañas invertidas y problemas de deficiencia de lágrimas con problemas surfactantes resultantes de la superficie conjuntival irregular¹.

El diagnóstico de tracoma puede hacerse con la presencia de dos de los signos: folículos linfoides en la conjuntiva tarsal superior, fibrosis conjuntival, pannus vascular, folículos limbicos o sus secuelas, depresiones de Herbert.

La clasificación de MacCallan describe la progresión del tracoma en estadios, que tienen aplicación clínica (cuadro 2).

Cuadro 2 - CLASIFICACION CLINICA DE MAC CALLAN

Tracoma I	Folículos inmaduros en el tarso superior, incluyendo área central, con escaso exudado conjuntival, sin fibrosis
Tracoma II	A Folículos maduros sobre tarso superior B Hipertrofia papilar marcada en el tarso superior
Tracoma III	Folículos presentes en el tarso y fibrosis de la conjuntiva
Tracoma IV	Sin folículos, pero fibrosis importante de la conjuntiva

La Organización Mundial de la Salud (WHO) recomienda la clasificación de enfermedad inflamatoria para casos individuales basado en la presencia de folículos linfoides (F), e hipertrofia papilar (P), para describir cambios inflamatorios¹.

PRUEBAS DIAGNOSTICAS DE LABORATORIO PARA LA DETECCIÓN DE CHLAMYDIA.

Existen numerosos métodos de la laboratorio para hacer el diagnostico de Chlamydia, algunos se basan en la demostración de la bacteria en su forma de cuerpo de inclusión o de cuerpos elementales, otros hacen el aislamiento en cultivos celulares y otros determinan el título de anticuerpos anti-chlamydia (cuadro 3)

Si bien aun se acepta que el cultivo es la técnica mas sensible y específica para el diagnostico de laboratorio de las infecciones por chlamydia, los métodos de inmunofluorescencia, reacción en cadena de la polimerasa y ELISA han suplantado a los cultivos en la mayoría de los laboratorios, debido a que estas pruebas son mas rápidas, fáciles de realizar y menos costosas que los cultivos^{8,9,10}

Cuadro 3 - TIPOS DE METODOS DIAGNOSTICOS DE LABORATORIO PARA CHLAMYDIA TRACHOMATIS

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS		
DEMOSTRACIÓN DE LA BACTERIA		
-	Papanicolaou	
-	Giemsa	
-	Lugol	
-	Gimenez	
-	Machiavello	
-	Hematoxilina Eosina	
-	Inmunofluorescencia	
-	Elisa	
-	Inmunoperoxidasa	
-	Microscopia electrónica	
-	PCR	
CULTIVO DE LA BACTERIA		
-	Embrión de pollo	
-	Ratón	
-	Cultivos celulares	Celulas de MacCoy
		Células HeLa 229
		Células BHK 21
PRUEBAS SERIOLÓGICAS		
-	fijación de complemento	
-	Microinmunofluorescencia	
-	Radio inmunoprecipitación	

DEMOSTRACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO

La metodología para encontrar el agente etiológico las podemos dividir en las que ponen de manifiesto los cuerpos de inclusión, como las técnicas de Giemsa, papanicolau, Giménez, Machiavello, Iodo y hematoxilina-eosina, y los métodos que se utilizan para demostrar los cuerpos elementales entre ellos la inmunofluorescencia, el ensayo inmunoenzimático y la inmunoperoxidasa

Se han aplicado la microscopía electrónica para la demostración de los cuerpos de inclusión y de los cuerpos elementales. Además, actualmente se describen técnicas de biología molecular como la utilización de sondas genéticas y amplificación de DNA^{1,3,15}

CULTIVO DEL AGENTE ETIOLÓGICO

El cultivo en células McCoy es el método de elección para la investigación de Chlamydia. Las líneas celulares que también han sido utilizadas, incluyen células HcLa 229, BHK-21 y células de riñón de mono verde (CHO). Además se puede utilizar embrión de pollo o inoculación en ratón

PRUEBAS SEROLÓGICAS

Las más utilizadas para detección del título de anticuerpos incluyen fijación del complemento, que es más útil en infecciones sistémicas como la psitacosis, el linfogranuloma venéreo y la neumonía. Para el diagnóstico de las infecciones superficiales como el tracoma, la conjuntivitis y las infecciones genitales se utiliza la inmunofluorescencia. Esta técnica también es útil en las infecciones por C. Neumoniae y puede ser utilizada en el diagnóstico de la psitacosis.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE C. TRACHOMATIS

El diagnóstico se puede realizar

Por medio de raspados conjuntivales teñidos con Giemsa, papanicolau o por inmunofluorescencia, en donde se observan las inclusiones características de Chlamydia dentro de las células epiteliales.

Aislamiento de bacterias en cultivos celulares

Determinación por inmunofluorescencia del título de anticuerpos en las lágrimas del paciente, aunque en la conjuntivitis es de poco valor diagnóstico

INMUNOFLUORESCENCIA

La experiencia inicial con los procedimientos de inmunofluorescencia se realizaba siguiendo una técnica de fluorescencia directa en la que los reactivos presentaban problemas de reacción cruzada con otras bacterias.

Recientemente se tienen anticuerpos monoclonales conjugados a fluoresceína los cuales se pueden adquirir en forma comercial. La prueba está basada en la detección de cuerpos elementales en los frotis, en contraste con los esfuerzos iniciales por detectar las inclusiones.

Numerosos autores han comparado los diversos métodos en busca de mayor rapidez, economía y accesibilidad. La inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales es una técnica rápida y eficaz para detectar conjuntivitis crónica por Chlamydia, tiene una sensibilidad de 80 a 90% y especificidad cercana a 97%, y es más rápida que el cultivo, aunque requiere una interpretación experta y microscopio fluorescente^{1,3,5,8,16}

La inmunofluorescencia es una prueba en donde se utiliza la propiedad que tienen algunas sustancias de liberar luz al ser iluminados con luz ultravioleta que se puede observar mediante un microscopio dotado de aditamentos ópticos, llamado microscopio de fluorescencia

En las células epiteliales del raspado conjuntival teñido con anticuerpo fluorescente o con el método de Giemsa, se encuentran las inclusiones citoplasmáticas típicas que aparecen con mayor frecuencia en las etapas iniciales de la enfermedad y son necesarias para el diagnóstico¹¹

Para tener éxito en el aislamiento e identificación de Chlamydia, se requiere de una excelente toma de muestra, la cual debe ser a partir de un raspado del epitelio debido a que, para llevar a cabo su ciclo de desarrollo, la bacteria realiza su fase intracelular en células del epitelio cilíndrico de los órganos¹⁵

Por lo tanto esta prueba ofrece la ventaja de realizar un diagnóstico rápido, ya que la técnica se lleva a cabo en 30 minutos aproximadamente

ALGUNOS FACTORES SOCIODEMOGRAFICOS DEL ESTADO DE CHIAPAS

El estado de Chiapas se encuentra en el sureste de la República Mexicana, su población total para 1995 fue de 3 848 716 habitantes, con una extensión territorial de 74 211 km², divididos en 111 municipios y aproximadamente 16 200 localidades



FIGURA 1 - MAPA DE LA REPUBLICA MEXICANA CON DIVISION POLITICA, RESALTANDO EL ESTADO DE CHIAPAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

La inmunofluorescencia es una prueba en donde se utiliza la propiedad que tienen algunas sustancias de liberar luz al ser iluminados con luz ultravioleta que se puede observar mediante un microscopio dotado de aditamentos ópticos, llamado microscopio de fluorescencia

En las células epiteliales del raspado conjuntival teñido con anticuerpo fluorescente o con el método de Giemsa, se encuentran las inclusiones citoplasmáticas típicas que aparecen con mayor frecuencia en las etapas iniciales de la enfermedad y son necesarias para el diagnóstico¹¹

Para tener éxito en el aislamiento e identificación de Chlamydia, se requiere de una excelente toma de muestra, la cual debe ser a partir de un raspado del epitelio debido a que, para llevar a cabo su ciclo de desarrollo, la bacteria realiza su fase intracelular en células del epitelio cilíndrico de los órganos¹⁵

Por lo tanto esta prueba ofrece la ventaja de realizar un diagnóstico rápido, ya que la técnica se lleva a cabo en 30 minutos aproximadamente

ALGUNOS FACTORES SOCIODEMOGRAFICOS DEL ESTADO DE CHIAPAS

El estado de Chiapas se encuentra en el sureste de la República Mexicana, su población total para 1995 fue de 3 848 716 habitantes, con una extensión territorial de 74 211 km², divididos en 111 municipios y aproximadamente 16 200 localidades



FIGURA 1 - MAPA DE LA REPUBLICA MEXICANA CON DIVISION POLITICA, RESALTANDO EL ESTADO DE CHIAPAS

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El estado cuenta con la pirámide poblacional mas amplia del país 44.2% de su población esta integrada en personas menores de 15 años El 59.6% de la población se considera rural (ubicada en localidades de menos de 2 500 habitantes) 74.4% de sus localidades tienen menos de 100 habitantes y se encuentran dispersas en el territorio

Los principales centros de población según estimaciones para 1995 son la capital Tuxtla Gutiérrez con 286 153 habitantes, Tapachula con 244 855 habitantes, San Cristóbal de las Casas con 116 729 habitantes, Comitán de Domínguez con 95 260 habitantes, Tonalá con 73 673 habitantes y Huixtla con 47 644 habitantes

Del total de la población ocupada del estado, 49.47% se ubica en el sector primario (agricultura, ganadería, selvicultura, caza y pesca) Según el ingreso mensual, 19.24% de la población ocupada no percibe ingresos y 37.45% percibe menos de un salario mínimo mensual Según situación en el trabajo, el 38.8% de la población ocupada son trabajadores por su cuenta, el 30.33% son empleados y obreros, y el 14.52% son trabajadores familiares sin pago¹⁷

El 21.1% de la población mayor de 5 años de edad habla lengua indígena, de esa población el 32.2% no habla español En la actualidad, predominan 9 grupos indígenas tzetzal, tzotzil, chol, zoque, tojolabal, lacandon, mamc, kanjopal y cackchiquel

El índice de analfabetismo registrado en la población chiapaneca de 15 años y mas es el mas alto del país (30.1%) Territorialmente, en las comunidades indígenas de los altos de Chiapas es donde la población adulta registra los mayores índices de analfabetismo (47.58%), seguido de las regiones selva (46.78%), Norte (37.38%) y Fronteriza (31.31%)

De las viviendas registradas en el censo de 1990, el 57.3% dispone de los servicios de agua entubada (el índice de atención en la república mexicana es de 78.4%), con los servicios de drenaje la cobertura fue de 61.5% y en luz eléctrica de 65.1%, el promedio nacional fue de 66.6 y 87% respectivamente Las viviendas en un 38.3% son de techo de palma, tejamanil o teja, el 48.7% de piso de tierra y en el 58.8% las paredes son de carrizo, bambu, palma bajareque, madera, adobe o ladrillo

El promedio de ocupantes por vivienda fue de 5.4, ocupando el tercer lugar con respecto a las otras entidades federativas El mayor promedio de ocupantes por vivienda es de 6.2 y se registra en las localidades de la región sierra

El 85.54% de la población no cuenta con servicio medico como derechohabiente, y se encuentra en el universo de atención medica otorgada por el gobierno federal a través de la Secretaria de desarrollo Social y administrada por el Instituto Mexicano del Seguro Social Régimen Solidaridad (IMSS-Solidaridad), la Secretaria de Salud (SS) y el Sistema para el Desarrollo Integral de la Familia (DIF) El otro 14.46% de la población que si es derechohabiente, esta afiliada en un 61.4% al IMSS régimen obligatorio, el 34.4% al Instituto de Seguridad Social para los Trabajadores del estado (ISSSTE) y el 6.53% a otras como el Instituto de Seguridad Social para los Trabajadores del Estado de Chiapas (ISSTECH)

San Cristóbal de las Casas, es uno de los principales municipios de Chiapas. Su producción principal es el trigo, maíz y cebada. Cuenta con actividad ganadera, comercio activo y artesanía típica. Su población para 1990 era de 89 335 habitantes.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen en nuestro país numerosas comunidades expuestas a padecer conjuntivitis por *Chlamydia trachomatis* debido a su mala calidad de vida y pobreza. Contamos con varias pruebas para diagnosticar infecciones oculares por *Chlamydia trachomatis*, pero no existe la infraestructura necesaria para realizarla. Es importante conocer la frecuencia de estas infecciones para poder aplicar estructuras sanitarias capaces de atender las necesidades de estas comunidades. Además necesitamos una prueba sensible, específica, de bajo costo y accesible a hospitales de segundo nivel para su ejecución en áreas rurales que son el blanco de estas infecciones. Esto permitirá un diagnóstico eficaz y tratamiento oportuno, evitando las posibles complicaciones de la enfermedad.

OBIETIVO

Evaluar la prevalencia de conjuntivitis por *Chlamydia* en una población de niños escolares asintomáticos de una comunidad rural del Estado de Chiapas, diagnosticada por el método de inmunofluorescencia.

HIPÓTESIS

La inmunofluorescencia es un método simple, sólido y de costo razonable para detectar infecciones conjuntivales por *Chlamydia* en niños asintomáticos. Es además fácil de aplicar en el medio rural.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen en nuestro país numerosas comunidades expuestas a padecer conjuntivitis por *Chlamydia trachomatis* debido a su mala calidad de vida y pobreza. Contamos con varias pruebas para diagnosticar infecciones oculares por *Chlamydia trachomatis*, pero no existe la infraestructura necesaria para realizarla. Es importante conocer la frecuencia de estas infecciones para poder aplicar estructuras sanitarias capaces de atender las necesidades de estas comunidades. Además necesitamos una prueba sensible, específica, de bajo costo y accesible a hospitales de segundo nivel para su ejecución en áreas rurales que son el blanco de estas infecciones. Esto permitirá un diagnóstico eficaz y tratamiento oportuno, evitando las posibles complicaciones de la enfermedad.

OBIETIVO

Evaluar la prevalencia de conjuntivitis por *Chlamydia* en una población de niños escolares asintomáticos de una comunidad rural del Estado de Chiapas, diagnosticada por el método de inmunofluorescencia.

HIPÓTESIS

La inmunofluorescencia es un método simple, sólido y de costo razonable para detectar infecciones conjuntivales por *Chlamydia* en niños asintomáticos. Es además fácil de aplicar en el medio rural.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen en nuestro país numerosas comunidades expuestas a padecer conjuntivitis por *Chlamydia trachomatis* debido a su mala calidad de vida y pobreza. Contamos con varias pruebas para diagnosticar infecciones oculares por *Chlamydia trachomatis*, pero no existe la infraestructura necesaria para realizarla. Es importante conocer la frecuencia de estas infecciones para poder aplicar estructuras sanitarias capaces de atender las necesidades de estas comunidades. Además necesitamos una prueba sensible, específica, de bajo costo y accesible a hospitales de segundo nivel para su ejecución en áreas rurales que son el blanco de estas infecciones. Esto permitirá un diagnóstico eficaz y tratamiento oportuno, evitando las posibles complicaciones de la enfermedad.

OBIETIVO

Evaluar la prevalencia de conjuntivitis por *Chlamydia* en una población de niños escolares asintomáticos de una comunidad rural del Estado de Chiapas, diagnosticada por el método de inmunofluorescencia.

HIPÓTESIS

La inmunofluorescencia es un método simple, sólido y de costo razonable para detectar infecciones conjuntivales por *Chlamydia* en niños asintomáticos. Es además fácil de aplicar en el medio rural.

MATERIAL Y METODOS

Se trata de un estudio descriptivo, prospectivo cuasiexperimental

El universo de trabajo incluyó niños escolares entre 6 y 12 años edad de las escuelas rurales de San Cristóbal, Estado de Chiapas pertenecientes a la zona de influencia del Hospital Rural San Cristóbal de las Casas de IMSS-Solidaridad

Se incluyeron niños entre 6 y 12 años de edad, sin distinción de sexo, con consentimiento informado del padre o tutor y sin síntomas oculares de enfermedad

Se excluyeron a los niños que no aceptaron el procedimiento, niños a quienes el tutor o representante legal no aceptaron la toma de muestra, niños con incapacidad mental que impidan su libre elección, niños con cuadro de conjuntivitis infecciosa

PROCEDIMIENTO

Los niños se sometieron a examen con microscopía para evaluación de la conjuntiva. los que se detectaron con alteraciones de folículos, se remitieron a consultorio, donde su interprete les explico el procedimiento en su lenguaje materno, se aplico tetracaina al 1 % conjuntival y al minuto se tomo muestra de la conjuntiva tarsal con espátula de Kimura mediante raspado superficial del epitelio y aplicando cloramfenicol colirio

El material obtenido se aplico en laminillas diferentes, alveoladas con teflón, la muestra se identifico con número seriado, una vez seca la laminilla el material se fijo con una mezcla que contiene un volumen de etanol absoluto y 3 de acetona pura en frio. una vez evaporada la mezcla de solventes, las laminillas se acondicionan para transporte y se conservan en congelador y se retiran en cuanto se inicia el estudio

Una vez retiradas del congelador se dejan a temperatura ambiente durante 15 minutos, sobre cada alveolo de cada laminilla se depositan 2 gotas de tampón de fosfato para rehidratar el tejido fijado, se elimina el tapon por inversión de la laminilla y se deposita sobre cada alveolo 50 microlitos de un anticuerpo monoclonal marcado con isotiocinato de fluoresceína (FTC- Mab) listo para su uso y que contiene un contracolorante que en presencia de luz ultravioleta emite una señal en la frecuencia del rojo cuando este ligado a membranas celulares

La revision de las laminillas se realizo en el laboratorio de patología del Hospital de la Fundación para evitar la ceguera en México y en el laboratorio clínico del propio Hospital de Especialidades

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El analisis de los resultados se efectuara por comparación descriptiva de los datos obtenidos (en porcentajes) para determinar frecuencia de casos en niños asintomaticos

RESULTADOS

Se examinaron un total de 486 niños que aceptaron el procedimiento, ninguno tenía síntomas de enfermedad ocular

De ellos 246 fueron mujeres y 240 fueron hombres (Figura 2) El promedio de edad fue de 9.22 años con rango de 6 a 12 años (Figura 3 y 4)

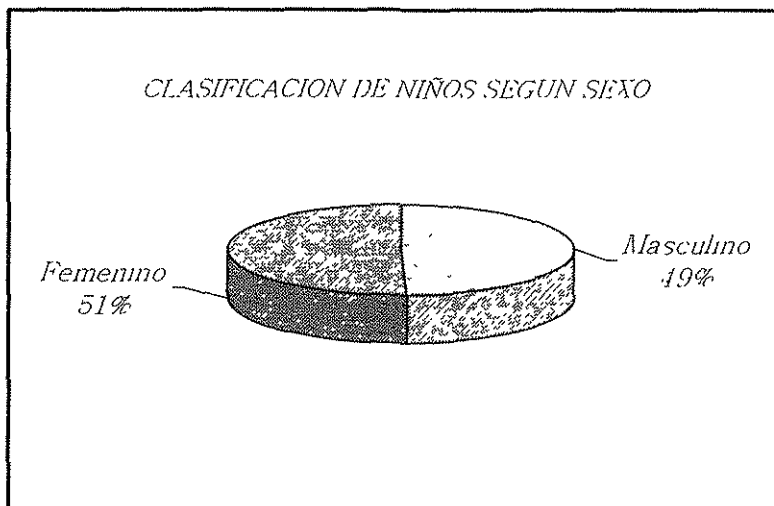


FIGURA 2 - NUMERO TOTAL DE NIÑOS A QUIENES SE LES REALIZO EXPLORACION OFTALMOLGICA, AGRUPADAS SEXO

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

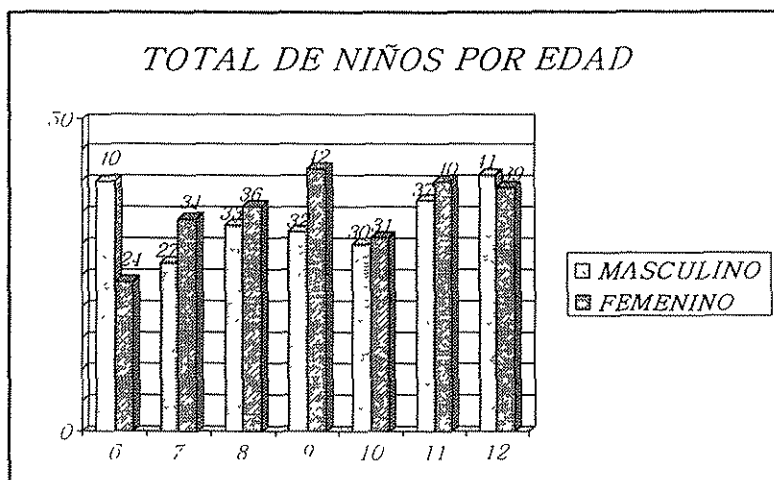


FIGURA 3 - TOTAL DE NIÑOS AGRUPADOS POR EDAD Y SEXO A QUIENES SE LES REALIZO EXPLORACION OFTALMOLOGICA

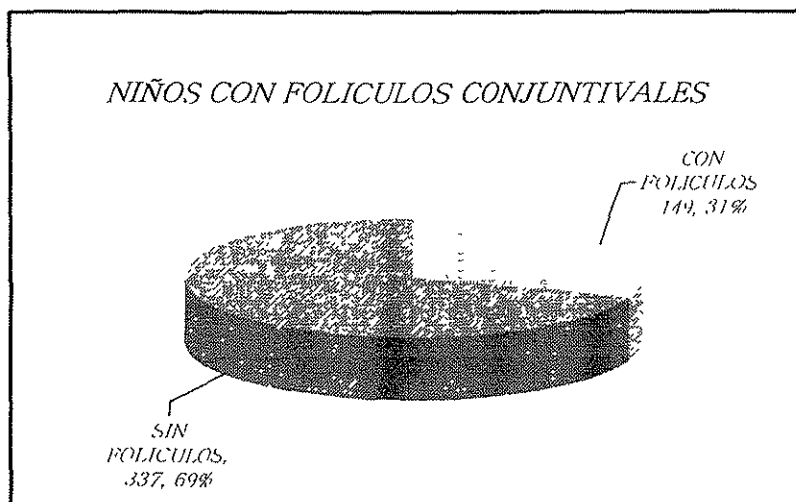


FIGURA 4 - PORCENTAJE DE NIÑOS ASINTOMATICOS QUIENES PRESENTARON FOLICULOS DURANTE LA EXPLORACION OFTALMOLOGICA

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

El numero de niños por etnias fue tzotzil 454 (94.44%), chamulas 7 (1.44%), tzetzal 9 (1.85%) y otros 11 (2.25%)

El procedimiento fue bien tolerado por los niños, no se presentaron reacciones secundarias ni complicaciones a la toma de la muestra

Se detectaron 149 niños con presencia de foliculos conjuntivales, lo que corresponde al 30.65% del total de la muestra examinada, y estos son el motivo del análisis

Al revisar los frotis de los 149 niños que presentaron foliculos conjuntivales, se documento la presencia de *Chlamydia trachomatis* en 25 de las muestras analizadas por inmunofluorescencia, lo que corresponde a 16.77% de afectación del total de los niños que presentaron foliculos (Figura 5)

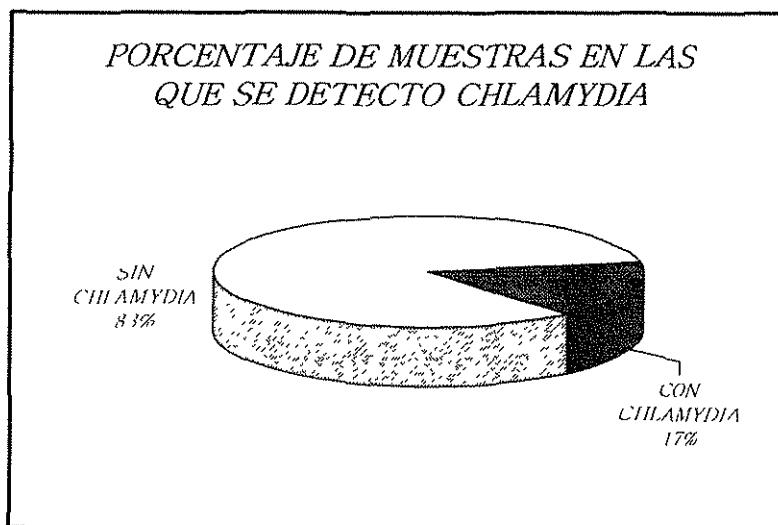


FIGURA 5 - PORCENTAJE DE NIÑOS CON FOLICULOS EN QUIENES SE ENCONTRO CHLAMYDIA POR INMUNOFLUORESCENCIA

De los 25 niños en quienes se encontró chlamydia, 12 fueron masculinos y 13 femeninos, el promedio de edad fue de 8.2 años. Las edades fueron similares entre niños de ambos sexos

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DISCUSION

La conjuntivitis por chlamydia continúa siendo un gran problema de salud, sobre todo en países con recursos limitados para hacer frente a la problemática de la salud pública que coinciden entre ellos por sus condiciones sociales de falta de higiene e insalubridad. Esta enfermedad se caracteriza por la gravedad de las complicaciones que acarrea a largo plazo en ausencia de tratamiento.

Aunque en nuestro país existen áreas geográficas con condiciones propicias para el desarrollo de este tipo de conjuntivitis, no contamos con estadísticas de morbilidad ni estudios encaminados a detección oportuna y su tratamiento.

Se ha establecido por otros autores²⁰ que en nuestro medio rural la chlamydia es responsable etiológico del 26% de las queratoconjuntivitis como agente único, y que en un 60% de los casos de conjuntivitis aproximadamente, se encuentra asociada principalmente con herpes simple, herpes zoster y adenovirus^{20,22}. Y estas infecciones están en relación directa con la frecuencia del aseo personal.

Otro punto importante que se ha determinado en otros estudios realizados en nuestra población, es la asociación de conjuntivitis por chlamydia e infecciones respiratorias, urogenitales y cervicovaginales por chlamydia tanto en población infantil como adulta²².

Por otra parte, estudios recientes¹⁸ reportan que la reacción en cadena de la polimerasa es el estudio de mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de chlamydia en infecciones oculares, debido a su alta sensibilidad, especificidad y rapidez, con la limitante de su alto costo y tecnología necesarios.

Las pruebas serológicas tienen algunos inconvenientes, sobre todo tomando en cuenta que la serología con anticuerpos pueden no demostrar infección activa que justifique tratamiento, ya que una dificultad conceptual es el hallazgo positivo de ácido nucleico aun en ausencia de organismos viables.

Esta desventaja no se presenta al utilizar cultivos o pruebas de inmunoensayo, sin embargo se ven limitadas por el mayor tiempo que se debe invertir para su realización.

En población nacional González Almaraz documentado previamente la utilidad de este método para la detección de chlamydia con buenos resultados, en una población urbana de la Ciudad de México^{20,21} usando una metodología similar a la que utilizamos en este estudio.

La inmunofluorescencia directa por su sensibilidad y especificidad puede compararse con la reacción en cadena de la polimerasa, por lo que es de gran valor en laboratorios de pequeño tamaño y poca tecnología cuando se realiza por microscopista experimentado^{18,19}.

Consideramos que el tamaño de la muestra es representativa de la población infantil sujeta de estudio, misma que ejemplifica un área rural con medios de saneamiento deficientes.

En nuestro estudio, en 16.77% de los niños que presentaron folículos se pudo comprobar la presencia de chlamydia a pesar de estar asintomáticos, sin embargo este grupo de niños con chlamydia solo representa el 5.14% del total de la muestra estudiada.

En el estudio que presentamos no se exploró esta asociación, por lo que no podemos determinar si existen otros focos que pudieran servir de fomites y causar la conjuntivitis en forma secundaria

Un punto importante que se desprende del estudio, es el de determinar si a estos niños asintomáticos a quienes se les confirmó chlamydia de la conjuntiva son tributarios de tratamiento específico o solo de observación. Ya que los folículos pudieran ser causados por los otros microorganismos que se encuentran frecuentemente asociados a la chlamydia

CONCLUSION

En base a nuestros resultados podemos afirmar que la inmunofluorescencia es un método que tiene aplicación en la detección de chlamydia en niños asintomáticos, de realización sencilla y de bajo costo, además de no requerir infraestructura de alta tecnología

La sensibilidad y especificidad se equipara a la otras pruebas más costosas como cultivos y reacción en cadena de la polimerasa y tiene la ventaja de ser más rápida

Es conveniente evaluar la presencia concomitante de síntomas urogenitales o respiratorios, en los niños de áreas geográficas con saneamiento deficiente al momento de evaluar folículos conjuntivales, para establecer medidas de prevención específicas, encaminadas a mejorar el aseo personal y evitar tratamientos curativos más costosos y con riesgo de secuelas a largo plazo

En el estudio que presentamos no se exploró esta asociación, por lo que no podemos determinar si existen otros focos que pudieran servir de fomites y causar la conjuntivitis en forma secundaria

Un punto importante que se desprende del estudio, es el de determinar si a estos niños asintomáticos a quienes se les confirmó chlamydia de la conjuntiva son tributarios de tratamiento específico o solo de observación. Ya que los folículos pudieran ser causados por los otros microorganismos que se encuentran frecuentemente asociados a la chlamydia

CONCLUSION

En base a nuestros resultados podemos afirmar que la inmunofluorescencia es un método que tiene aplicación en la detección de chlamydia en niños asintomáticos, de realización sencilla y de bajo costo, además de no requerir infraestructura de alta tecnología

La sensibilidad y especificidad se equipara a la otras pruebas más costosas como cultivos y reacción en cadena de la polimerasa y tiene la ventaja de ser más rápida

Es conveniente evaluar la presencia concomitante de síntomas urogenitales o respiratorios, en los niños de áreas geográficas con saneamiento deficiente al momento de evaluar folículos conjuntivales, para establecer medidas de prevención específicas, encaminadas a mejorar el aseo personal y evitar tratamientos curativos más costosos y con riesgo de secuelas a largo plazo

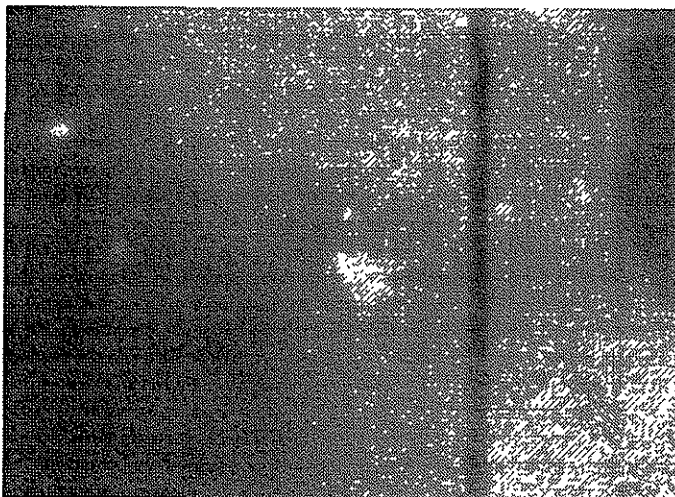


Figura 6 - *Chlamydia trachomatis* como se observa al microscopio de inmuo flourescencia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Schachter Lulius Chlamydial and mycoplasmal diseases In Eisenberg, Hutton, Khippel Interna medicine Mosby 1998, 1534-1537
- 2 Murray P, Drew W, Kubayashi G and Thompson J Medical Microbiology Mosby 1996, 267-275
- 3 Jawest, Melnick and Adelberg In Clamidas Microbiologia Medica El Manual Moderno 1999, 383-393
- 4 Dawson CR and Sheppard JD Follicular conjunctivitis In Duane s Ophthalmology Lippincott-raven publishers 1997 C-ROM edition
- 5 Rapoza PA, Quinn TC, Terry AC, Gottsch JD, Kiessling LA and Taylor HR A systematic approach to the diagnosis and treatment of chronic conjunctivitis Am J Ophthalmol 1990, 109(2) 138-142
- 6 Linistro EM, Storey CC Morris DJ and Tullo AB Polymerase chain reaction for detection of Chlamydia trachomatis in conjuntival swabs Br J Ophthalmol 1997, 81 497-500
- 7 San Martín H Tratado general de la Salud en las sociedades humanas La Prensa Medica Mexicana 1998, 419-423
- 8 Frost EH, Deslandes S, Bourgaux-Ramoisy D, Bourgaux P Quantitation of Chlamydia trachomatis by culture, direct immunofluorescence and competitive polymerase chain reaction Genitourin Med 1995 Aug, 71 (4) 239-43
- 9 Mandell G Diagnostico y manejo de la enfermedades infecciosas Panamericana 1991, 201- 211
- 10 Palayekar VV, Joshi JV, Hazari Kf, Shah RS, Chitlange SM Comparison of four nonculture diagnostic teste for Chlamydia trachomatis infection J Assoc Physicians India 2000 may, 48(5) 481-3
- 11 Gilberto Angel M Interpretación clinica del laboratorio Panamericana 1993, 348-349
- 12 Darougar S, Forsey T, Jones BR, Allami J and Houshmand A Isolation of Chlamydia trachomatis from eye secretion (tears) Br J Ophthalmol 1979, 63(4) 256-58
- 13 Darougar S, Jones BR, Daghfous F and Hejazi R Isolation of Chlamydia trachomatis from different areas of conjunctiva in relation to intensy of hyperendemic trachoma in school children in Southern Tunisia Br J Ophthalmol 1979, 63(2) 110-12
- 14 Rabenau HF, Kohler E Peters M, Doerr HW, Weber B Low correlation of serology with detection of Chlamydia trachomatis by ligase chain reaction and antigen EIA Infection 2000 mar-apr, 28(2) 97-102
- 15 Deleon RI, Hernandez MJT Chlamydia trachomatis Instituto Politecnico Nacional 2000 México
- 16 Barnes RC Laboratory diagnosis of human Chlamydia infections Clin Microbiol Rev 1989, 2 119-136
- 17 Alvarez GGC, Dorantes JJE and Halperin FCD Problemas para el control de la tuberculosis pulmonar en el estado de Chiapas Rev Inst Nal Enf Resp Mex 1998, 1(4) 280-287

- 18 Haller EM, Auer-Grumbach P, Stuenzner D, Kessler HH, Pierer K, Zenz H and muellner K Evaluation of two nonculture antigen tests and three serotest for detection of anti-chlamydial antibodies in the diagnosis of ocular chlamydial infections *Ach Clin Exp Ophthalmol* 1996, 234 510-514
- 19 Elmfo EM, Cooper RJ, Klapper PE, Bailey AS and Tullo AB Diagnosis of viral and chlamydial keratoconjunctivitis which laboratory test? *B J Ophthalmol* 1999, 83 22-627
- 20 González-Almaraz G y Pineda-Cárdenas MA Diagnóstico citológico de la conjuntivitis por chlamydia trachomatis *Rev Mex Oftalmol* 1987, 61(4) 179-184
- 21 González-Almaraz G y Pineda-Cárdenas MA Diagnóstico diferencial de la queratoconjuntivitis folicular *Rev Mex Oftalmol* 1987, 61(5) 233-237
- 22 González-Almaraz G, Pineda-Cárdenas MA, Rabinovitz-Kronheim E y Limón E Etiología de las queratoconjuntivitis *Rev Mex Oftalmol* 1987, 61(3) 125-130

RECEIVED
1999/11/11