

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL GENERAL CENTRO MEDICO NACIONAL
“LA RAZA”**

**FRECUENCIA DE NEUMONIA INTERSTICIAL POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN
RECIEN NACIDOS PREMATUROS EN EL HOSPITAL DE GINECOLOGÍA No. 3 DEL
CENTRO MÉDICO NACIONAL “LA RAZA”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE:

PATOLOGÍA CLÍNICA

P R E S E N T A :

DR. JESÚS MANUEL MONTIEL RAMÍREZ

A S E S O R :

DRA. MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES

MEXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INVESTIGADORES

Investigador Principal

Dr. Jesús Manuel Montiel Ramírez.

Residente de tercer año de Patología Clínica.
U.M.A.E. Hospital General "Gaudencio González Garza".
Centro Médico Nacional "La Raza"
Tel: 0445537356161
E-mail: stregocio@hotmail.com

Nombre del Asesor

Dra. Guadalupe Carrillo Montes.

Coordinadora de la Especialidad de Patología Clínica
Hospital de Ginecología Centro Médico Nacional "La Raza".
Calzada Vallejo y Jacarandas s/n Colonia La Raza Delegación Azcapotzalco, c.p.
02990 México, D.F.
Tel: 57245900 Ext. 23686
E- mail: carrillomgmd@yahoo.com

Investigadores Asociados

Dr. Leonardo Cruz Reynoso

Jefe de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
Hospital de Ginecología Centro Médico Nacional "La Raza".
Calzada Vallejo y Jacarandas s/n Colonia La Raza Delegación Azcapotzalco,
c.p. 02990 México, D.F.
Tel: 57245900 Ext. 23745

Dra. Marina Ortega Mondragón

Medico adscrito al servicio de UCIN
Hospital de Ginecología Centro Médico Nacional "La Raza".
Calzada Vallejo y Jacarandas s/n Colonia La Raza Delegación Azcapotzalco,
c.p. 02990 México, D.F.
Tel: 57245900 Ext. 23742

AGRADECIMIENTOS

A mis padres porque gracias a su cariño, guía y apoyo he llegado a realizar uno de los anhelos más grandes de mi vida y por el cual les viviré eternamente agradecido.

A mis profesores por ayudarme a crear los cimientos del sendero por el cual hoy camino.

A mis amigos y amigas por compartir su tiempo, su apoyo, su confianza y sus experiencias en esta Tesis de Vida.

**FRECUENCIA DE NEUMONIA INTERSTICIAL POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN
RECIENTES NACIDOS PREMATUROS EN EL HOSPITAL DE GINECOLOGÍA No. 3 DEL
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"**



**DRA. LUZ ARCELES CAMPOS NAVARRO
DIRECTORA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**

DIRECCIÓN DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN



**HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
C.M.N. SIGLO XXI
COORDINACIÓN CLÍNICA DE EDUCACIÓN
E INVESTIGACIÓN EN SALUD**

**DRA. MARIA GUADALUPE VELOZ MARTÍNEZ
JEFE DE DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
HOSPITAL DE GINECOLOGÍA No. 3 CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**

**DRA. NOEMI PATRICIA CASTILLO TORRES
PROFESORA TITULAR DE LA ESPECIALIDAD EN PATOLOGÍA CLÍNICA
IMSS-UNAM**

**DRA. MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES
ASESOR DE TESIS
COORDINADORA DE LA ESPECIALIDAD DE PATOLOGÍA CLÍNICA
HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**

**DR. JESUS MANUEL MONTIEL RAMÍREZ
MÉDICO RESIDENTE DE TERCER AÑO DE PATOLOGÍA CLÍNICA
HOSPITAL GENERAL CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA**



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 3504

FECHA 21/05/2010

Estimado MA. GUADALUPE CARRILLO MONTES

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle que, el protocolo de investigación en salud presentado por usted, cuyo título es:

FRECUENCIA DE NEUMONIA INTERSTICIAL POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS EN RECIEN NACIDOS PREMATUROS EN EL HOSPITAL DE GINECOLOGÍA No. 3 DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"

fue sometido a consideración del Comité Local de Investigación en Salud, quien de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores consideraron que cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética médica y de investigación vigentes, por lo que el dictamen emitido fue de: **A U T O R I Z A D O**.

Habiéndose asignado el siguiente número de registro institucional

No. de Registro
R-2010-3504-17

Atentamente

Dr(a). Oscar Arturo Martínez Rodríguez
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud Núm 3504

IMSS
SEGURIDAD Y SALUD SOCIAL



Recibido
27/05/10

INDICE

Resumen	7
Antecedentes Científicos	8
Justificación	14
Planteamiento del Problema	15
Objetivos	16
Material y Métodos... ..	17
Tipo de Estudio	17
Criterios de Selección	17
Definición de las Variables	18
Tamaño de la Muestra	19
Aspectos Éticos	20
Recursos, Financiamiento y Factibilidad	20
Cronograma de Actividades	21
Gráfica de Gant	22
Descripción General del Estudio	23
Resultados	24
Discusión	28
Conclusiones	31
Expectativas.....	32
Bibliografía	33
Anexos	37
Anexo 1. Hoja de Consentimiento Informado	38
Anexo 2. Material y Métodos	39
Anexo 3. Hoja de recolección de datos	43

RESUMEN

Antecedentes: *Chlamydia trachomatis* es el agente más prevalente en las infecciones por transmisión sexual. Se estima que del 2 a 20% de las mujeres embarazadas tienen *C. trachomatis* en su endocervix, lo que provoca la colonización del producto en el momento del parto y el riesgo de que el mismo presente una complicación infecciosa a nivel pulmonar o conjuntival. En países primermundistas se ha observado una frecuencia del 3 a 18% de neumonía en recién nacidos por *Chlamydia trachomatis*, y se estima que podría ser mayor en países subdesarrollados; no obstante su frecuencia en recién nacidos prematuros aun es desconocida. El diagnóstico por aislamiento en cultivos resulta costoso para muchas instituciones de salud, sin embargo existen métodos inmunoenzimáticos que permiten la identificación serológica indirecta del agente infeccioso de forma rápida y con ello el establecimiento de un tratamiento oportuno.

Objetivo: Conocer la frecuencia de neumonía causada por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos prematuros por medio de prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida.

Metodología: Se realizó un estudio observacional, prospectivo, transversal, descriptivo. Donde se incluyeron todos recién nacidos prematuros que tenían sospecha clínica de neumonía por *Chlamydia trachomatis* en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (del 01 de febrero al 31 de junio del 2010). A los pacientes se les tomó una muestra de sangre de 0.5 ml la cual fue centrifugada y separada para obtener el suero, se les realizó la prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida para la detección de anticuerpos de tipo IgA anti-*Chlamydia trachomatis*, en el laboratorio clínico. Además se realizó una entrevista a la madre en busca de posibles factores de riesgo durante el embarazo y el parto. Todos los datos se analizaron con estadística descriptiva.

Resultados: Se estudiaron un total de 20 muestras de las cuales el 100% presentó un resultado no reactivo para anticuerpos de tipo IgA anti-*Chlamydia trachomatis*. De los factores de riesgo investigados ninguna de las madres presentó antecedentes de infección vaginal por *Chlamydia trachomatis* en el embarazo. Se encontró que como antecedentes perinatales la mitad de las madres presentó ruptura prematura de membranas que es una entidad que de dentro de sus causas se asocia a infección por *C. trachomatis*, las manifestaciones clínicas de los pacientes prematuros fueron similares a los reportados en los recién nacidos de término.

Conclusiones: Aun cuando los resultados de todos los fueron negativos para detección de anticuerpos de tipo IgA para *Chlamydia trachomatis*, esto no significa de que esta entidad no se encuentre presente en nuestro medio como agente causal de neumonía en el recién nacido prematuro. Estos resultados pueden atribuirse a el limitado tamaño de muestra, el tiempo que tarda el médico en sospechar infección por *C. trachomatis* al ser una patología que se diagnostica por exclusión y que el tiempo de solicitud del estudio repercute en la titulación de anticuerpos de tipo IgA anti-*C. trachomatis* para su detección y el método de detección propuesto.

Palabras clave: Neumonía Intersticial, *Chlamydia Trachomatis*, Recién Nacidos Prematuros.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

Chlamydia trachomatis es el agente más prevalente en las infecciones por transmisión sexual en países en desarrollo y en vías de desarrollo, y constituye la causa bacteriana más frecuente de dichas enfermedades, las cuales típicamente se manifiestan como cervicitis y uretritis^{1,2}. La infección por esta bacteria produce secuelas y complicaciones que van desde la enfermedad pélvica inflamatoria a la infertilidad e incluso se ha observado como causa de aborto recurrente^{2,3}.

La prevalencia a nivel mundial de *C. trachomatis* varía en diversos estudios: en mujeres asintomáticas que asisten a clínicas de planificación familiar se ha reportado entre 3 a 5%, aumentando a cifras mayores de 20% en las clínicas dedicadas a las Enfermedades de Transmisión Sexual. En embarazadas varía entre 2 a 37%; asimismo se ha sugerido que las mujeres que toman anticonceptivos orales son más propensas al desarrollo de cervicitis, debido en parte a la presencia de ectropión cervical⁴. En el 2006 Pellow y colaboradores⁵ reportaron en Gran Bretaña un total de 103, 932 infecciones por *C. trachomatis* las cuales fueron diagnosticadas en sus unidades clínicas representando un incremento del 8% con respecto a lo observado un año previo, siendo las mujeres de entre los 16 a 24 años las más afectadas excediendo los 1000 casos por 100 000. Asimismo se han reportado que el 50 a 70% de los recién nacidos con madres infectadas, adquirirían algún tipo de infección por *C. trachomatis* al momento del nacimiento^{6,7}.

Estudios realizados en México han mostrado una frecuencia de 4 y 28% en mujeres no embarazadas, consideradas como de bajo riesgo para las infecciones de transmisión sexual; de 16.6% en trabajadoras sexuales y hasta de 10 a 12% en embarazadas. En nuestro país no se conoce la prevalencia y el impacto causado por esta infección en diferentes grupos de mujeres, debido a

la relativa dificultad para establecer el diagnóstico, ya que la metodología de laboratorio es técnicamente demandante y costosa⁴. Se estima que el 50 al 70% de los recién nacidos de las mujeres infectadas llegan tener una infección en uno o más sitios anatómicos, incluyendo conjuntivas, nasofaringe, el recto y la vagina^{8,9,10}. Las infecciones por chlamydias durante el embarazo pueden causar una variedad de complicaciones perinatales. Investigaciones serias han reportado que 2 a 20% de las mujeres embarazadas tienen *C. trachomatis* en su endocervix¹¹. Aunque la transmisión de los organismos de las madres a su infantes generalmente ocurre en el momento del parto principalmente en el paso del neonato por el cérvix infectado, la posibilidad de infección por *C. trachomatis* de forma intrauterina, en el embarazo tardío y por ruptura prematura de membranas ha sido ampliamente descrito^{12,13}. Se ha observado que la corioamnioitis es un hallazgo frecuente de prematurez, así como la insuficiencia respiratoria en neonatos prematuros y puede ser atribuido a infecciones intrauterinas³. Aunque la colonización del recién nacido puede ocurrir sin manifestación clínica, las dos mayores consecuencias de esta adquisición perinatal son la conjuntivitis dentro de las tres primeras semanas de vida, que se desarrolla en el 20 a 60% de los colonizados, y la neumonía en el 3 a 18% de los casos, habitualmente manifestada entre las 2 semanas y los 4 meses de edad^{5,14}.

Las chlamydias son definidas como bacterias intracelulares obligadas, que poseen una pared celular parecida a la de las bacterias gramnegativas conteniendo en la misma lipopolisacáridos y careciendo de peptidoglicanos y son responsables de un espectro amplio de enfermedades en el ser humano¹. Se le conocen tres variantes biológicas de las cuales dos son responsables de provocar enfermedades en seres humanos y una en ratones; gracias a los avances en biología molecular han observado diferentes serovariedades mismas que de la D a la K se le han atribuido los diferentes tipos de infección en

recién nacidos incluyendo la neumonía intersticial y la conjuntivitis^{1,3,12}. Actualmente las chlamidias se han dividido en cuatro grupos; *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* y *C. pecorum*. *C. trachomatis* es el agente causal del tracoma la cual es una importante causa de ceguera y otros efectos aproximadamente en 500 millones de personas, principalmente en los países desarrollados. *C. trachomatis* ha sido reconocido como el agente patógeno de enfermedades como la uretritis no gonococcica, salpingitis, endocervicitis, enfermedad pélvica inflamatoria, linfogranuloma venéreo, conjuntivitis de inclusión en neonatos, conjuntivitis folicular en los adultos, neumonía infantil y otras patologías asociadas. La Psittacosis es una infección sistémica causada por *C. psittaci*, una zoonosis en la que su ciclo de vida natural ocurre en aves y animales domésticos. *C. pneumoniae* es el agente etiológico común causante de infecciones agudas de el tracto respiratorio y neumonía en niños, adolescentes y adultos, se asocia también con la enfermedad coronaria arterial y aterosclerosis³.

El ciclo de desarrollo de las chlamydias es único, a pesar de que estas bacterias pueden sintetizar la mayoría de sus intermediarios metabólicos, *C. trachomatis* es incapaz de hacer su propio ATP, por lo que tendrá que utilizar la energía de una célula huésped a nivel intracelular para obtenerla, es por eso que también este tipo de bacterias son denominadas parásitos de la energía. *Chlamydia trachomatis* posee dos formas la forma órgano primaria la cual es una forma pequeña (300 a 400 nanómetros), son esféricos, densos y es considerada como la forma infecciosa de la clamidia. Posee una membrana rígida por la alta presencia de puentes disulfuro lo que hace apreciarla por microscopia electrónica altamente reticulada misma que permite que sea resistente a las duras condiciones ambientales, encontradas cuando esta fuera de las células huésped eucariontes; asimismo le permite unirse a los receptores de las células blanco e iniciar la infección. *C. trachomatis* tiene tropismo por las células del

epitelio columnar y los macrófagos. La forma órgano reticulada es una forma no infecciosa y su lugar específico es a nivel intracelular, y es metabólicamente activa, son cuerpos más grandes que van entre los 700 a 1000 nanómetros de diámetro y poseen una membrana más frágil por carencia de puentes disulfuro. Durante su forma órgano primario utiliza los cuerpos elementales de la bacteria para unirse a los receptores de las células que son susceptibles y son internalizadas por endocitosis o fagocitosis, proceso que puede durar 4 horas. Dentro de la célula huésped la bacteria está envuelta en un endosoma la cual provoca que en primera instancia desarrolle su forma órgano reticulada y a su vez evita que los lisosomas de la célula huésped se fusione con el endosoma que los contiene, evitando así la muerte intracelular. *C. trachomatis* inicia la activación de su metabolismo sintetizando su propio DNA, RNA y sus proteínas utilizando la energía de la célula huésped; este proceso puede durar de 12 a 24 horas después de haber sido introducidas a la célula. Su reproducción es por fusión binaria, cada inclusión puede producir de 100 a 500 nuevas células y se produce dentro de las 24 a 40 horas de haber sido introducidas. Finalmente, se provoca lisis celular o utilizar la expulsión por endocitosis inversa y reiniciar el ciclo de infección en otras células; el ciclo completo de infección dentro de una célula huésped puede durar hasta 48 horas^{3,16,17}.

En 1975 Schachter y colaboradores⁸ reportaron por primera vez un caso de neumonía por chlamydia la cual se desarrollo poco tiempo después de haber presentado conjuntivitis e inclusión al momento de nacer. Posteriormente otros investigadores subsecuentemente reportaron una relación entre *C. trachomatis* y neumonía infantil^{18,19}. Las características clínicas de una neumonía por *C. trachomatis* en recién nacidos están bien documentadas, y en prematuros aun no está bien aclarada²⁰. Los infantes infectados muestran síntomas en los primeros 4 a 11 semanas de haber nacido. Las infecciones respiratorias agudas representan una causa principal de morbilidad y mortalidad y de

hospitalización en niños²¹. En nuestro país, las mismas representan la principal causa de morbilidad en niños menores de cinco años en los últimos cinco años^{22,23}.

Los signos y síntomas característicos incluyen tos productiva persistente, disnea, taquipnea y abombamiento de la membrana timpánica. La presencia de taquipnea y tos productiva son en la mayoría de los casos precedida de por rinoresaca de 7 a 14 días de duración. Más del 95% de los neonatos están afebriles, y aproximadamente el 50% de los pacientes tiene historial de conjuntivitis^{24,25,26}.

Los datos de laboratorio reportados en la literatura son la presencia de leucocitosis con eosinofilia (>300 cel/mL) elevación de IgG en suero (≥ 5.0 g/L) e IgM (≥ 1.10 g/L), hiperinsuflación e infiltrado difuso pulmonar son datos comunes observados en los estudios de gabinete^{21,27,28}. Existen otros patógenos como el virus sincicial respiratorio, el citomegalovirus, *Ureaplasma urealyticum*, *Bordetella pertussis*, pueden causar formas de neumonía y cuya presentación clínica es similar a la causada por *C. trachomatis*^{14,21}. Existen investigaciones serias en las cuales se ha reportado que existen alteraciones inmunológicas que pueden contribuir al desarrollo de neumonía por chlamydia²⁸. Los neonatos con neumonía por *C. trachomatis* presentan a menudo hiperglobulinemia severa y un incremento en el número de linfocitos atípicos, los cuales en algunas investigaciones sugieren comorbilidad con otros patógenos²⁹. Se observa una hipersecreción de IgG, IgM e IgA contra *C. trachomatis* como en el caso de linfogranuloma venéreo. La neumonía causada por *C. trachomatis* es una enfermedad limitada la cual se presenta en los recién nacidos por debajo de los seis meses de edad^{21,29}. Se ha sugerido que la infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas puede estar relacionada a labor prematura a muerte perinatal³¹.

El diagnóstico definitivo se confirma al aislar el microorganismo en cultivo tisular y por amplificación de ácidos nucleicos, en circunstancias selectivas^{8,32,33}. Las especies de *Chlamydias* son intracelulares obligadas, por lo que las muestras para el cultivo deben incluir células epiteliales y no sólo exudado. Los métodos de amplificación de ácido nucleico (NAAT *nucleic acid amplifications tests*) como las reacciones de cadena de polimerasa y cadena de ligasa entre otras, son más sensibles que el cultivo celular, la sonda de DNA, los métodos de anticuerpos fluorescentes directos (DFA *direct fluorescent antibody*) o los inmunoanálisis enzimáticos (EIA *enzyme immunoassays*), tienen especificidad variable^{6,34,35,36}.

La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) fue desarrollado a principios de los años setenta para el empleo en la investigación seroepidemiológica sobre infecciones por *C. trachomatis*. MIF es sumamente confiable para descubrir la previa exposición a *Chlamydia trachomatis* por la presencia de inmunoglobulina G e Inmunoglobulina A (IgG e IgA)^{16,37}. La presencia de anticuerpos anti-*C. trachomatis* IgG, según el nivel de títulos y su cinética, puede ser indicativa de una infección pasada de *Chlamydia* o de la fase activa en infecciones agudas, crónicas y recurrentes de *Chlamydia*^{3,35,38}. Los anticuerpos IgA anti-*C. trachomatis* indican el estado activo en las infecciones chlamydiales agudas, crónicas y recurrentes. Estos confirman los resultados positivos de IgG anti-*C. trachomatis* y pueden ayudar en las evaluaciones de seguimiento de tratamientos con antibióticos. Además, los estudios clínicos sugieren un alto grado de correlación entre el nivel de IgA antichlamydiales y la presencia real de antígenos chlamydiales. La MIF ha sido comparada con diferentes técnicas. Se calcularon las características del ensayo, encontrándose los siguientes resultados: Especificidad de 96%, con una sensibilidad de 97.5% en comparación con análisis inmunológicos enzimáticos e inmunoperoxidasa indirecta para detección de anticuerpos anti-*C. trachomatis* IgA³⁹. Chun-Jen C.

y colaboradores⁸ han comparado el estándar de oro de cultivo de aislamiento en tejido para pacientes con neumonía por *C. trachomatis* y métodos inmunológicos para la detección de anticuerpos séricos mostrando que pueden ser una opción confiable y de bajo costo para el diagnóstico de neumonía intersticial por *C. trachomatis*; así mismo han mostrado que la detección de anticuerpos contra *C. trachomatis* es una herramienta útil para detectar enfermedades de tipo sistémico como lo es la neumonía intersticial en recién nacidos⁴⁰.

JUSTIFICACIÓN

En muchos países en vías de desarrollo incluyendo México, es desconocida la frecuencia de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos prematuros, siendo una de sus causas el alto costo y la demanda que genera su aislamiento e identificación para el diagnóstico. Tomando en consideración que en países del primer mundo su frecuencia se encuentra entre el 10 y 12% de las mujeres embarazadas y el riesgo de transmisión al producto es hasta del 18% para la formación de neumonía intersticial con consecuencias fatales. Esto nos permite estimar una frecuencia mayor en países subdesarrollados. En el servicio de UCIN se presenta con mucha frecuencia un número no determinado de neumonías sin respuesta a antibióticos teniendo que sospechar de diversos agentes causales entre ellos a *Chlamydia trachomatis*. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de neumonías intersticiales causadas por *Chlamydia trachomatis*, a través de la prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida que junto con el cuadro clínico de los casos permitieron identificar de una manera más factible a este agente causal y por consiguiente conocer su frecuencia, y con ello realizar un diagnóstico oportuno y un manejo adecuado del paciente.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Cuál es la frecuencia de neumonía intersticial causada por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos prematuros en el Hospital de Ginecología No. 3 Centro Médico Nacional "La Raza"?

OBJETIVO GENERAL

Conocer la frecuencia de neumonía causada por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos prematuros por medio de prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida en el Hospital de Ginecología No. 3 Centro Médico Nacional "La Raza".

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar posibles factores de riesgo para este tipo población pediátrica, asociados a infección por *Chlamydia trachomatis*.
2. Conocer el comportamiento clínico de los pacientes recién nacidos prematuros con neumonía por *Chlamydia trachomatis*.
3. Documentar complicaciones durante el embarazo y en el trabajo de parto.

MATERIAL Y MÉTODOS

La siguiente investigación se realizó en la UMAE Hospital de Ginecología No. 3 del Centro Médico Nacional “La Raza”, la cual ofrece atención médica de tercer nivel, teniendo área de influencia sobre la población derechohabiente de la zona norte del área metropolitana y es centro de referencia para las unidades médicas del estado de Hidalgo y Querétaro. Nuestras instalaciones cuentan con la infraestructura necesaria para la obtención y el procesamiento de las muestras y con el personal altamente calificado y especializado para la realización de este estudio.

TIPO DE ESTUDIO

Observacional, prospectivo, transversal y descriptivo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN

Criterios de Inclusión

Los sujetos de investigación se seleccionaron de acuerdo a las siguientes:

- Pacientes de ambos géneros.
- Recién Nacidos prematuros o cuyo nacimiento se efectuó entre las 28 y 36 semanas de gestación.
- Pacientes que presentaron historial y examen físico sugestivos de enfermedad del tracto respiratorio superior y/o inferior (bronquiolitis, bronconeumonía, neumonía).
- Pacientes con síntomas respiratorios sugestivos de infección por *Chlamydia trachomatis*.
- Pacientes que no contaron con historial de enfermedad pulmonar causada por neumonía lobar, empiema pleural, aspiración, displasia broncopulmonar o enfermedad cardíaca.
- Pacientes que contaron con radiografía de tórax la cual mostraba imágenes sugestivas de infiltración pulmonar.

- Pacientes que contaban con muestra sanguínea suficiente para su procesamiento y que estas se encontraron en óptimas condiciones para el mismo fin.
- Pacientes que no recibieron tratamiento con eritromicina, doxiciclina y/o azitromicina.
- Pacientes con firma de consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

Los siguientes puntos definen las causas de exclusión de la población estudiada:

- Paciente que presentaron otras causas de síntomas respiratorios como neumonía lobar, empiema pleural, aspiración, displasia broncopulmonar o enfermedad cardíaca.
- Pacientes que recibieron tratamiento antibiótico para *Chlamydia trachomatis*.
- Pacientes con historial de tratamiento antibiótico de dos semanas previo a su admisión.

Criterios de Eliminación

Los pacientes fueron eliminados del estudio si presentaron los siguientes:

- Muestra inadecuada para su estudio.

DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Neumonía sugestiva por *Chlamydia trachomatis*

Definición conceptual: Enfermedad infecciosa e inflamatoria que consiste en la afectación de los espacios alveolares de los pulmones a nivel intersticial, que se presenta en recién nacidos o prematuros y es originada sugestivamente por *Chlamydia trachomatis*.

Definición operacional: Pacientes recién nacidos prematuros que cursan con manifestaciones clínicas como rinorrea, tos seca o productiva, taquipnea, disnea y/o historial de conjuntivitis; con manifestaciones radiológicas

compatibles a infiltrado intersticial bilateral y simétrico, mismas que pueden presentarse desde el momento del parto hasta los seis meses de vida extrauterina.

Tipo de variable: Cualitativa

Escala de Medición: Nominal

Frecuencia de *Chlamydia trachomatis* como agente etiológico

Definición conceptual: Proporción de recién nacidos prematuros con neumonía intersticial, con detección serológica positiva para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* de tipo IgA.

Definición operacional: Proporción de pacientes recién nacidos prematuros a quienes se les realizó detección serológica de anticuerpos contra *Chlamydia trachomatis* de tipo IgA por prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida.

Tipo de variable: Cualitativa.

Escala de medición: Nominal Dicotómica: Positivo o Negativo

TAMAÑO DE MUESTRA

Todos los pacientes que reunieron los criterios de inclusión en el periodo de tiempo comprendido entre el 01 de febrero al 31 de junio del 2010. Para el análisis de datos se utilizó estadística descriptiva.

ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio no interfirió en ningún momento con la salud de la población participante, a todos los padres o tutores se les informó de manera amplia y clara en qué consistió la participación asegurando la confidencialidad, además de que los procedimientos están de acuerdo a las normas éticas, según el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki y sus enmiendas con el código de Núremberg y el informe de Belmont, se anexa carta de consentimiento informado.

RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Se cuenta con la infraestructura necesaria para la obtención de la muestra y el procesamiento en cada uno de los centros participantes, contamos con instalaciones apropiadas para el análisis de cada una de las muestras, junto con el personal apropiado para el desarrollo de esta investigación, contando con un perfil altamente calificado para la obtención, separación, conservación y procesamiento de las muestras.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

- a) Durante los meses de septiembre y octubre del 2009 se delimitó el tema a estudiar.
- b) La recuperación, revisión y selección de la bibliografía se realizó desde noviembre del 2009 y permaneció de forma continua hasta septiembre de 2010 como parte de la actualización y fundamentación científica del protocolo de investigación.
- c) La elaboración del protocolo se realizó durante el mes de noviembre del 2009 a marzo de 2010.
- d) La revisión del protocolo se llevó a cabo en mayo del 2010 y su registro por medio del Comité de Investigación Científica se efectuó el 21 de Mayo del 2010.
- e) La cotización de insumos y reactivos se realizó durante los meses de enero a marzo del 2010, con disposición de los mismos en los meses de febrero a marzo del 2010.
- f) La recolección de las muestras se realizó una vez aprobado el protocolo de investigación por medio del Comité de Investigación Científica en los meses de febrero a junio del 2010.
- g) El procesamiento y estudio de las muestras se realizó entre los meses de febrero a junio del 2010.
- h) El análisis de los resultados, así como su discusión y las conclusiones de la investigación se efectuó en el mes de Julio del 2010.
- i) La impresión de la tesis y su publicación se llevó a cabo en el mes de julio del 2010.

GRÁFICA DE GANT

PROCEDIMIENTOS	SEP 2009	OCT 2009	NOV 2010	DIC 2009	ENE 2010	FEB 2010	MAR 2010	ABR 2010	MAY 2010	JUN 2010	JUL 2010
REVISIÓN BIBLIOGRAFICA											
INTEGRACIÓN DEL PROTOCOLO											
REGISTRO DEL PROTOCOLO											
COTIZACION DE REACTIVOS											
DISPOSICIÓN DE REACTIVOS											
TOMA DE MUESTRAS Y RECOLECCION DE DATOS											
PARTE EXPERIMENTAL											
RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES											
IMPRESIÓN DE TESIS Y PUBLICACION											

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

Se incluyeron todos los recién nacidos prematuros que tenían sospecha clínica de neumonía por *Chlamydia trachomatis* del 01 de Febrero al 31 de Junio del 2010, en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Se les tomó una muestra de sangre de 0.5 ml la cual fue centrifugada de 3 500 a 4 000 rpm para obtener el suero, mismos que fueron preservados a una temperatura de 2 a 8°C hasta completar el número de muestras requeridas (10 muestras) por corrida, todo esto previa firma de carta de consentimiento informado. Posteriormente se procedió a realizar la prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida para detección de anticuerpos de tipo IgA anti-*Chlamydia trachomatis* en el laboratorio clínico, con apego a las indicaciones del fabricante incluyendo controles positivos y negativos. Además se realizó una entrevista a la madre para la búsqueda de posibles factores de riesgo durante el embarazo y el parto. Los resultados fueron reportados al médico y se concentraron en la hoja de recolección de datos (anexo 3) para su análisis respectivo a través de estadística descriptiva.

RESULTADOS

Durante el periodo comprendido del 01 de febrero al 31 de junio del 2010, se reunieron 20 muestras de pacientes que provenían de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales de este Hospital y que cumplieron con los criterios de inclusión para la realización del estudio. Las muestras se estudiaron por medio de prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida para detección de anticuerpos de tipo IgA anti-*Chlamydia trachomatis* según las especificaciones del fabricante. Del total de pruebas realizadas el 100% de las muestras presentó un resultado no reactivo para detección de anticuerpos de tipo IgA anti-*Chlamydia trachomatis*.

Al analizar a la población de recién nacidos prematuros con sospecha clínica de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* se observó que tenían un promedio de vida extrauterina de 12.65 días, con un peso promedio de 1 174.5 gramos, una talla promedio de 37.15 centímetros y un promedio de 30.25 semanas de gestación al momento de nacer (ver cuadro 1).

CUADRO 1

Características generales de los 20 pacientes recién nacidos prematuros con sospecha clínica de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis*.

	Promedio
Días de Vida extrauterina	12.65 (4-55)
Peso al nacer (g)	1174.5 (800-1950)
Talla al nacer (cm)	37.15 (32-39)
Semanas de Gestación al Nacer	30.25 (28-35)
Producto de la Gesta	2 (1-4)

Así mismo se pudieron analizar algunos antecedentes prenatales y perinatales de las madres de los 20 pacientes, de las cuales se observó que tenían una edad promedio de 28 años, aunque todas mencionaron que llevaron atención prenatal durante el embarazo el 60% de ellas presentó complicaciones durante el mismo, siendo las más frecuentes la preeclamsia severa al final del periodo gestacional, presentándose esta en cinco casos, y los embarazos gemelares en cuatro de los casos, sin dejar a un lado la presencia de infecciones de vías urinarias en el primer trimestre de gestación en tres de ellos. La causa más frecuente de complicación perinatal fue la presencia de ruptura prematura de membranas con diez casos, teniendo un promedio de 44 horas de evolución antes de efectuarse la cesárea, seguido de la presencia de oligohidramnios o en su defecto la ausencia de líquido amniótico observado en tres casos y la amenaza de parto pretérmino en dos de ellos. Se encontraron dos casos de corioamnioitis y dos de hipertermia uterina como hallazgos clínicos durante la cesárea (ver cuadro 2).

CUADRO 2

Antecedentes Prenatales y perinatales de las madres de los 20 pacientes recién nacidos prematuros con sospecha clínica de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis*.

Edad de la madre (años)	28.45 (24-38)
Atención prenatal	Si= 100%
Complicaciones durante embarazo	Si= 60%, No= 40%
Preeclamsia Severa	5
Embarazo Gemelar	4
IVU 1er. Trimestre	3
Hipertensión Arterial Sistémica	3
Diabetes Gestacional	1
Síndrome de Hellp	1
Otros	3
Complicaciones Durante la cesárea	
Ruptura prematura de membranas	10
- Promedio en horas de la RPM	44 (6-96)
Oligohidramnios/Liq. Amniotico nulo	3
Amenaza de Parto Pretermino	2
Hallazgos clínicos durante la cesárea	
Corioamnioitís	2
Hipertermia Uterina	2

Las manifestaciones clínicas observadas en los recién nacidos prematuros fueron la presencia de febrícula o en su defecto los pacientes se comportaban afebriles, ninguno de los pacientes presento historial de conjuntivitis. Nuestra población sujeta a estudio presento tos productiva,

taquipnea, disnea, cianosis en todos los casos, así como la presencia de leucocitosis en sus estudios clínicos, el 90% de ellos contaba con una radiografía de tórax la cual mostraba infiltrado intersticial bilateral sugestivo de neumonía, mientras que el 10% restante aun no contaba con la misma. No se observó en ninguno de los casos la presencia de eosinofilia $\geq 300/\text{mm}^3$ (ver cuadro 3).

CUADRO 3

Manifestaciones Clínicas presentes en los 20 pacientes recién nacidos prematuros con sospecha clínica de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis*.

Manifestaciones Clínicas	
Temperatura (° C)	36.79 (36.4-37.2)
Historial de conjuntivitis	No=100%
Tos productiva	Si= 100%
Taquipnea	Si= 100%
Disnea	Si=100%
Cianosis	Si=100%
Rx Torác infiltrado intersticial bilateral	Si=90% No=10%
Eosinofilia $>300/\text{mm}^3$	No=100%
Leucocitosis	Si=100%

DISCUSIÓN

La presencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en aquellos productos a término o prematuros que nacieron por cesárea forman parte de un conjunto de patologías que se han presentado y reportado ampliamente a través de la literatura médica^{20,41}. Sin embargo la detección de estos estados mórbidos en este grupo de pacientes tan selectivo no es fácil tanto del punto de vista clínico como diagnóstico. El hecho de que en nuestro estudio no se haya detectado pacientes con neumonía intersticial serológicamente positivos para *C. trachomatis* puede deberse a diversos factores que se han podido observar en la literatura y que incluso son difíciles de predecir antes o durante la investigación, siendo su mayor peso el tipo de variables que se manejan y que fueron utilizadas en nuestro estudio^{14, 18, 20, 41}.

La primer variable es sin duda la presencia de neumonía intersticial por *C. trachomatis* en recién nacidos prematuros, en el cual es importante resaltar que este es un grupo de estudio sumamente selectivo y más tratándose de una población situada en un hospital de tercer nivel de atención, lo que implica que para determinar su frecuencia real de esta variable deben estar implicadas mas unidades medicas, para una centralización de casos y por consiguiente un mejor tamaño de muestra, sin embargo aunque parezca una solución fácil, no lo es porque implica compromiso por cada uno de los responsables de las unidades participantes, así mismo se incluye un tiempo de investigación prolongado para conseguir el objetivo y un mayor recurso económico. Desde el punto de vista clínico es importante mencionar que es una entidad que no cuenta con síntomas o signos patognomónicos por lo que su sospecha se hace por exclusión, lo que hace que el tiempo repercuta en la calidad de la muestra y por ende se

vean afectados los resultados al momento de su análisis aumentando así la presencia de falsos negativos en los casos ^{6, 18}.

La segunda variable que es la frecuencia de *Chlamydia trachomatis* como agente etiológico es aun más complicada, ya que al ser un microorganismo intracelular obligado es sumamente costoso utilizar el estándar de oro que es el cultivo celular para su detección. Lo que orilla a muchas investigaciones incluyendo la nuestra a utilizar alternativas como el uso de métodos inmunológicos para su detección indirecta, y que dada su especificidad y sensibilidad entre el 80 y el 95% como promedio en la mayoría de estos, implica un incremento que puede ser significativo para la presencia de casos falsos negativos y en menor medida falsos positivos. Es importante mencionar que la mayoría de estas metodologías no cuentan con suficientes estudios que avalen su desempeño y confiabilidad para ser utilizados, por lo que abre una línea de investigación para su valoración.

Dentro de los factores de riesgo observados se encuentra que ninguna de las madres de los pacientes contaba con antecedentes de infecciones vaginales, sin embargo la presencia de infecciones urinarias, el embarazo gemelar y la preeclamsia fueron los puntos más observados durante el embarazo. Es importante resaltar que la presencia de ruptura prematura de membranas fue un factor perinatal presente en la mitad de las madres de los pacientes, ya que muchos autores han relacionado la ruptura prematura de membranas con infección por *Chlamydia trachomatis* ^{20, 26, 41}. Las manifestaciones clínicas presentadas en nuestra población de estudio son similares a las observadas en pacientes con neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos de término ^{14,15,20,35}.

Finalmente es considerable explicar que resulta un tema novedoso a investigar, ya que al ser un problema ampliamente documentado en la literatura médica y que aun no se ha determinado la frecuencia real de neumonía intersticial por *C. trachomatis* a nivel mundial en este tipo de población sumamente selecto, por ello es un desafío para nosotros como investigadores el dilucidarla teniendo en mente que debemos encarar estas variables que hasta la fecha son completamente difíciles de controlar en conjunto, tanto desde el punto de vista económico, técnico y humano al implicar compromiso.

CONCLUSIONES

Aun cuando los resultados de todos los casos resulto negativo para detección de anticuerpos de tipo IgA para *Chlamydia trachomatis* no implica de que esta entidad no se encuentre presente en nuestro medio como agente causal de neumonía en el recién nacidos prematuro.

Es de importancia mencionar que es difícil abordar metodológicamente estas dos grandes variables, dadas en primera instancia por el tipo de población tan selectiva la cual amerita un aumento en el tamaño de muestra e incluir un grupo control con recién nacidos a término y probablemente una captación multicéntrica de los casos y obtener su frecuencia real.

El tipo de metodologías propuesto para determinar su frecuencia es crucial para este grupo de población de características únicas, por lo que nuestra población requirió que cada uno de ellos se confirmara si realmente eran negativos, ya que un factor muy importante que pudo influir es en primera instancia que el diagnostico de neumonía por *Chlamydia trachomatis* se hace por exclusión, lo que hace que el tiempo para la obtención de la muestra y su estudio influya sustancialmente en la detección y titulación en suero de anticuerpos de tipo IgA contra el agente etiológico. Lo que nos conduce a su vez a utilizar otro tipo de metodologías más sensibles y específicas para confirmar que los casos hayan sido verdaderamente negativos.

EXPECTATIVAS

Nosotros como investigadores proponemos que para encontrar la frecuencia real de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* proponemos:

1. Aumentar el tamaño de muestra a través de la centralización de casos en un estudio multicéntrico.
2. Incluir determinación de IgG anti-*C. trachomatis* para confirmar que los casos sean realmente negativos o en su defecto usar una metodología alterna de mayor sensibilidad y especificidad.
3. Incluir un grupo control como pacientes con neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* en recién nacido a término.
4. Obtención de muestras de alta calidad a través de la obtención de las mismas en el momento de sospecha clínica de neumonía intersticial.

BIBLIOGRAFÍA

1. Numazaki K., Wainberg MA., McDonald J. *Chlamydia trachomatis* infections in infants. *C Maj.* 1989; 615-22.
2. Numazaki K., Asanuma H., Niida Y. *Chlamydia trachomatis* infection in early neonatal period. *BMC Infectious Diseases.* 2003; 1:5.
3. Numazaki K. Current problems of perinatal *Chlamydia trachomatis* infections. *Journal of Immune Based Therapies and Vaccines.* 2004; 3:7.
4. Canto CT., Polanco-Reyes L., Fernández-González V., Ruiz-García S. Infección por *Chlamydia trachomatis* en usuarias de dos clínicas de planificación familiar. *Salud Pública de México.* 2003; 45 Supp 5:S657-61.
5. Pellow C., Pratt RJ. Neonatal conjunctivitis and pneumonia due to chlamydia infection. *Sex Transm Dis.* 2006; 2: 16-17.
6. Gencay M., Koskiniemi ML., Fellman V., Amimala P., Vaheri A., et al. *Chlamydia trachomatis* infection in mothers with preterm delivery and in their newborn infants. *APMIS.* 2001; 109: 636-40.
7. Fenton KA., Ward H. National chlamydia screening programme in England: Making progress. *Sex Trans Infect.* 2004; 80 (5): 331-33.
8. Chun-Jen C., Keh-Gong W., Ren-Bin T., Han-Chih Y., et al. Characteristics of *Chlamydia trachomatis* infection in hospitalized infants with lower respiratory tract infection. *J Microbiol Immunol Infect.* 2007; 40: 255-59.
9. Hammerschlag MR., Chandler JW., Alexander ER., English M., Koutsky L. Longitudinal studies on chlamydial infections in the first year of live. *Pediatr Infect Dis.* 1982; 1: 395-401.
10. Hammerschlag MR. Chlamydial infections. *J Pediatr.* 1989; 114: 727-34.
11. Much DH., Yeh S. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in pregnant patients. *Public Health Reports.* 1991; 106 (5): 490-93.
12. Hammerschlag MR. Prospective Study of Maternal and Infantile Infection with *Chlamydia trachomatis*. *Pediatrics.* 1979; 64 (2): 142-48.

13. Bell TA., Stamm WE., Kuo CC., Wang SP., Holmes KK., Grayston JT., Risk of perinatal transmission of *Chlamydia trachomatis* by mode of delivery. J Infect. 1994; 29: 165-9.
14. Salas NR., Pinto CM., Chlamydia trachomatis en recién nacidos de un servicio de neonatología. Cuatro casos. Rev chil pediatr. 2000 71(5) 1-7.
15. Melzer-Lange M., Good L., Hennes H. *Chlamydia trachomatis* infections: Implications for pregnant adolescents and their infants. Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology. 1994; 2: 10-5.
16. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. Clin Microbiol Rev. 1997; 10: 160-184.
17. Winn W. Koneman: Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas en color. Panamericana. 6ta. Ed. 2008: 1824-32.
18. Lumiroa G., Gyues M., Stuart L. Prospective study of perinatal infection with *Chlamydia trachomatis*. J Pediatr Res. 1991; 32: 45-51.
19. Saikku P., Ruutu P., Leinonan M., Kleemola M., et al. *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia trachomatis* in acute lower respiratory infections in Filipino children. Am J Trop Med Hyg. 1993; 49: 88-92.
20. Claman P., Toye B., Peeling WR., Jessamine P., et al. Serologic evidence of *Chlamydia trachomatis* infection and risk of preterm birth. Can Med Assoc J. 1995; 153 (3): 259-62.
21. Portillo C., Lovera D., Arbo A. *Chlamydia trachomatis* como agente etiológico de las neumonías en el Paraguay. Rev Soc Bol Ped. 1997. Supp 1: S43-S48.
22. Chiang YC., Shyur SD., Huang LH., Wen TC., Yang HC., Lin MT., et al. *Chlamydia trachomatis* pneumonia: experience in a medical center. Acta Pediatr Taiwan. 2005; 46: 284-8.
23. Zar HJ. Neonatal chlamydial infections. Pediatr Drugs. 2005; 7 (2): 103-10.
24. Tipple MA., Beem MO., Saxon EM., Clinical characteristics of the afebrile pneumonia associated with *Chlamydia trachomatis* infection in infants less than 6 months of age. Pediatrics. 1979; 63: 192-7.

25. Frommell GT., Rothenberg R., Wang S., McIntosh K. Chlamydial infection of mothers and their infants. *J Pediatr.* 1979; 95: 28-32.
26. Videla C., Carballal G., Cerqueiro C., Hermida L., Juarez C., Murtag P. Infecciones respiratorias agudas bajas en la población pediátrica: detección de *Chlamydia trachomatis* antígeno. *Infectología microb clin. J Infect Dis.* 1982; 146: 530-35.
27. Vaz FAC., Ceccon MEJ., Diniz EMA. Infecção por *Chlamydia trachomatis* no período neonatal: aspectos clínicos e laboratoriais. Experiência de uma década: 1987-1998. *Rev Ass Med Brasil.* 1999; 45 (4): 303-11.
28. Furuya ME., Solorzano F., Rendon E., Zuñiga G., Guerra F., Aranda A., Neumonitis por *Chlamydia trachomatis* en lactantes. *Bol Med Hospital Infantil de México.* 1996; 51: 597-600.
29. Preece PM., Anderson JM., Thompson RG. *Chlamydia trachomatis* infection in infants: A prospective study. *Arch Dis Child.* 1989; 64: 525-9.
30. Colarizi P., Chiesa C., Pacifico L. *Chlamydia trachomatis* associated respiratory disease in the very early neonatal period. *Acta Pediatr.* 1996; 85: 991-4.
31. Fejgin M., Cohen I., Horvat-Kohlmann M. *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy: can it cause an intrauterine infection?. *Isr J Med Sci.* 1997; 33: 98-102.
32. Numazaki K., Chiba S., Yamanaka T., Umetsu M., Nakao T. Pneumonia due to *Chlamydia trachomatis* in Japanese Infants. *Tohoku J. exp Med.* 1984; 143: 413-20.
33. Hammerschlang MR., Roblin PM., Gelling M., Worku M. Comparison of two enzyme immunoassays to cultura for the diagnosis of chlamydial conjunctivitis and respiratory infections in infants. *J Clin Microbiol.* 1990; 28 (8): 1725-27.
34. Brunelle BW. Nicholson TL. Stephens RS. Microrray-based genomic surveying of gene polymorphisms in *Chlamydia trachomatis*. 2004; 5: R42.
35. Schachter J., Grossman M., Parvin HA. Serology of *Chlamydia trachomatis* in infants. *The journal of infectious diseases.* 1982; 146 (4): 530-35.

36. Kent G., Harrison H., Berman S. Screening for *Chlamydia trachomatis* infection in a sexually transmitted disease clinic: comparison of diagnostic test with clinical and historical risk factors. *Sex Transm Dis.* 1988; 15: 51-7.
37. Numazaki K., Chiba S., Yamanaka T., Moroboshi T., Aoki K., Nakao T. Detection of IgM antibodies against *Chlamydia trachomatis* by enzyme linked fluorescence immunoassay. *J Clin Pathol.* 1985; 38: 733-39.
38. Carballal G., Mahony J., Videla C., Cerqueiro C., Chernesky M. Chlamydial antibodies in children with lower respiratory disease. *Pediatr Infect Dis J.* 1992; 18:38-46.
39. Osborne NG., Hecht Y., Gorsline J., Forbes BA., Morgenstern F., Winkelman J. Detection of specific IgG and IgA antibodies to *Chlamydia trachomatis* in women with salpingitis confirmed by laparoscopy. *J Nat Med Assoc.* 1992; 81(5): 541-43.
40. Cravioto M., Matamoros O., Villalobos-Zapata Y., Peña O. y cols. Prevalencia de anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* y anti-*Neisseria gonorrhoeae* en grupos de individuos de la población mexicana. *Salud Pública de México.* 2003 45 Supp 5: S681-S89.
41. Salas R., Pinto M. *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos de un servicio de neonatología: Cuatro casos. *Rev chil ped.* 2000 71(5): 423-426.



ANEXOS

ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

NO. CONSECUTIVO _____

México DF. a _____ de _____ del 2010.

Por medio de la presente y en pleno uso de mis facultades:

Yo.....

Doy mi **CONSENTIMIENTO**, para que mi hijo(a) participe en el protocolo de investigación titulado: **Frecuencia de neumonía intersticial por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos prematuros en el Hospital de Ginecología no. 3 del Centro Médico Nacional “La Raza”**. Registrado ante el comité local de investigación con el número **R-2010-3504-17**. El cual se realizará en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y en el Laboratorio Clínico. La Dra. Guadalupe Carrillo M y/o el Dr. Jesús Manuel Montiel Ramírez me han explicado que el objetivo del estudio es: Conocer la frecuencia de neumonía causada por *Chlamydia trachomatis* en recién nacidos. Se me ha explicado que la participación consistirá en permitir que a mi hijo(a) se le tome una muestra de sangre de 0.5 ml, a la cual le van a realizar las pruebas necesarias para identificar la chlamydia. La información que se obtenga de la participación de mi hijo(a) será manejada de manera confidencial, el estudio no tiene costo alguno, y no interferirá con el tratamiento. Todos los riesgos se me explicaron: enrojecimiento y posibles moretes en el sitio de la punción sin embargo los procedimientos serán realizados por personal capacitado. El beneficio que puedo obtener es saber si mi hijo(a) tiene la enfermedad y reciba tratamiento dirigido. Mi participación es enteramente voluntaria, se respetará mi decisión de participar o no en el estudio, sin que por ello se me niegue el servicio o se me condicione.

Nombre y firma del Padre/tutor

Nombre y firma del Médico

Testigo

Testigo

Dra. Gpe. Carrillo M.. Tel: 57245900 ext. 23686.
Dr. Jesús Manuel Montiel R. Tel: 5537356161 y 557898652.

ANEXO 2

MATERIAL Y METODOS

El **ImmunoComb *Chlamydia trachomatis* IgA** son pruebas rápidas para la determinación cualitativa de anticuerpos IgA anti-*Chlamydia trachomatis* respectivamente en el suero o plasma humano, consisten en una prueba inmunoenzimática indirecta de fase sólida (EIA). La fase sólida es un Peine con 12 proyecciones o “dientes” las cuales están sensibilizados en dos áreas reactivas: a) un *punto superior* que contiene anticuerpos de cabra contra IgA humana y que sirve como control interno y b) un *punto inferior* el cual contiene antígenos activados de *C. trachomatis*. La prueba contiene una Bandeja de Desarrollo donde se llevaran a cabo las reacciones enzimáticas, misma que está compuesta de 6 filas ordenadas de la letra A a la letra F de doce pocillos cada una. Cada fila contiene una solución reactiva lista para ser usada en cada etapa del ensayo. La prueba es realizada en etapas, pasando el Peine de una fila a otra, con un periodo de incubación en cada etapa.

Manejo de las Muestras

La prueba se puede realizar con suero o plasma humano, mismas que pueden ser almacenadas por 7 días a temperatura de 2° a 8° C antes de la prueba. Para almacenar las muestras por más de 7 días, se pueden congelar a -20°C o a temperaturas más bajas. Todas las muestras deben centrifugarse a 10 000 rpm, por 5 minutos a temperatura ambiente. Si se forma una capa de lípidos en la superficie, se debe asegurar de tomar la muestra de líquido claro debajo de la capa. Se debe evitar congelar y descongelar repetidamente.

Los anticoagulantes como heparina, EDTA y citrato sódico no han mostrado tener efecto sobre los resultados del test.

Materiales

1. Pipetas de precisión con puntas desechables y capacidad de 25µl.
2. Tijeras.
3. Cronómetro de laboratorio o reloj.

Se deben de poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente y realice la prueba a temperatura ambiente (22-26° C).

Preparación de la Bandeja de Desarrollo

1. Incubar la Bandeja de Desarrollo en una incubadora a 37°C durante 20 minutos; o deje a temperatura ambiente (22-26°C) durante 3 horas. Lleve todos los otros componentes (Peine, controles y muestras) a temperatura ambiente.
2. Cubrir la mesa de trabajo con papel absorbente, para ser desechado como desecho biocontaminante al concluir la prueba.

3. Mezclar los reactivos sacudiendo la Bandeja de Desarrollo.
4. Es importante no retirar por completo la cubierta de aluminio de la Bandeja de Desarrollo; solo se rompe utilizando la punta desechable de la pipeta o el perforador.

Cada Bandeja de Desarrollo están cubiertas con papel de aluminio, Esta contiene todos los reactivos necesarios para realizar la prueba. La Bandeja de Desarrollo consiste en seis filas (A-F) de doce pocillos cada una. Los contenidos en cada fila son los siguientes:

Fila A: Diluyente de la Prueba.

Fila B: Solución de lavado.

Fila C: Anticuerpos de cabra anti-IgA humano marcados con fosfatasa alcalina.

Fila D: Solución de lavado.

Fila E: Solución de lavado.

Solución de sustrato cromogénico conteniendo 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitro azul tetrazolio (NBT).

Realización de la Prueba

Reacción antígeno-anticuerpo (Fila A de la Bandeja de Desarrollo)

1. Tomar 25µl de la muestra con la pipeta. Perfore con la punta de la pipeta o el perforador la cubierta de papel de aluminio de un pocillo en la fila A de la Bandeja de Desarrollo y vierta la muestra en el fondo del pocillo. Mezcle vaciando y rellenando repetidamente la solución con la pipeta. Deseche la punta de la pipeta.
2. Se repetirá el paso anterior en cada una de las muestras, incluyendo un control positivo y uno negativo provistos en el kit, usando un nuevo pocillo y una nueva punta por cada muestra o control.
3. Se insertará el Peine (con el lado impreso en posición ventral) en los pocillos de la fila A que contienen las muestras y los controles.
4. Se dejará el Peine en la fila A durante exactamente 40 minutos. Se activará el cronómetro. Terminando los 40 minutos se perforará el papel aluminio en la fila B usando el perforador.
5. Al cumplirse los 40 minutos, se sacará el Peine de la fila A. Se deberá de absorber el líquido adherido a las puntas de los dientes apoyándolos sobre un papel absorbente limpio, sin tocar la superficie frontal del diente.

Primer Lavado (Fila B)

6. Se insertará el Peine en los pocillos de la fila B, se agitará de la siguiente forma: se insertará y retirará de manera vigorosa el Peine en los pocillos durante al menos 10 segundos para que quede bien lavado. Se repetirá el lavado varias veces agitando en el transcurso de 2 minutos; mientras tanto, se perforará el papel aluminio de la fila C. Después de dos minutos, se retirará el peine y se absorberá el líquido adherido como en el paso 5.

Unión del Conjugado (Fila C)

7. Se insertará el Peine en los pocillos de la fila C y se mezclará como en el paso anterior y enseguida se programará el cronómetro para 20 minutos. Se perforará el papel aluminio de la fila D. Después de haber transcurrido los 20 minutos, se retirará el Peine y se absorberá el líquido adherido.

Segundo lavado (Fila D)

8. Se insertará el Peine en los pocillos de la fila D y se agitarán como en el paso 6. Se mantendrá 2 minutos en incubación. Mientras termina la incubación, se perforará el papel aluminio de la fila E y una vez transcurrido el tiempo de incubación en la fila D se retirará el Peine y se absorberá el líquido adherido.

Tercer Lavado (Fila E)

9. Se insertará el Peine en los pocillos de la fila E, se agitará como en el paso 6 y se incubará durante 2 minutos, mientras tanto se perforará el papel aluminio de la fila F, y después del tiempo transcurrido, se retirará el Peine y se absorberá el líquido adherido.

Reacción de Color (Fila F)

10. Se insertará el Peine en los pocillos de la fila F. Se mezclará y se programará el cronómetro para 10 minutos, y al cumplir el tiempo se retirará el peine.

Detección de la Reacción (Fila E)

11. Se insertará de nuevo el Peine en la fila E durante un minuto y una vez cumplido el plazo se dejará secar al aire.

Validación de la prueba

A fin de confirmar el funcionamiento correcto de la prueba de demostrar que los resultados son válidos, deberán de cumplir las siguientes tres condiciones:

- a) El **Control Positivo** debe producir dos puntos en el diente del Peine.
- b) El **Control Negativo** debe producir un punto superior (Control interno) y no otros puntos. El punto inferior y medio no aparecen o aparecen tenuemente, sin afectar la interpretación de los resultados.
- c) Cada **muestra analizada** debe producir un punto superior (Control interno).

Sin la presencia de cualquiera de estas condiciones, los resultados de la prueba no se tomarán como válidos y las muestras y controles deben ser nuevamente procesados.

Interpretación de los Resultados

Como ya se mencionó anteriormente la prueba se basa en una determinación cualitativa, para ello se compararán la intensidad del punto inferior de cada diente de muestra con la del punto inferior del diente del control positivo.

Si se encuentra un punto de intensidad mayor que o igual al del control positivo es considerado un resultado positivo, (título ImmunoComb \geq 1:8), indicando una infección chlamydial activa. La ausencia de puntos, o la presencia de un punto con una intensidad menor que la del control positivo son consideradas como un resultado negativo.

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

No. Progresivo: _____

1. Datos del paciente.

Nombre del paciente:		NSS:	Fecha:
Peso:	Talla:	Diagnósticos:	Semanas de Gestación:

2. Antecedentes prenatales.

Atención prenatal: SI NO	Complicaciones durante el embarazo:		
Descripción y complicaciones durante el parto:		Medicamentos utilizados durante el embarazo:	

3. Manifestaciones Clínicas del recién Nacido.

Síntomas	SI	NO	Signos	SI	NO
Fiebre: _____°C			Infiltrado intersticial por Rx		
Historial de conjuntivitis			Eosinofilia $\geq 300/\text{mm}^3$		
Rinorrea			Leucocitosis		
Tos Productiva			Determinación de anticuerpos IgA anti-C. <i>trachomatis</i>		
Taquipnea					
Disnea					
Cianosis					
Otros datos encontrados:					