

11234



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

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

DETECCION POR INMUNOFLUORESCENCIA DE
CHLAMYDIA TRACOMATIS EN NIÑOS ESCOLARES
INDIGENAS DEL ESTADO DE OAXACA EN MEXICO QUE
PRESENTAN CONJUNTIVITIS FOLICULAR.

**TESIS DE POSTGRADO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
ESPECIALISTA EN OFTALMOLOGIA
P R E S E N T A :
DRA. LAURA FATIMA ESPINOSA GARCIA**

ASESORES: DRA. LOURDES SOTO HERNANDEZ
DR. PABLO GOLDSCHMIDT

MEXICO, D. F.

2005



0346455



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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**



UMAE
HOSPITAL ESPECIALIDADES
C.M.N. SIGLO XXI

RECIBIDO
28 JUL 2005

DRA. NORMA JUÁREZ DÍAZ GONZÁLEZ

DIVISION DE EDUCACION E INVESTIGACION MÉDICA
 HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
 CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

**DIRECCION DE EDUCACION
 E INVESTIGACION EN SALUD**



DR. ALEJANDRO PLIEGO MALDONADO

JEFATURA DE SEGMENTO ANTERIOR
 DIVISION DE CIRUGÍA
 OFTALMOLOGÍA
 HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
 CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

JEFATURA DE OFTALMOLOGIA

ASESORES DE TESIS:

DRA. LOURDES SOTO HERNÁNDEZ

MÉDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE OFTALMOLOGÍA
 HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
 CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS.

DR. PABLO GOLDSCHMIDT

DOCTOR EN FARMACOLOGÍA MOLECULAR Y VIROLOGO
 PROFESOR CATEDRÁTICO EXTRAORDINARIO INVITADO POR LA
 DIRECCIÓN GENERAL EDUCATIVA Y CULTURAL DE LA SECRETARÍA DE
 RELACIONES EXTERIORES
 RESPONSABLE DE LA SECCIÓN DE MICROBIOLOGÍA DEL BANCO DE
 TEJIDOS HUMANOS DE PARIS, FRANCIA.

AUTORA

DRA. LAURA FÁTIMA ESPINOSA GARCÍA

EGRESADA DE LA ESPECIALIDAD DE OFTALMOLOGÍA
 HOSPITAL DE ESPECIALIDADES, CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

ESPECIALIZACIÓN
 DE POSGRADO
 MEDICINA
 N.A.M.

NOMBRE: Laura F. Espinosa G.

FECHA: 01/Agst/05

FIRMA: [Firma]

RESUMEN

Antecedentes

La Chlamydia trachomatis es la causa más común de conjuntivitis folicular crónica. El tracoma es causa más importante de ceguera prevenible en el mundo (1). La enfermedad se presenta casi siempre en la infancia en la edad preescolar y escolar, después de un período de incubación de 7 a 14 días, se establece la fase inflamatoria caracterizada por una conjuntivitis folicular crónica. En México el tracoma ocular se ha observado principalmente en la región de los Altos de Chiapas como zona endémica; se favorece en comunidades con malas condiciones de higiene y pobre calidad de vida.

Objetivo

Detectar por inmunofluorescencia Chlamydia Trachomatis en niños escolares indígenas del Estado de Oaxaca en México que presentan conjuntivitis folicular.

Material y Metodos

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Tlaxiaco de Oaxaca, México; se examinaron 110 niños escolares indígenas con conjuntivitis folicular; se tomaron frotis de la conjuntiva tarsal inferior y se analizaron con inmunofluorescencia indirecta para detectar Chlamydia trachomatis. La revisión de las laminillas se realizó en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza.

Resultados

Se examinaron un total de 110 niños con conjuntivitis folicular, de los cuales 41 fueron mujeres y 69 hombres. El promedio de edad fue de 9 años con un rango de 6 a 12 años. Se detectó en 4 muestras la presencia de Chlamydia trachomatis, lo que corresponde al 3.63% de la población. Las laminillas positivas correspondían a 4 mujeres: 2 de 6 años, 1 de 7 años y otra de 9 años.

Conclusiones

En nuestro estudio encontramos una frecuencia de 3.63 % de Chlamydia trachomatis en niños escolares indígenas de Oaxaca que presentaban conjuntivitis folicular, con o sin sintomatología ocular en una zona no considerada como endémica.

La Chlamydia trachomatis sigue representando un problema de salud pública en México, debe ser detectada en etapa preescolar o escolar como un programa permanente de detección nacional en niños para disminuir los casos de ceguera por tracoma.

A CARLOS RAÚL

Por todo su amor, por caminar siempre juntos, por construir sueños y lograrlos, por su capacidad de ver la vida como la oportunidad del desarrollo del ser más allá de la materia; por ser un gran hombre, esposo y padre dispuesto a aprender de sus errores, por su espontaneidad y nobleza.

A NUESTROS PRECIOSOS HIJOS

**LAURA MONSERRAT CARLA LIZETT
Y ERICK RAÚL**

Por su alegría e intensidad para vivir la vida, por conservar su capacidad de asombro, por estar dispuestos a disfrutar la vida, por su fortaleza, por todo su amor y por estar juntos en todos los proyectos que hemos decretado, por su entusiasmo y por todo lo que me han enseñado, por ser mis maestros de la vida, por ser como son.

A MIS PADRES

MARIA TERESA Y FRANCISCO

Por darme la vida y enseñarme a disfrutarla, por su amor incondicional, por haber sido tan maravillosos, porque con sus aciertos y errores nos mostraron que lo importante es el ser y no el tener, por transmitirme su honradez, su sentido diáfano del amor y enseñarnos a levantarnos cuando caemos para volver a continuar, por darnos las armas para salir adelante en cualquier circunstancia, por su forma de conducirnos hacia el estudio, por su calidez y su confianza infinita, por contar siempre con ellos y por compartirnos su tiempo y su vida con amor, por enseñarme la importancia de la gratitud y practicarla, por enseñarme a creer en Dios.

A MIS HERMANOS

Chagua, Tere, Paco, Lilia y Hugo

Por ser increíblemente brillantes en todos aspectos, por su apoyo incondicional, por compartir su tiempo y espacio conmigo, por ser mis amigos, porque cada uno de ellos vive la vida con gran intensidad y desarrollan sus actividades con amor y por contar verdaderamente con ellos no hasta uno o hasta diez sino hasta el infinito.

Gracias en especial a Tere porque fue el pilar para que realizáramos la especialidad ; por su tiempo, dedicación y amor a nuestros hijos y a todos nosotros que va más allá de lo que se puede plasmar en un papel.

A mis maestros y asesores

Por todas sus enseñanzas, por toda la experiencia y la calidez que me transmitieron para tratar a los pacientes y por su amistad.

A mis amigas y amigos

Alma, Arminda y Beto, Evelia y Rafael, Dora, Elizabeth, Magui y Javier, Magda y Pedro, Marisela, Miriam y Fidel, Carlos Castro y Javier Bravo

Porque siempre me alentaron, por su entusiasmo, por todo lo que hemos compartido juntos, por la oportunidad que me brinda la vida de conocer y disfrutar gente tan maravillosa como ustedes, porque es un privilegio contar con su amistad

Gracias por creer siempre en mí

Gracias a todas las personas que han compartido un momento de su vida conmigo

Gracias a Amelia por su trabajo con dedicación durante todos estos años

***...Y ahora que me encuentro en este punto,
cuando nuevamente el final es solo el principio,
percibo que el maravilloso fluir de la vida es así:***

***Tener la libertad de decidir el seguir en espiral ascendente,
contactar con lo más profundo del ser para poder crear y crear,
ser mundano y celestial,
entender la dualidad del ser humano;
desarrollar la conciencia del estar aquí y ahora
para volver a iniciar,
sí,
otra vez,
siempre con amor.***

***Entender que la vida es un instante multiplicado al infinito,
lo que nos hace ser viajeros dimensionales
del cosmos
y del tiempo
para nuevamente coincidir
y volver a empezar...***

LAURA FÁTIMA

ÍNDICE

Página principal	1
Resumen	3
Agradecimientos	4
Índice	8
Antecedentes	9
Clasificación y características de las Chlamydias	10
Inmunología de la conjuntivitis por Trachoma	12
Epidemiología	12
Transmisión	14
Fisiopatogenia	14
Diagnóstico por laboratorio de Chlamydia Trachomatis	16
Planteamiento del problema	18
Justificación	18
Hipótesis	19
Objetivos	19
Material y métodos	19
Descripción general del estudio	23
Resultados	23
Discusión	27
Conclusiones	29
Bibliografía	30
Anexos	33

ANTECEDENTES

La *Chlamydia trachomatis* es la causa más común de conjuntivitis folicular crónica, inicia como una conjuntivitis folicular y puede persistir si no recibe tratamiento hasta producir ceguera.

El tracoma es la causa más importante de ceguera prevenible en el mundo (1). La Organización Mundial de la Salud estima que 350 millones de personas están afectadas por tracoma en las regiones endémicas, de las cuales 5 a 9 millones están ciegas (2). El aspecto clínico típico de la enfermedad activa consiste en reacción folicular conjuntival y formación de pannus; frecuentemente la infección se acompaña de infección de vías respiratorias superiores con adenopatía preauricular. Las secuelas a largo plazo pueden ser la retracción cicatrizal por fibrosis de la conjuntiva palpebral, conocida como línea de Arlt, pannus corneal, leucoma, queratopatía, entropión, triquiasis y ceguera secundaria a opacificación de la córnea (3). La infección en niños y adolescentes también se ha relacionado con actividad sexual temprana, abuso sexual. La forma neonatal tiene una prevalencia del 41% de las conjuntivitis (4) por transmisión de la madre con cervicitis por *Chlamydia*, que en muchas ocasiones es asintomática en las mujeres que si no se trata puede producir una infección clínica inaparente y persistente que provoca una salpingitis y posteriores problemas de fertilidad (5), además de uretritis, endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria y embarazo ectópico; en los hombres puede causar uretritis, epididimitis, prostatitis, que algunas veces pueden provocar problemas de infertilidad (6).

La *Chlamydia trachomatis* puede generar una infección inaparente y persistente en el ser humano (7). La infección por *Chlamydia* es una de las enfermedades más frecuentes en el ser humano, afecta a una séptima parte de la población mundial y es la primera causa de pérdida de visión evitable. La conjuntivitis de inclusión en el adulto y en el niño se diagnostican de forma equivocada en ocasiones por la manifestación subclínica o asintomática de la enfermedad. El lugar del la conjuntivitis aguda o crónica por *Chlamydia trachomatis* se ha subestimado realmente debido a la dificultad que representa el diagnóstico(7).

CLASIFICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LAS CHLAMYDIAS

La *Chlamydia* se clasifica en el grupo de las bacterias, es un parásito intracelular obligado de las células eucariontas debido a su incapacidad de sintetizar ATP como los virus y tiene características de las bacterias porque contiene ADN Y ARN, poseen una membrana interna y externa, presentan ribosomas procarióticos S70, sintetizan sus propias proteínas, ácidos nucleicos y lípidos, presentan diversas enzimas, se multiplican por fisión binaria, son sensibles a numerosos antimicrobianos, se inhiben por las sulfonamidas y otros antibióticos, contiene ácido murámico en sus paredes celulares. 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 (8).

Tienen dos formas diferentes: el cuerpo elemental, infeccioso, extracelular, de pequeño tamaño 300 a 400 nm y el cuerpo reticulado, no infeccioso, intracelular de mayor tamaño 800-1000 nm. Por el tamaño del cuerpo elemental se sitúa entre los seres procariotas más diminutos (9).

Las chlamydias se dividen en 4 especies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pecorum*. Las tres primeras se reconocen como patógenos humanos. (8,10)

Pertenecen a la familia Chlamydiaceae, género *Chlamydia* que comprende las especies de *C. Trachomatis* y *C. Psittaci*. Se han identificado varias cepas de *C. Trachomatis*, en total 18 serotipos, producen inclusiones intracitoplásmicas compactas, que contienen glucógeno y que se tiñen con yodo y son sensibles a las sulfonamidas, las cepas de *C. Psittaci* no contienen glucógeno. Las cepas de *C. Trachomatis* A, B, Ba y C se asocian a tracoma, las cepas D a F con enfermedades venéreas y conjuntivitis de inclusión y las cepas L1, L2, L2a y L3 con linfogranuloma venéreo.

Las *Chlamydias* tienen un ciclo vital único, el microorganismo existe en forma denominada cuerpo elemental, aproximadamente de 300 nm de diámetro, con pared celular rígida, el cuerpo elemental se adhiere a la célula epitelial y es fagocitado, al encontrarse dentro de la célula su tamaño aumenta a 1,000 nm, es llamado entonces cuerpo reticulado o inicial, a las 48 horas se multiplica por fisión binaria y produce un agregado de cuerpos elementales; una sola célula infectada puede producir cientos de cuerpos elementales localizados en el citoplasma y cercanos al núcleo; se observan en citología como cuerpos de inclusión, éstos pueden liberarse e infectar otras células epiteliales.

La detección temprana y oportuna de *Chlamydia* previene, al darse tratamiento, las complicaciones tardías, por lo que si se conoce bien el ciclo y las

características de esta bacteria se debe buscar intencionadamente en niños, mujeres embarazadas, en edad reproductiva y hombres (12).

La *chlamydia trachomatis* produce un amplio espectro de enfermedades clínicas, es la causa más común de conjuntivitis folicular crónica (11,13).

ENFERMEDADES PRODUCIDAS POR CHLAMYDIA DE ACUERDO AL SEROTIPO

ESPECIE	SEROTIPO	ENFERMEDAD
Trachomatis	D,E,F,G,H, I,J,K.	Mujeres: Cervicitis, salpingitis, embarazo ectópico, esterilidad, endometritis, perihepatitis. Hombres: Uretritis, epididimitis, prostatitis, Sx. Reiter. Adultos: Conjuntivitis de inclusión. Niños: 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.

INMUNOLOGIA DE LA CONJUNTIVITIS POR TRACHOMA

El tracoma, una conjuntivitis folicular crónica causada por *Chlamydia trachomatis* que pueden causar ceguera. Las complicaciones de la ceguera están asociadas con cicatrización conjuntival progresiva. Las biopsias de conjuntiva estudiadas con inmunohistoquímica en niños con tracoma activo demuestran la presencia de ambas respuestas humoral e inmunidad mediada por células. Los anticuerpos antichlamydia pueden neutralizar la *Chlamydia* desprenderla en bloque e internalizar los microorganismos y puede producir una inmunidad parcial, por lo que desempeñan un papel importante en la génesis de la cicatrización conjuntival. Las células epiteliales de la conjuntiva expresan los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad clase II los cuales pueden pasar por las células epiteliales de la conjuntiva para presentar los antígenos para *Chlamydia* a las células T que realzan la respuesta inmune.

EPIDEMIOLOGIA

Afecta a más de 350 millones de personas en el mundo, en el norte de África el porcentaje de escolares infectados es del 70-90%, se estima que en el mundo 6 millones de personas sufren de ceguera y en la India más de 2 millones son ciegos a causa del tracoma (10,15).

El tracoma inicia como una conjuntivitis folicular que si no es tratada puede evolucionar hasta la ceguera; esta enfermedad se encuentra en todo el mundo, es un problema mayor de salud en algunas partes de Africa, Oeste Medio, India y Sureste de Asia, también existen áreas endémicas en América Latina, Australia y las Islas del Pacífico, las conjuntivitis menos severas se observan en países tropicales y subtropicales (11,16).

En México el tracoma ocular se ha observado como un padecimiento muy antiguo favorecido por factores ambientales, demográficos, socioeconómicos y culturales en las comunidades con malas condiciones de higiene y pobre calidad de vida, característico en la región de los altos de Chiapas. Existen otros estados que han registrado casos de tracoma como Durango, Sonora y Tabasco. Las infecciones por *Chlamydia* constituyen un problema de salud pública en México, no reconocido aún, su frecuencia ha aumentado notablemente variando desde 5 hasta 63%. La zona endémica se localiza en las montañas de Los Altos de Chiapas y afecta principalmente a indígenas Tzetzales del municipio de Oxchuc y zonas aledañas (17). No existen estudios epidemiológicos a gran escala pero se cree que la mayoría de los 35 000 habitantes del municipio de Oxchuc están afectados. También se han identificado personas con tracoma en los municipios de Ocosingo, Cancuc y Chanal, todos ellos aledaños al mismo. En el estudio realizado por Wilson, M.C. y Millan Velasco en 1985 en 6 comunidades indígenas del municipio de Oxchuc el 24% de los niños menores de 10 años tenían tracoma inflamatorio(18).

En Bélgica se realizó un estudio en 104 pacientes adultos con irritación conjuntival crónica sin diagnóstico preciso en frotis de conjuntiva, se utilizó la técnica de Giemsa y la de anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína encontrando en 45 casos un diagnóstico correcto donde 29% fueron por infección de Chlamydia y 20% por alergia (19).

En India se realizó un estudio de 127 pacientes que presentaban conjuntivitis crónica, aguda o recurrente, con diferentes grados de manifestación clínica, se les realizó un frotis conjuntival para la búsqueda de Chlamydia y se encontró la misma en 44 pacientes y de éstos sólo se sospechaba clínicamente que tenían Chlamydia en 19, los otros estaban diagnosticados como probables infecciones por bacterias, virus o conjuntivitis de tipo alérgico, esta incidencia tan alta manifiesta la situación endémica de la Chlamydia en la India (12).

En China, durante 4 años se realizó de forma rutinaria la detección de Chlamydia en niños escolares como un examen de salud necesario, se examinaron 771 niños de 5 escuelas primarias, se utilizó inmunofluorescencia y cultivo de células de McCoy encontrando 118 niños (15.3%) con infección por Chlamydia, de entre estos niños el 96.66% tenían poca o ninguna inflamación conjuntival, sólo el 0.4% presentaron cicatrización conjuntival (21).

En los países industrializados del este de Europa, las conjuntivitis causadas por Chlamydia tienen una prevalencia mayor en adultos alrededor de los 20 años de edad, en el caso del tracoma clásico en los países en desarrollo, la incidencia mayor de la enfermedad activa ocurre en niños entre los 2 y 5 años de edad. La conjuntivitis de inclusión del adulto es usualmente una autoinfección, resultado de una infección genital concomitante; en contraste, el tracoma endémico es una infección que es transmitida de ojo en ojo. La transmisión no genital de la conjuntivitis de inclusión, se ha encontrado en personal de salud y en albercas con cloración insuficiente en pocos casos (22).

En Buenos Aires, Argentina se realizó una investigación de 1977 a 1999 en pacientes externos con conjuntivitis folicular, se seleccionaron 57 pacientes con presunta conjuntivitis de inclusión, se les realizó frotis conjuntival y estudios con inmunofluorescencia y cultivo de células McCoy; de éstos el 65% fueron positivos para cultivo celular y 47% positivos para inmunofluorescencia directa, concluyendo que es más sensible el cultivo que la inmunofluorescencia, sin embargo la primera es más costosa. Del 65% de los pacientes con conjuntivitis por Chlamydia 62% fueron mujeres, el período de evolución clínica fue de 1 a 12 meses. El 78% de estas mujeres tenían reporte previo de patología genital y el 29% de los hombres tenían historia de uretritis por Chlamydia trachomatis.

TRANSMISIÓN

La transmisión es por medio de secreciones, contaminación de un ojo a otro, de manos a ojos, ropa contaminada e incluso las moscas que se alimentan de secreciones oculares de niños infectados como mecanismo de transmisión (25).

Varios estudios han encontrado que la frecuencia del lavado de la cara está relacionado con la frecuencia y severidad del tracoma (7,10). En México se realizó un estudio de 1097 personas expuestas al tracoma en donde el 25% de los niños menores de 10 años tenían tracoma inflamatorio y casi el 100% de los adultos tenían tracoma cicatricial (24). La observación que se obtuvo sobre los hábitos de higiene señalaron que la frecuencia del lavado de la cara fue el parámetro de higiene personal que se asociaba más cercanamente con la ocurrencia y severidad del tracoma. La transmisión intrafamiliar por contacto directo es la forma más frecuente de reinfección.

FISIOPATOGENIA

La enfermedad se presenta casi siempre en la infancia en la edad preescolar en ocasiones de forma brusca con inflamación conjuntival, después de un periodo de incubación de 7 a 14 días, se establece la fase inflamatoria caracterizada por una conjuntivitis folicular crónica generalmente bilateral por acumulación de linfocitos, polimorfonucleares y macrófagos. Los síntomas son inespecíficos e incluyen enrojecimiento, lagrimeo, fotofobia, exudado mucopurulento, sensación de cuerpo extraño y edema palpebral. Los signos clínicos incluyen hiperemia, quemosis e hipertrofia folicular y papilar.

Los folículos representan una hiperplasia del tejido linfoide, son lesiones discretas, redondas, elevadas de la conjuntiva, de diámetro de 0.5 a 5.0 mm, se localizan principalmente en la conjuntiva tarsal inferior y en la superior en menor cantidad, se observa a su alrededor un retículo vascular que crece alrededor del folículo, los vasos desaparecen hacia el centro del folículo. Histológicamente están compuestos por linfocitos, macrófagos y células plasmáticas, pueden formar folículos linfoides.

Las papilas tienen una zona central fibrovascular en cada papila con un vaso sanguíneo central, forma una figura vascular arborizada cuando alcanza la superficie, se observan como áreas hiperémicas, elevadas y poligonales, separadas por tabiques de tejido conectivo fijos a los tejidos profundos, que le dan apariencia de áreas más pálidas y como resultado un límite poligonal, las papilas gigantes aparecen al romperse éstos tabiques, su diámetro es de 0.3 a 2.0 mm y se consideran gigantes si son mayores a 1.0 mm, pueden observarse en cualquier

parte de la conjuntiva o en el limbo, predominantemente en el tarso superior. Histológicamente están compuestas de leucocitos polimorfonucleares y otras células inflamatorias agudas e hipertrofia epitelial.

No existen diferencias histológicas entre los folículos producidos por irritantes, infecciones o en la foliculosis (28).

La fase cicatricial se inicia en la adolescencia cuando la respuesta inflamatoria disminuye de intensidad y en su lugar ocurre una respuesta cicatricial. En la conjuntiva bulbar, la inflamación crónica causa fibrosis y adherencias a los tejidos subconjuntivales, con pérdida de las células caliciformes y de las glándulas lagrimales accesorias. Clínicamente la conjuntiva se ve reseca y engrosada y se pierden los fondos de saco conjuntivales; si la inflamación del tejido conjuntival se extiende al tarso y al músculo orbicular se puede ocasionar contracción progresiva del tejido cicatricial causando entropión y triquiasis, con la subsecuente irritación mecánica de la córnea y de la conjuntiva.

En la córnea, los primeros cambios ocurren como consecuencia de la inflamación del epitelio y del estroma anterior e incluyen opacificación del epitelio de la córnea y queratitis superficial punteada, posteriormente se forma el pannus tracomatoso. El tracoma conduce a ceguera corneal por varios factores: la membrana conjuntival escarificada y resaca pierde su función nutritiva y renovadora del epitelio corneal; por infecciones agregadas que pueden causar opacidades; la abrasión mecánica causada por las pestañas invertidas provoca más opacificación y queratinización. El resultado final es una córnea totalmente opacificada que aún transplantada se opaca nuevamente ya que la conjuntiva que la renueva esta fibrosada por lo que se constituye una ceguera intratable en estas fases (24).

La detección temprana y oportuna de Chlamydia previene, al darse tratamiento, las complicaciones tardías, por lo que si se conoce bien el ciclo y las características de esta bacteria se debe buscar intencionadamente en niños, mujeres embarazadas; mujeres en edad reproductiva y hombres (12).

Asociado a infecciones bacterianas, especialmente especies de hemophilus, contribuye a la inflamación conjuntival y produce infiltrados marginales corneales, fibrosis conjuntival, triquiasis y ulceración corneal. El diagnóstico de tracoma puede hacerse con la presencia de dos de los signos siguientes:

- Folículos linfoides en la conjuntiva tarsal superior
- Fibrosis conjuntival
- Pannus vascular
- Folículos límbicos o sus secuelas

CLASIFICACION CLINICA DE MAC CALLAN

Describe la progresión clínica del tracoma

- 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 recomienda la clasificación de enfermedad inflamatoria para casos individuales basado en la presencia de folículos linfoides (F) e hipertrofia papilar (P) para describir cambios inflamatorios (11).

DIAGNÓSTICO POR LABORATORIO DE CHLAMYDIA

La demostración bajo microscopio óptico, con la tinción de Giemsa de inclusiones basófilas intracitoplásmicas en las células epiteliales de los frotis conjuntivales es un método tradicional. Para obtener suficientes células epiteliales se debe raspar la zona de máxima reacción con una espátula roma. En estos frotis las inclusiones pueden ser únicas o múltiples y de tamaño variable. Los polimorfonucleares predominan en el estadio agudo y los mononucleares y células plasmáticas aumentan en estadios posteriores.

La tinción de Wright tiñe la matriz de glucógeno de color pardo rojizo con la solución de lugol, lo que permite diferenciarla de las inclusiones de la psitacosis, que carece de glucógeno.

Todas las Chlamydias comparten un antígeno de grupo común demostrable mediante la prueba de fijación de complemento, es un complejo lipoproteína-hidrato de carbono termoestable. La mitad carbohidrato es la responsable de la actividad del grupo, mediante inmunoelectroforesis bidimensional de Chlamydias solubilizadas con el detergente no iónico Tritón X-100 (alcohol poliéter alquilar) se han reconocido hasta 20 componentes antigénicos.

Wang y Grayston en 1971 desarrollaron una técnica de anticuerpos fluorescentes indirectos para la tipificación serológica de las cepas de Chlamydia trachomatis tipificando casi 700 cepas procedentes de diversas partes del mundo, estas cepas incluyen 12 inmunotipos LGV (L1 L2 L3). Se pueden detectar anticuerpos precoces IgM así como tardíos IgG. El estudio seroepidemiológico mediante la prueba de microinmunofluorescencia demostró que aproximadamente

el 5% de los niños sanos, el 20% de las mujeres y el 10% de los hombres tenían anticuerpos IgG contra *Chlamydia trachomatis*, lo que constituye un indicio de infecciones previas que pasaron probablemente desapercibidas. La especificidad de la prueba de inmunofluorescencia indirecta con anticuerpos depende de los antígenos usados. Los anticuerpos tipo específicos pueden diferenciarse si se incluyen en la prueba cuerpos elementales de todos los inmunotipos conocidos. La prueba es grupo específica si se utilizan cuerpos reticulados o células infectadas.

La técnica requiere de un microscopista entrenado que pueda distinguir entre las partículas verde fosforescente de *Chlamydia* y una fluorescencia inespecífica. Las cepas de *Chlamydia trachomatis* pueden ser serotipificadas por la técnica de microinmunofluorescencia, para lo cual se producen antisueros por inoculación intravenosa del ratón con el antígeno seleccionado, el suero obtenido se separa y se identifica un serotipo por su patrón de reactividad y mediante la titulación apropiada con el serotipo prototipo, actualmente se obtienen de forma comercial los anticuerpos monoclonales para identificar las cepas aisladas (18).

La prueba serológica más ampliamente usada para el diagnóstico de las infecciones por *Chlamydia psittaci* es la prueba de fijación del complemento, en la cual los sueros pareados muestran un incremento cuatro veces mayor en el título.

Chlamydia trachomatis posee un genoma circular de 660 megadaltones que contiene un 47% de guaninas más citosina, los primeros estudios de hibridación entre los ácidos nucleicos de diferentes cepas de *C. trachomatis* muestran una homología de reasociación del 96 al 97%. La reacción en cadena de polimerasa (PCR) es una técnica costosa, que puede ser utilizada para encontrar cantidades muy pequeñas de agentes infecciosos, por amplificación *in vitro* de segmentos de DNA a través de ciclos de desnaturalización, hibridación de iniciadores y extensión enzimática, con una producción hasta de 10⁶ copias de un DNA blanco de 30 ciclos de síntesis. La amplificación específica del segmento de DNA puede demostrarse por la aparición de la banda correspondiente a la distancia entre los iniciadores en geles de azarosa, o mediante el uso de una sonda que reaccione con el producto. Para *C. trachomatis* se utilizan iniciadores dirigidos contra el plásmido críptico, el gen de la proteína principal de la membrana externa (MOMP), el RNA ribosomal 16s y el gen de una proteína rica en cisterna. En el gen MOMP se han localizado tres regiones de longitud adecuada compatibles con las secuencias determinadas en diferentes serotipos de *C. trachomatis*, que están situadas en posición 5' respecto a la primera región variable del gen. La secuencia del plásmido críptico es mucho más constante, por lo que existe una mayor diversidad de iniciadores dirigidos a él.

Para comparar las capacidades relativas de los métodos de cultivo de tejidos, citología inmunofluorescencia directa, de PCR y sondas contra rRNA. Así como para seguir el curso de la enfermedad en infecciones y reinfecciones oculares experimentales, Holland y colaboradores inocularon 5x10³ ifuS del serovac C (cepa TW-3) en cada saco conjuntival del mono *Cynomolgus*, veinte

semanas después se realizó una inoculación similar para establecer si el mono había desarrollado resistencia a la infección, una semana después de la infección, todos los métodos pudieron detectar la presencia del patógeno. El cultivo de células y la citología de fluorescencia directa dieron resultado positivo durante las 12 semanas siguientes a la inoculación, mientras que las dos técnicas basadas en ácidos nucleicos fueron positivas durante 16 semanas. Después de la reinfección, las técnicas de cultivo y fluorescencia directa detectaron a la bacteria durante 4 semanas, mientras que la PCR y GP fueron positivas hasta 9 semanas, lo que indica que en el caso de infecciones oculares por Chlamydia, la bacteria puede permanecer en el sitio de infección y provocar inflamación, aún encontrándose en un estado no cultivable (28).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El tracoma es la causa más importante de ceguera prevenible en el mundo y debe representar una prioridad en el programa nacional de salud pública en México. El tracoma es una enfermedad asociada a poblaciones socialmente relegadas, con pobreza y falta de higiene importante aunada a las mismas. El tracoma es una queratoconjuntivitis crónica causada por la bacteria Chlamydia trachomatis, la infección inicial generalmente ocurre en la edad preescolar (II car), después se establece la fase inflamatoria, caracterizada por una conjuntivitis folicular crónica que es casi siempre bilateral, los síntomas son inespecíficos, los signos clínicos incluyen hiperemia, quemosis e hipertrofia folicular.

¿ Es posible la detección por inmunofluorescencia de Chlamydia Trachomatis en niños escolares indigenas del Estado de Oaxaca en México que presentan conjuntivitis folicular?

JUSTIFICACIÓN

Debido a las consideraciones anteriores, a las zonas endémicas en México de Chlamydia trachomatis y de su repercusión en diferentes órganos, además de ser el tracoma la causa más importante de ceguera prevenible en el mundo; se decidió realizar este estudio en una población indígena con niños escolares ya que hay una incidencia mayor de conjuntivitis folicular en este grupo de edad porque la infección inicial generalmente ocurre en edad preescolar y después de un período de incubación de 7 a 14 días se establece la fase inflamatoria, caracterizada por una conjuntivitis folicular crónica con o sin sintomatología ocular, con toma de frotis conjuntival y análisis de la muestra con inmunofluorescencia. Este método, aunque es menos sensible que el cultivo de células McCoy o la PCR, es de menor costo y se puede realizar diagnóstico de género con él utilizando anticuerpos monoclonales.

HIPÓTESIS

Si los niños escolares indígenas del estado de Oaxaca presentan conjuntivitis folicular es posible que sea causada por *Chlamydia Trachomatis* determinada por inmunofluorescencia

OBJETIVO

Objetivo general:

Detectar por inmunofluorescencia *Chlamydia Trachomatis* en niños escolares indígenas del Estado de Oaxaca en México que presentan conjuntivitis folicular.

MATERIAL Y MÉTODOS

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO:

El estudio se llevó a cabo en el Hospital Regional de Tlaxiaco de Oaxaca, México donde fueron llevados 112 niños escolares indígenas por sus maestros y tutores. A los niños escolares que participaron voluntariamente, previa autorización de sus tutores, se les efectuó examen con biomicroscopía para la evaluación de la conjuntiva en ambos ojos.

En caso de que se detectaran folículos en la conjuntiva tarsal inferior, con o sin sintomatología conjuntival, se dirigió a los pacientes a un consultorio en el cual se les explicó el procedimiento para la toma de muestra de conjuntiva, hubo un intérprete disponible para los niños que sólo hablaban dialectos. Al aceptar el niño y el tutor, se les instaló en una silla en un lugar fresco y bien iluminado, con luz natural y artificial, se les instiló una gota de tetracaína al 1% en el fondo de saco conjuntival de ambos ojos y 1 minuto después se evertió el párpado inferior y con una espátula de Kimura se procedió a realizar un raspado superficial del epitelio de la conjuntiva tarsal inferior, se aplicó posteriormente una gota de cloranfenicol oftálmico y se limpió la piel del párpado con una gasa estéril.

Se realizaron 2 frotis de conjuntiva, cada uno en una laminilla diferente, alveolada con teflón, con número seriado, previamente marcada e identificada con el número correspondiente a los datos del paciente, que se recabaron previos a la toma de muestra.

Una vez secas las laminillas, el material se fijó con una mezcla que contiene 1 volumen de etanol absoluto y 3 volúmenes de acetona en frío. Una vez evaporada la mezcla de solventes, las laminillas se acondicionaron para transporte, se conservaron en refrigeración y se retiraron en cuanto se inició el inmunomarcado,

se dejaron a temperatura ambiente durante 15 minutos, sobre cada alveolo de las laminillas, se depositaron 2 gotas de tampón de fosfato para rehidratar el tejido fijado, se elimina el tampón por inversión de la laminilla y se deposita nuevamente sobre cada alveolo 50 microlitros 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 está ligado a membranas celulares.

La revisión de las laminillas se realizó en el hospital de Infectología del Centro Médico Nacional La Raza con la utilización del microscopio de inmunofluorescencia.

LUGAR DE ESTUDIO

Hospital Regional de la Ciudad de Tlaxiaco Oaxaca México del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Análisis de muestras: Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional la Raza.

UNIVERSO DE TRABAJO

Niños escolares indígenas entre 6 y 12 años de edad, con conjuntivitis folicular del Estado de Oaxaca que cumplan con los criterios de selección establecidos.

TIPO DE ESTUDIO

Descriptivo, prospectivo y transversal.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- ❖ edad de 6 a 12 años
- ❖ Sexo femenino y masculino
- ❖ Escolares indígenas
- ❖ Autorización de consentimiento informado del tutor o representante legal del niño sobre el estudio que se va a realizar.
- ❖ Pacientes con o sin sintomatología ocular que presenten Conjuntivitis folicular

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- ❖ Pacientes que durante la toma de muestra, decidan no continuar con la misma.
- ❖ Pacientes que no acepten el procedimiento para la toma del frotis conjuntival.

VARIABLES:

Variable Independiente:

Conjuntivitis Folicular

Definición conceptual: Es la inflamación de la mucosa conjuntival. Los folículos representan una hiperplasia del tejido linfóide, son lesiones discretas, redondas, elevadas en donde los vasos desaparecen hacia el centro del mismo.

Definición operacional: Es la presencia de inflamación conjuntival y de folículos de predominio en tarso inferior con o sin sintomatología ocular.

Escala de medición: Nominal dicotómica.

Unidad de medición: Presente o ausente.

Variable Dependiente:

Conjuntivitis folicular por Chlamydia Trachomatis.

Definición conceptual: Inflamación conjuntival con síntomas inespecíficos como enrojecimiento, lagrimeo, fotofobia, exudado mucopurulento, sensación de cuerpo extraño y edema palpebral. Los signos clínicos incluyen hipertrofia folicular, hiperemia, quemosis conjuntival y en ocasiones hipertrofia papilar.

Definición operacional: Inflamación de la conjuntiva con hiperplasia de tejido linfóide que corresponde a la formación de folículos que se valora por biomicroscopía. Se debe realizar evaluación microbiológica para detectar Chlamydia trachomatis.

Escala de Medición: Nominal dicotómica.

Unidad de medición: Presente o ausente.

ANÁLISIS DE DATOS

Se utilizaron pruebas de estadística descriptiva, con medidas de tendencia central y de dispersión.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo fue aprobado por el Comité Local de Investigación del Hospital de Especialidades Dr. Bernardo Sepúlveda G. del C.M.N S. XXI con Ref. 37.B5.09.2153/02. Este estudio se realizó respetando la Ley General de Salud (1997) de México, artículos 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 y 27, título 2, capítulo 1, artículos 13 y 14.

Todas las muestras fueron obtenidas por oftalmólogos y se obtuvieron con autorización del representante legal del paciente y del consentimiento verbal del paciente ya que éstos fueron menores de edad.

La toma de muestra es indolora, ya que se realiza bajo anestesia tópica previa y no produce trauma aparente. El material que se utilizó para el muestreo es apirógeno y de uso único y desechable.

Este proyecto cumple con lo establecido por el artículo 39 del capítulo 3 del título segundo del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud y comporta un riesgo mínimo.

RECURSOS HUMANOS

Dr. Pablo Goldschmidt coordinador científico de este estudio, catedrático extraordinario invitado por la Dirección General educativa y cultural de la Secretaría de Relaciones Exteriores de México.

Dra. Lourdes Soto médico oftalmólogo adscrito al servicio de oftalmología en el departamento de Segmento Anterior del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional siglo XXI del IMSS.

Dra. Laura Fátima Espinosa García médico oftalmólogo egresada del HE CMN SXXI del IMSS.

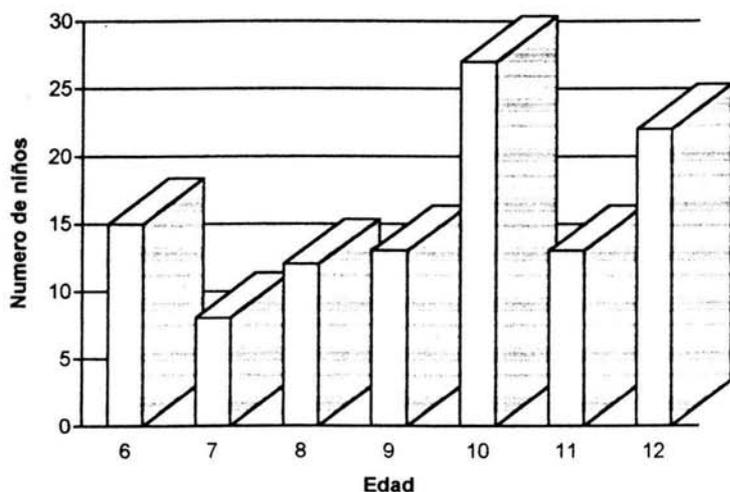
RESULTADOS

En Tlacolula, Oaxaca se examinaron un total de 110 niños escolares indígenas entre 6 y 12 años con conjuntivitis folicular con o sin sintomatología ocular a los cuales se les tomó frotis de la conjuntiva tarsal inferior y la muestra se colocó en una laminilla alveolada de teflón previamente marcada para su estudio posterior en el laboratorio. El procedimiento se realizó de acuerdo a lo proyectado, sin incidentes en la toma de muestras.

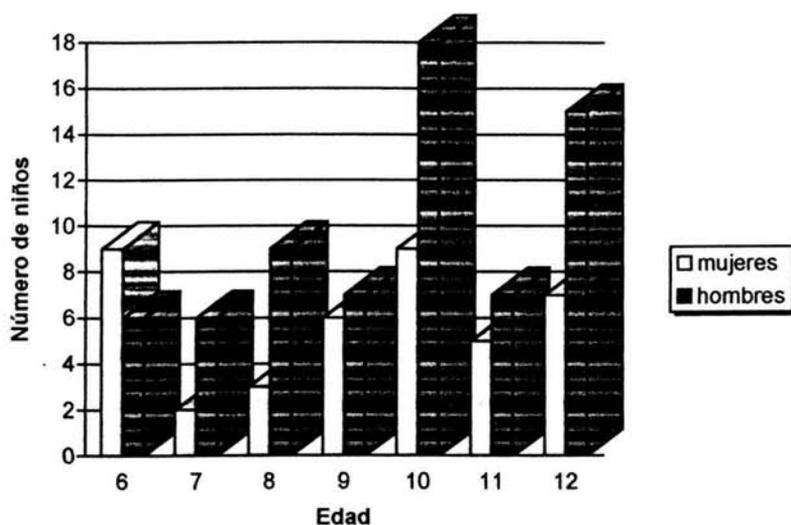
De los 110 niños examinados : 41 fueron mujeres y 69 hombres. El promedio de edad fue de 9 años con un rango de 6 a 12 años.

Al revisar las 110 muestras que se procesaron con inmunofluorescencia se detectó en 4 muestras la presencia de *Chlamydia trachomatis*, que representa el 3.63% de la población. Las laminillas positivas correspondían a 4 mujeres: 2 de 6 años, 1 de 7 años y otra de 9 años, lo que corresponde al 9.75% de la población femenina.

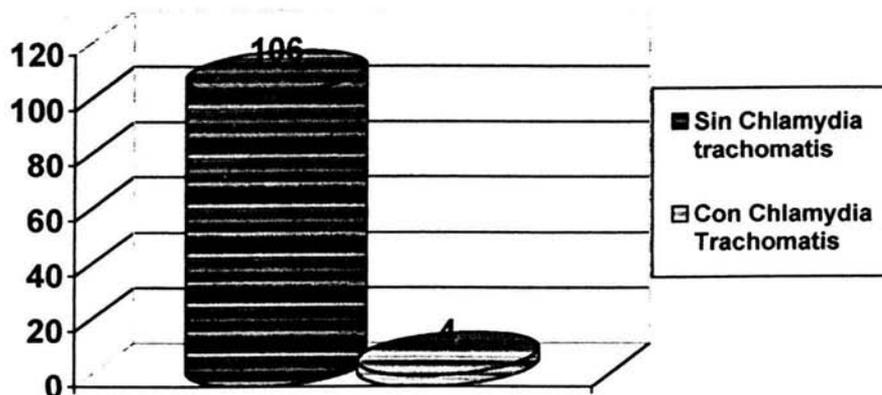
Grupo de estudio con conjuntivitis folicular por edades



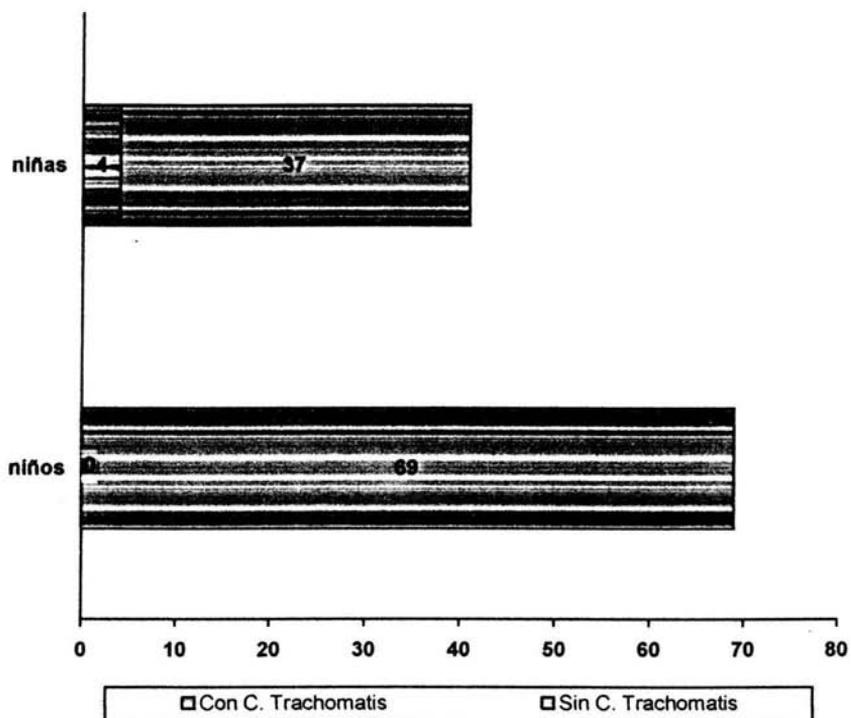
Distribución población por edad y sexo



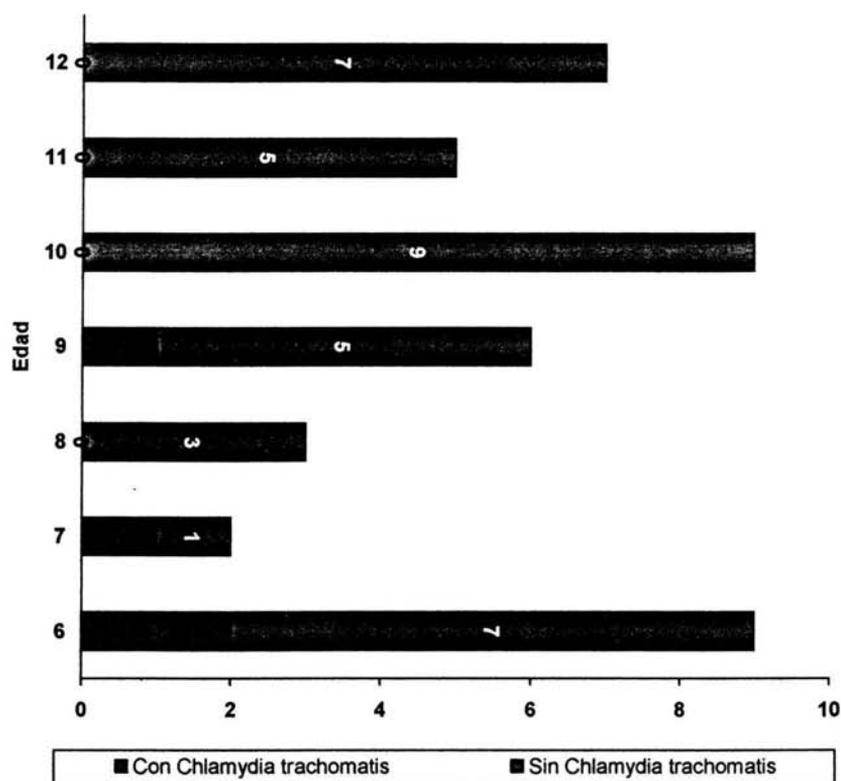
Población total de escolares con conjuntivitis folicular



Niños escolares indígenas del estado de Oaxaca con conjuntivitis folicular



Población total de niñas escolares



DISCUSIÓN

Se han comparado por diversos autores los métodos para la detección de *Chlamydia trachomatis* en especificidad, sensibilidad, tiempo y costos para determinar cuál sería el más adecuado. La PCR (reacción en cadena de la polimerasa) es el estudio de mayor sensibilidad y especificidad para *C. trachomatis* (36), su inconveniente es el alto costo.

La inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales tiene una especificidad del 97% y una sensibilidad del 80 a 90%, su costo es menor que la PCR y es más rápida que el cultivo en células Mc Coy. La *Chlamydia trachomatis* representa un problema de salud pública en México y en el mundo por sus características y complicaciones que puede llevar hasta la ceguera; inicia en la etapa preescolar o escolar con una conjuntivitis folicular, que después del tiempo de incubación de 7 a 14 días puede persistir como conjuntivitis folicular crónica. En México en el medio rural, en donde la marginación, la pobreza, las malas condiciones de vida e higiene personal deficiente sin aseo adecuado de cara, juegan un papel principal para su transmisión se ha establecido que la *Chlamydia trachomatis* es el agente etiológico responsable del 26% de las queratconjuntivitis y con frecuencia está asociada a herpes simple o zoster y adenovirus (30,32). La zona más endémica se localiza en las montañas de Los Altos de Chiapas y afecta principalmente a indígenas Tzetzales (17)). No existen estudios epidemiológicos a gran escala. En un estudio realizado en 6 comunidades indígenas del municipio de Oxchunc el 24% de los niños menores de 10 años tenían tracoma inflamatorio (18).

En China, durante 4 años se realizó de forma rutinaria la detección de *Chlamydia* en niños escolares como un examen de salud necesario, se examinaron 771 niños de 5 escuelas primarias, con inmunofluorescencia y cultivo de células de McCoy, encontrando 118 niños (15.3%) con infección por *Chlamydia*, de entre estos niños el 96.66% tenían poca o ninguna inflamación conjuntival (21).

En India se efectuó un estudio de 127 pacientes que presentaban conjuntivitis crónica, aguda o recurrente, se encontró *Chlamydia* con inmunofluorescencia en 44 pacientes y de éstos sólo se sospechaba clínicamente que tenían *Chlamydia* en 19, los otros estaban diagnosticados como probables infecciones por bacterias, virus o conjuntivitis de tipo alérgico, esta incidencia tan alta manifiesta la situación endémica de la *Chlamydia* en la India (20).

En Bélgica se realizó un estudio en frotis de conjuntiva en 104 pacientes adultos con irritación conjuntival crónica sin diagnóstico preciso, encontrando en 45 casos el 29% por infección de *Chlamydia* y 20% por alergia (19) con inmunofluorescencia y Giemsa lo que da la importancia de pensar en *Chlamydia* como posibilidad diagnóstica en conjuntivitis crónicas de difícil diagnóstico, aún en lugares que no se consideran endémicos.

En los países industrializados del este de Europa, las conjuntivitis causadas por *Chlamydia* tienen una prevalencia mayor en adultos alrededor de los 20 años de edad. En el caso del tracoma clásico en los países en desarrollo, la incidencia mayor de la enfermedad activa ocurre en niños entre los 2 y 5 años de edad(22).

En Buenos Aires, Argentina se realizó una investigación de 1977 a 1999 en pacientes externos con conjuntivitis folicular, se analizaron con inmunofluorescencia y cultivo de células McCoy; de éstos el 65% fueron positivos para cultivo celular y 47% positivos para inmunofluorescencia directa, concluyendo que es más sensible el cultivo que la inmunofluorescencia, con una diferencia de sensibilidad del 18% con células McCoy, lo que la convierte en una mejor alternativa; aunque su costo sea menor, en muchos hospitales no lo hay porque es un examen de costo medio y alto para las condiciones en México.

En nuestro estudio, la frecuencia de *Chlamydia trachomatis* detectada por inmunofluorescencia en la población escolar estudiada. fue de 3.63%; considerando que no es una población endémica, el porcentaje es significativo y sería importante realizar acciones de salud en este estado para prevención y detección de la *Chlamydia* en niños escolares de otras comunidades.

El estudio se realizó en niños con o sin sintomatología ocular que presentaban conjuntivitis folicular y de éstos como ya lo mencionamos a menos del 4% se le detectó *Chlamydia trachomatis*, lo que genera fuentes de investigación para búsqueda de frecuencia y asociaciones etiológicas de conjuntivitis folicular.

CONCLUSIONES

En nuestro estudio encontramos una frecuencia de 3.63 % de *Chlamydia trachomatis* en niños escolares indígenas de Oaxaca que presentaban conjuntivitis folicular, con o sin sintomatología ocular en una zona no considerada como endémica.

La inmunofluorescencia directa es una técnica con una sensibilidad de 80 a 90 % y especificidad de 97%, rápida y de mediano costo, lo que la puede hacer accesible para utilizarla en nuestro país para la detección de *Chlamydia trachomatis*.

La *Chlamydia trachomatis* sigue representando un problema de salud pública en México, debe ser detectada en etapa preescolar o escolar como un programa permanente de detección nacional en niños ya que clínicamente puede ser de difícil diagnóstico porque gran parte de los afectados no presentan sintomatología y los signos clínicos como la conjuntivitis folicular puede estar presente en otras entidades, para disminuir los casos de ceguera por Trachoma.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.-Ward, M.E. Chlamydial classification, development and structure. **Br Med Bull** 1983; 39:109.
- 2.-Dawson CR, Jones B.R., Tarizzo M.L. Guide to trachoma control. **World Health Organization**: Geneva, 1981.
- 3.-Adenis, J.P. et. als. Chlamydia trachomatis conjunctivitis in adults. Study of diagnostic techniques, **J. Fr. Ophthalmol.** L993. 16 (3), 178'83.
- 4.-Salpietro, C.D. Bisignano, G. Chlamydia trachomatis en the newborn. **Arch. Pediatr** Mar 1999; 6(3):317-20.
- 5.- Mancino, R. The ophthalmologist's role in Chlamydia trachomatis infection. **Rev. Int. Trach. Pathol Ocul Trop Subtrop Sante Publique**, 1994; 71:79-83.
- 6.-Palayekar W, Joshi, J.V. Comparison of four nonculture diagnostic tests for Chlamydia trachomatis infection. **J. Assoc. Physicians, India**, May 2000; 48(5):481-3.
- 7.-Hudson, A.P. et. als. Inapparent ocular infection by Chlamydia trachomatis in experimental and human trachoma. **Curr. Eye Res**, 1992, Mar. 11(3):279'83.
- 8.-Schachter, L. Chlamydial and mycoplasmal diseases. Eisenberg, Hutton. **Internal Medicine**. Ed. Mosby, 1998; 1534-1537.
- 9.- Murray, P. et. als. **Medical Microbiology**. Ed. Mosby 1996;267-275
- 10.-Jawest, M. Adelberg. **Microbiología Médica**. Ed. Manual Moderno, México, 1999; 383-393.
- 11.-Dawson C and Sheppard J. Follicular conjunctivitis. **Ophthalmology Duane**. Ed. Lippincott-raven publishers. 1997. CDR edition.
- 12.-Nelson, H.D., Helfand M. Screening for chlamydial infection. **Am. J. Prev. Med.** 2001, Apr; 20(3 suppl):95'107.
- 13.-Rapoza, P. Terry, A.C. et. als. A sistemic aproach to the diagnosis and treatment of chronic conjunctivitis. **Am. Journal Ophthalmology**, 1990; 109 (2); 138-142.
- 14.-Nichols R.L. Studies on trachoma, **Am J Trop Med Hyg.** 1996; 15:639.
- 15.-San Martin, H. **Tratado general de la salud en las sociedades humanas**. Ed. La Prensa Médica Mexicana. 1998; 419-423.
- 16.-Elnifro, E., Storey C. et. als. Polymerase chain reaction for detection of Chlamydia trachomatis in conjuntival swabs. **Br J. Ophthalmol** , 1997;81:497-500.
- 17.-Taylor H.R., Millán Velasco F., Sommer A. The ecology of trachoma: an epidemiological study of trachoma in Southern Mexico. **Bull WHO**, 1985;63:559-67.
- 18.-Wilson M.C., Millán-Velasco F. Tielsch J.M. Immunofluorescent monoclonal antibody citology as a field diagnostic tool for trachoma. **Arch. Ophthalmol** 1986; 104: 668-690
- 19.-Van Ginderdeuren R, Missotten L. Method for detection of conjuntival chlamydial infection and allergic conjunctivitis. **Bull Soc Belge Ophthalmol**, 1994, 254:55-7.
- 20.-Rao, S.K., Madhavan, H.N. Ocular chlamydial infections. Clinicomicrobiological correlation. **Cornea**, 1996, Jan; 15(1):62'5.

- 21.-Wang HZ; Tsai RK. The re-evaluation of the prevalence of trachoma in primary school children in Kaohsiung City.. **Gaoxiang Yi Xue Ke Xue Za Zhi** 1995, Jun;11(6):322'9.
- 22.-Ronnerstam R. Persson K. Chlamydial eye infection in adults. **Scand. J Infect Dis Suppl** 1982;32:III-5.
- 23.-Arffa, R. C. **Enfermedades de la córnea.** . Ed. Harcourt Brace, España, 1999..
- 24.-Taylor H.R. Report of a workshop: Research priorities for the control of trachoma. **J. Infect. Dis.** 1985; 152:383-88.
- 25.-Deleon, R., Hernández M. Chlamydia trachomatis. **Rev. Instituto Politécnico Nacional, México**, 2000.
- 26.-Niederhauser, C. Et. Als. Sreening of Chlamydia trachomatis: is the diagnostic efficacy good enough?, **Gyn. Geburtshilfliche Rundsch**, 2000, Apr;40 (3-4) 134-139.
- 27.-Nelson, L.B. **Oftalmología pediátrica.** Mc Graw Hill, México, 4ta. Ed. 2000.
- 28.-Holland S.M., Hudson A.P., Bobo J.A. et. als. Demostration of Chlamydial RNA and DNA during a culture-negative state, **Infect. Immun**, 60: 2040-2047).
- 29.-Sánchez Salorio, M. Et. **Conjuntivitis** Ed. Noción, EDIKA-MED, Barcelona, España, 1992.
- 30.-González-Almaraz y Pineda-Cárdenas. Diagnóstico citológico de la conjuntivitis por Chlamydia trachomatis. **Rev. Mex. Oftal.** 1987; 61(4); 179-184.
- 31.-González-Almaraz y Pineda-Cárdenas. Diagnóstico diferencial de la queratoconjuntivitis folicular. **Rev. Mex. de Ofttal.** 1987; 61(5): 233-237.
- 32.-González-Almaraz y Pineda-Cárdenas, et. als. Etiología de las queratoconjuntivitis. **Rev. Mex. Oftalmol.** 1987; 61 (3): 125-130.
- 33.-Frost, EH, Deslandes S. et. als. Quantifitation of Chlamydia trachomatis by culture, direct immunoflorescence and competitive polymerase chain reaction. **Genitourin Med** 1995. Aug; 71 (4):239-43.
- 34.-Palayekar, V. Joshi J. et. als. Comparition of four monoculture diagnostic teste for Chlamydia trachomatis infection. **J. Assoc. Physicians India**, May 2000;48 (5):481-3.
- 35.-Barnes, R.C. Laboratory diagnosis of human Chlamydia infections. **Clin Microbiol Rev.** 1989, 2:119-136.
- 36.-Haller E.M. Auer-Grumbach P., et. als. Evaluation of two nomenclature antigen tests and three serotest for infections. **Arch Clin Exp Ophthalmol.** 1996; 234:510-514.

ANEXO 1

MATERIAL

- ❖ Laminillas portaobjetos alveoladas con teflón.
- ❖ Espátulas de Kimura
- ❖ Alcohol absoluto
- ❖ Acetona
- ❖ Lámpara de hendidura.
- ❖ Tetracaína al 1%, gotas oftálmicas.
- ❖ Cloranfenicol gotas oftálmicas.
- ❖ Gasas estériles.
- ❖ Guantes estériles desechables para los médicos que tomen las muestras.
- ❖ Hojas para datos estadísticos y marcador para las laminillas.
- ❖ Formato de hoja de consentimiento informado.
- ❖ Cajas para transporte de las laminillas.
- ❖ Colorantes para estudios histológicos.
- ❖ Anticuerpos monoclonales fluorescentes.
- ❖ Las lecturas de las laminillas se realizaron en el microscopio de inmunofluorescencia del laboratorio de diagnóstico del Hospital de Infectología CMN La Raza.

ANEXO 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Tlacolula, Oaxaca, a ____ de _____ de 2002

Por medio de la presente acepto participar en el proyecto de investigación titulado “ Detección por inmunofluorescencia de Chlamydia trachomatis en niños escolares indígenas del estado de Oaxaca en México que presentan conjuntivitis folicular”, registrado ante el Comité local de Investigación Médica con el número _____.

El objetivo de este estudio es detectar los casos de conjuntivitis folicular por Chlamydia trachomatis en los niños escolares indígenas del estado de Oaxaca con el método de diagnóstico conocido como inmuofluorescencia directa.

Se me ha explicado que la participación de mi(s) hijo(a)(s) o apoderad legal en caso de ser el tutor, consistirá en:

- 1.- Realizarle una exploración oftalmológica con lámpara de hendidura para detectar si tiene conjuntivitis folicular que es la inflamación de la conjuntiva, tenga o no molestias oculares previas.
- 2.- Si presenta conjuntivitis folicular se le llevará a otro cubículo de enfermería, se le aplicarán dos gotas de anestésico local llamado tetracaína, que no causa efectos secundarios ni adversos.
3. Posterior a un minuto se le evertirá el párpado inferior del ojo derecho y con una espátula estéril, roma, especial para toma de muestras en conjuntiva de ojos, se procederá a realizar un frotis de la conjuntiva tarsal inferior que se colocará en una laminilla de teflón alveolada y previamente marcada para su identificación posterior de la muestra, posteriormente se realiza el mismo procedimiento para el ojo izquierdo.
4. Se le aplicará una gota de cloranfenicol oftálmico en fondo de saco conjuntival y se limpiará el párpado con una gasa estéril.
5. La duración aproximada de este procedimiento es aproximadamente de 10 min.
6. Este procedimiento al ser realizado con anestesia local, no causa dolor o incomodidad, antes, durante ni después de su realización.

Declaro que se me ha informado ampliamente (y por medio del intérprete en caso de requerirlo) que la participación no conlleva riesgos, que el único inconveniente podría ser el tiempo dedicado por parte del paciente para la realización del estudio y que este estudio traerá beneficios en cuanto a conocer mejor la frecuencia de Chlamydia trachomatis en comunidades rurales indígenas para realizar detecciones y tratamientos oportunos, ya que la conjuntivitis por Chlamydia trachomatis puede tener complicaciones muy severas incluso ceguera y que esta enfermedad es difícil de detectarla siendo más frecuente su inicio en edad escolar sin presentar molestias importantes.

El investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que se le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho a negarme o a retirar del estudio a mi(s) hijo(a)(s) o mis representados en caso de ser el tutor, en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que pudiera recibir por parte del Instituto Mexicano del Seguro Social o del Sector Salud.

El estudio no se realizará o se suspenderá si mi(s) hijo(a)(s) o mis representados en caso de ser el tutor, aunque yo lo haya autorizado no se lo quieren realizar o desean retirarse antes de concluirlo.

El investigador principal me ha dado seguridades de que no se le(s) identificará en las publicaciones o presentaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con su privacidad serán manejados en forma confidencial.

NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE O TUTOR

NOMBRE, MATRICULA Y FIRMA DEL
INVESTIGADOR PRINCIPAL

TESTIGO

TESTIGO

ANEXO 3



Fotografía de *Chlamydia trachomatis* con la técnica de inmunofluorescencia directa



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCION REGIONAL SIGLO XXI
DELEGACION 3 SUROESTE DEL D.F.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
"DR. BERNARDO SEPULVEDA G." C.M.N. S. XXI
DIVISION DE EDUCACION E INVESTIGACION MEDICA

15 DE MARZO, 2002

REF. 37.B5.09.2153/ 02

ACTA DEL COMITE LOCAL DE INVESTIGACION

Después de revisar y discutir la segunda versión del protocolo, el documento enviado por los autores, el protocolo:

199/01 "DETECCIÓN POR INMUNOFLUORESCENCIA DE CHLAMIDIA TRACOMATIS EN NIÑOS ESCOLARES INDÍGENAS DEL ESTADO DE OAXACA EN MEXICO, QUE PRESENTAN CONJUNTIVITIS FOLICULAR "

Dictamen: APROBADO

ATENTAMENTE
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

DOCTOR
HECTOR AGUIRRE GAS
DIRECTOR

NHWR