

1994 - A

085479199

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA Chlamydia trachomatis
EN MUJERES CON AMENAZA DE PARTO PREMATURO,
RUPTURA DE SACO AMNIOTICO Y EMBARAZO NORMAL.

TESIS PROFESIONAL
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
MA. TERESA PALMA RAMIREZ
GUADALAJARA, JAL. SEPTIEMBRE DE 1995

DEDICO ESTA TESIS:

A MIS PADRES POR SU CARINO, COMPRENSION
Y APOYO

A MIS AMIGOS POR SU COMPANIA
INCONDICIONAL

MI AGRADECIMIENTO PERMANENTE

A DIOS POR LA VIDA

A MI MAESTRO Y DIRECTOR DE TESIS EL M.
en c. RODOLFO RAMOS ZEPEDA POR SU APOYO
EN LA ELABORACION DE ESTE TRABAJO

A LA Q.F.B. MARTHA BARBA BARAJAS POR
SUS CONSEJOS Y COLABORACION.

Determinacion de anticuerpos

contra *Chlamydia trachomatis* en mujeres
con amenaza de parto prematuro y ruptura
de saco amniótico.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Los trastornos gestacionales y perinatales tienen múltiples etiologías, un número elevado de ellas se relacionan con infecciones bacterianas del tracto urogenital entre las que se encuentran las causadas por *Chlamydia trachomatis*¹⁻⁷. Esta bacteria es responsable de enfermedades transmitidas sexualmente tanto en el hombre como en la mujer, se considera agente etiológico del linfogranuloma venéreo y del tracoma^{4,5}. Debido a la dificultad que representa el diagnosticar este microorganismo a causa de su escasa o nula sintomatología, además de la dificultad para aislarse en cultivos bacteriológicos rutinarios e identificarse por observaciones citológicas, no se diagnostica oportunamente y la infección no es controlada ocasionando otras complicaciones como la salpingitis, endometritis, esterilidad además de infección del producto al momento del nacimiento causándole conjuntivitis y/o neumonía^{1,3,8,9}.

Desde hace varios años las infecciones por *C. trachomatis*, han constituido una preocupación mundial. En Estados Unidos el Centro para el Control de Enfermedades ha considerado esta bacteria como la causa de epidemias en su población, anualmente se detectan cerca de tres millones de casos, cifra similar a la de infecciones gonocócicas ^{10,11}.

En México no se han realizado estudios que permitan tener una idea precisa de la magnitud de este problema.

Según informes internacionales se responsabiliza a *C. trachomatis* del 30 al 60% de los casos de salpingitis aguda, 40% de salpingitis crónica, 30 al 60% de los casos de esterilidad por infección en las trompas de Falopio y del 40% de las perihepatitis. La prevalencia en mujeres por detección directa es del 3 al 12%, en mujeres embarazadas del 5 al 10% y en recién nacidos del 2 al 9% ⁹.



ANTECEDENTES

ANTECEDENTES

Chlamydia es considerada una bacteria intracelular obligada, tipo cocoide que contiene DNA y RNA, se multiplica por fisión binaria, presenta ribosomas, es sensible a tetraciclina y eritromicina. Es capaz de sintetizar sus proteínas, pero no de producir su propia energía metabólica la que toma de la célula que infecta ^{12,13}. *Chlamydia* presenta dos estadios principales durante su desarrollo: cuerpo elemental y cuerpo reticulado. El primero es un coco de 300 nm de diámetro, es la forma de sobrevivencia extracelular, altamente infectante que se tiñe de color rojo azulado con la tinción de Giemsa, su pared extracelular es una estructura trilaminar rígida, análoga a la de las bacterias Gramm negativas. El cuerpo reticulado es la forma metabólica que se multiplica por fisión binaria, mide entre 800 y 1200 nm de diámetro, tiene baja capacidad infectante. Es la forma intracelular y reproductora que se tiñe de color azul con la tinción de Giemsa. En este estadio el material nuclear es menos electrodensso que en el cuerpo elemental 14-17.

El ciclo de desarrollo de *Chlamydia* ocurre en el citoplasma de la célula hospedera y se caracteriza por la formación de inclusiones intracitoplásmicas ^{11,17,18}.

El género *Chlamydia* comprende 4 especies: *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pecorum*, *Chlamydia trachomatis* y *Chlamydia pneumoniae*. *C. psittaci* afecta mamíferos y aves, *C. pecorum* al ganado, *C. trachomatis* y *C. pneumoniae* son patógenos principalmente de humanos. *C. trachomatis* se divide en tres biotipos, uno patógeno para ratones y dos para humanos ^{15,19-21}.

Se consideran 3 tipos de antígeno de *Chlamydia* de género, de especie y de tipo ^{14,15,21,23}.

Para *C. trachomatis* se han identificado 15 serotipos en base a las diferencias serológicas de la proteína mayor de la membrana externa. Doce se han designado alfabéticamente desde A, B, Ba, hasta K y tres como L1, L2 y L3. Los serotipos A, B, Ba y C se asocian con tracoma endémico, el D y el E asociados con mayor frecuencia en infección genital y conjuntivitis de inclusión en adultos y recién nacidos, le siguen en frecuencia de aparición los serotipos G y F. Los serotipos de D a K son la principal causa identificable de uretritis gonocócica humana (masculina) y pueden causar epididimitis. Los serotipos L1, L2 y L3 se asocian con conjuntivitis de inclusión y linfogranuloma venéreo ^{14,16,19,22,24,25}.

La infección por *C. trachomatis* en el tracto urogenital se considera una enfermedad de transmisión sexual donde las manifestaciones pueden ser mínimas o presentar un curso asintomático ^{3,9,11,26}.

Se considera a *C. trachomatis* el agente etiológico de varios padecimientos entre los que se encuentran infecciones genitourinarias, uretritis, inflamación placentaria, pélvica y de cérvix, en casos extremos puede llegar a causar esterilidad. Además de ser fuente de contagio para la pareja, puede llegar a infectar el feto durante el embarazo o en la etapa perinatal, con el riesgo de colonizar mucosas en el recién nacido, con la posibilidad de desarrollar conjuntivitis de inclusión y/o neumonía ^{1,8,26-28}.

En el curso de la infección por *Chlamydia* se presenta la producción de anticuerpos específicos primero de clase IgM que se mantienen por unos dos meses produciéndose después anticuerpos de clase IgG. La aparición de anticuerpos se sitúa aproximadamente dos a tres semanas después del contacto infectante aunque estos anticuerpos no parecen jugar un papel protector ^{8,15,19}.

La infección por *Chlamydia* se conocía ya desde la antigüedad en China, Grecia y Roma, pero debido a que las infecciones causadas

por *Neisseria gonorrhoeae* y *C. trachomatis* pueden presentarse al mismo tiempo, originan confusión y controversia en su detección.

Kroner en 1884 sugirió que la oftalmía no gonocócica podía deberse a un agente infeccioso desconocido presente en el tracto genital materno. En 1936 Thygeson y Mengert señalaron la localización de inclusiones en el epitelio transicional del cérvix.

El primer cultivo a partir de saco vitelino en embriones de pollo fue realizado por T'ang y cols que aislaron el agente del tracoma basados en el trabajo de Cox, quién había descrito una técnica similar para el aislamiento de las rickettsias. El aislamiento a partir de material genital humano fue realizado por Jones, Collier y Smith quienes aislaron por cultivo en saco vitelino de exudado de cérvix al microorganismo ^{15,16}.

El uso de antígenos empleados para la detección por inmunofluorescencia ha hecho posible la detección de *Chlamydia* en el laboratorio ¹⁸. Aunque existen otros métodos de cultivos celulares donde se emplean los cultivos de células de Mc Coy, Hela ^{29,30}, y cultivos biológicos como los realizados en embrión de pollo, son poco utilizados por su complejidad. Además se cuenta también con técnicas de tinción de frotis directos de exudado

cérvico vaginal pero la sensibilidad del método es baja, por lo que se emplea sólo como primer diagnóstico ^{1,31,32}.

La infección por *Chlamydia* se caracteriza por su tendencia hacia la cronicidad con pocas o nulas manifestaciones clínicas, el examen citológico permite reconocer la infección crónica del cérvix y así mismo reduce sustancialmente el período de infección ^{1,21,33}.

JUSTIFICACION

JUSTIFICACION.

Se considera a *Chlamydia trachomatis* causante de diversos padecimientos entre los que se encuentran salpingitis, endometritis, infección en trompas de Falopio, entre otras.

Debido a esto podría asociarse la *Chlamydia* con embarazo de alto riesgo, de acuerdo con los criterios de Wigglesworth ¹². Cuando el origen de la ruptura de saco amniótico y la amenaza de parto prematuro sea desconocida, se propone como posible causa de ellas a la infección por *C. trachomatis*.

HIPOTESIS

HIPOTESIS.

La infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas está asociada con la amenaza de parto prematuro y ruptura de saco amniótico.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL: Identificar inmunológicamente la infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas.

OBJETIVO PARTICULAR: Determinar la relación de la infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas, con amenaza de parto prematuro y ruptura de saco amniótico. prematuro y ruptura de saco amniótico.

MATERIALES Y METODOS

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 150 mujeres provenientes del Hospital de Gineco-Obstetricia del Centro Médico Nacional de Occidente (CMNO), 100 con embarazo de alto riesgo, 50 de ellas con amenaza de parto prematuro y 50 con ruptura de saco amniótico. Además se incluyeron 50 mujeres con embarazo normal, provenientes del Servicio de Consulta Externa del mismo Hospital.

En condiciones de asepsia y por técnicas habituales con hisopo se tomaron dos muestras de exudado cérvico vaginal. Estas muestras fueron utilizadas para hacer frotis y cultivos. Además en frasco estéril y previo aseo se obtuvo una muestra de la primera orina de la mañana.

A las mujeres incluidas en este estudio se les tomaron con jeringa desechable, por punción venosa 5 ml de sangre periférica, por centrifugación se separó el suero.

TECNICAS.

1. Cultivos microbiológicos.

Por técnicas habituales de cultivos bacteriológicos y micológicos se realizaron urocultivos (UC) y cultivos de exudado cérvico vaginal (ECV).

a) Urocultivos:

Se utilizó la primer orina de la mañana que fue recolectada previo aseo de los genitales ²⁹. Las muestras fueron agitadas para obtener homogeneidad y preparar diluciones 1:10, 1:100 y 1:1000 en agua destilada esterilizada. Un ml de estas diluciones fue colocado en las cajas de Petri que contenían medio de cultivo.

En tubo con tapa esterilizado se colocaron 3 ml de orina sin diluir y se centrifugaron 2×10^3 rpm durante 10 min. Se eliminó el sobrenadante y del sedimento se hizo un frotis que fue teñido por el método de Gram, este frotis fue observado al microscopio de luz. El resultado se tomo como guía para emplear los medios de cultivo apropiados ^{33, 34}. Con el resto de sedimento se inocularon las cajas de cultivo que contenían los medios de agar-gelosa-sangre, EMB y Saboraud. Estas se incubaron durante 24 hr a 37°C. Posteriormente se realizó el conteo de las colonias y se hicieron frotis para la identificación de las colonias que presentaron desarrollo.

De las colonias que no fueron identificadas plenamente se hicieron resiembras y las pruebas bioquímicas de Kligler, citrato, MIO, LIA y urea ^{29, 30, 33}.

b) Cultivo de exudado cérvico vaginal.

Para los cultivos de exudado cérvico vaginal la toma se realizó con hisopos estériles ^{30, 34}. Se prepararon dos frotis en portaobjetos al tomar las muestras. El mismo hisopo con el que se realizaron los frotis se pasó a una solución salina fisiológica estéril para preparar placas en fresco y buscar en ellas trichomonas, levaduras, leucocitos y células epiteliales ³⁴. Otro hisopo fue pasado a un medio de transporte (Stuart) para los inóculos de cada caja de medio de cultivo. El inóculo se esparció en las cajas con un asa bacteriológica de platino. Como medios de cultivo se utilizaron Mc Conkey, Gelosa sangre, EMB, Saboraud y Cassman.

Todos los cultivos se incubaron a 37°C durante 24 hr para posteriormente realizar la cuenta de colonias de bacterias que ahí crecieron. La identificación de las bacterias se efectuó por medio de frotis teñidos con la tinción de Gram.

A las colonias de difícil identificación se les practicaron pruebas bioquímicas para la confirmación del resultado, algunas de ellas

se sembraron para mayor confiabilidad. Las pruebas bioquímicas realizadas fueron las de medio de Kligler, citrato, MIO, LIA y urea.

Para la identificación de las diferentes especies de levaduras se empleó suero ictérico. En el se colocaron las colonias sospechosas y se observó a las 24 hr el crecimiento de micelios^{10,11,14}.

2. Determinación de anticuerpos contra *C. trachomatis*.

Por inmunofluorescencia indirecta se determinaron los anticuerpos contra *C. trachomatis* en el suero de las mujeres que se incluyeron en el estudio.

Se usaron portaobjetos preparados comercialmente (BioMérieux) que contenían *C. trachomatis* serotipo 1.2, (cultivado en embrión de pollo). En cada portaobjetos había 10 sitios para realizar 10 pruebas.

El procedimiento consistió en hacer diluciones del suero de los pacientes (1:8, 1:16 y 1:64) en PBS para investigar IgG ó IgM totales.

Para cada determinación se depositaron 20 μ l del suero en el espacio correspondiente. Los portaobjetos con los sueros se incubaron 30 min a 37°C en cámara húmeda. Se lavaron dos veces en PBS 0.1 M pH 7.2, se escurrieron golpeando suavemente el borde de el portaobjetos en un papel filtro.

Posteriormente se cubrió cada extensión con 20 μ l de conjugado diluido (PBS + azul de Evans).

Se incubaron 30 min a 37°C en cámara húmeda y se lavaron 2 veces en PBS pasándolos rápidamente por un baño de agua destilada. Se escurrió el exceso golpeando suavemente el borde del portaobjetos sobre un papel filtro, se agregaron 40 μ l de PBS con glicerina y se cubrió con un cubreobjetos. Para la observación de las preparaciones se uso un microscopio de luz UV utilizando el objetivo 40 X.

Se determinaron positivos aquellas muestras que presentaron un aspecto de cielo estrellado sobre un fondo ligeramente rojo ²⁴.

3. Determinación de antígeno de *C. trachomatis*.

Por inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoclonales IgG se determinaron los antígenos de *C. trachomatis* presentes en el frotis de exudado cérvico vaginal.

Las muestras para esta prueba se tomaron introduciendo una torunda estéril de Dacrón en el canal endocervical aproximadamente 1 cm. Se giró frotando con cuidado para desprender células, se retiró a torunda evitando tocar las paredes, se eliminaron las muestras hemorrágicas o purulentas y los frotis se hicieron a continuación de tomada la muestra rodando con cuidado la totalidad de la torunda sobre toda la superficie del círculo. Se secó el aire ambiental y se verificó la presencia de la extensión.

Se fijó la muestra agregando 50 µl de acetona sobre el círculo, se dejó evaporar la acetona y se conservó el portaobjetos de 2 a 8 °C con un máximo de 7 días para después hacer la reacción de IFD. Se realizó siempre un portaobjetos control por cada serie de muestras.

El procedimiento para la prueba de IFD consistió en poner 20 µl de anticuerpos monoclonales de ratón contra *C. trachomatis* (comerciales BioMérieux) en cada círculo del portaobjetos con los problemas. Se incubaron 15 min a temperatura ambiente en cámara húmeda, se eliminó el exceso de reactivo y se agregaron 20 µl del medio de montaje para inmunofluorescencia (ázida de sodio 1 g/l). Cuidando de no formar burbujas de aire. Se conservaron una hora en la obscuridad. La lectura se hizo en microscopio de epifluorescencia Carl Zeiss con el objetivo 40X.

Se tomó como resultado positivo aquel que presentaba al menos 10 cuerpos clamidiales (elementales o reticulados) por campo. Se revisaron 20 campos por muestra.

4. Análisis estadístico.

Los datos obtenidos de las características clínicas de las mujeres incluídas en el estudio se evaluaron por la prueba no paramétrica del análisis de varianza de Kruskal-Wallis para comparar las variables de los grupos entre sí y establecer si existen o no diferencias significativas. Los resultados obtenidos de los cultivos microbiológicos, detección de anticuerpos y antígenos por inmunofluorescencia directa e indirecta respectivamente se evaluaron por medio de la prueba de Ji cuadrada.

RESULTADOS



RESULTADOS.

Las características clínicas de las mujeres incluidas en el estudio se describen en la Tabla 1. No se observaron diferencias significativas en la edad, gestas, partos y semanas de gestación entre los grupos de ruptura de saco amniótico (RSA), amenaza de parto prematuro (APP) y embarazo normal (EN).

Los resultados de los cultivos de orina y exudado cérvico vaginal se muestran en la Tabla 2. En ella se observa que el 22% de las pacientes con RSA fueron positivas tanto en UC como en ECV. El 12% de las pacientes con APP y el 10% de las mujeres con EN fueron positivas también en ambas muestras. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0.05$). Los microorganismos de mayor prevalencia en las mujeres con UC positivos fueron *E. coli*, *Staphylococcus coagulasa negativa*, *Staphylococcus epidermidis* y *Proteus* principalmente. En cultivo de ECV se encontraron principalmente *Staphylococcus coagulasa negativa* y *E. coli* (Tabla 3).

La determinación de anticuerpos contra *C. trachomatis* así como de sus antígenos a través de inmunofluorescencia directa e indirecta

Tabla 1. Características clínicas de mujeres embarazadas.

Características	RSA		APP		EN	
	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE	\bar{X}	DE
Edad (años).	26.93 ± 5.83		25.71 ± 5.4		24.82 ± 5.71	
No. gestaciones.	2.93 ± 2.15		2.44 ± 1.43		2.45 ± 1.69	
No. partos.	2.80 ± 1.8		2.00 ± 0.96		2.15 ± 1.51	
Semanas de gestación	31.87 ± 2.89		33.33 ± 3.36		36.43 ± 9.35	

Tabla 2. Cultivos positivos de orina (UC) y exudado cérvico vaginal (ECV).

	UC.	ECV
RSA	11/50 (22%)	11/50 (22%)
APP	6/50 (12%)	6/50 (12%)
EN	5/50 (10%)	5/50 (10%)

(P < 0.05)

Tabla 3. Bacterias encontradas en las pacientes con UCy ECV positivo.

RSA											APP											EN													
n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J			
1		+									1.											1.	+												o
2		o	+								2											2.		+											+
3		o	+								3.	+										3.	+		*										
4		o	+				o				4.	+										4	o	+											
5		o	o	o						*	5.											5.		+											o
6		o					o				6.	+																							
7		o	*																																
8		o	*							+																									
9		*								*																									
10							*																												
11		o	*																																

* Positivo solo en UC.
o Positivo solo en ECV
+ Positivo en ambas

A. Staph. coag. positiva. F. Candida albicans
B. Staph. coag. negativa. G. Staph. epidermide
C. E. coli H. Proteus
D. Levaduras I. Lactobacillus
E. Klebsiella J. Gardnerella

respectivamente, mostró que seis pacientes con APP, cinco con RSA y ocho con EN fueron positivas en una dilución mayor o igual a 1:64 como puede observarse en la Tabla 4 y Fig. 1. Sólo se observó diferencia significativa al comparar RSA con EN ($p < 0.05$). Llama la atención que el grupo con EN fue el que tuvo mayor número de pacientes con anticuerpos contra *C. trachomatis*. Los anticuerpos de clase IgG se observaron con mayor frecuencia, lo que sugiere una infección asintomática crónica, probablemente con presencia de *C. trachomatis*; misma que podría causar problema en el producto al nacimiento, si no se administra el tratamiento adecuado oportunamente.

Sólo una paciente con APP y dos con RSA tuvieron anticuerpos y antígenos de *C. trachomatis*. Así mismo las pacientes con anticuerpos y/o antígenos contra *C. trachomatis* invariablemente fueron también positivas en los cultivos de orina y ECV. Las bacterias que se encontraron en estos casos fueron *Staphylococcus coagulasa negativa*, *E. coli* y *Cándida albicans* (Tabla 5) principalmente. De esta forma se considera a *C. trachomatis* como agente agregado en los embarazos de alto riesgo, debido a que en ninguna de las pacientes se encontró esta bacteria como agente infeccioso único.

Tabla 4. Pacientes con Ac positivos (dil \geq 1:64) contra *C. trachomatis* en suero y Ag positivos en frotis de ECV por inmunofluorescencia directa e indirecta respectivamente.

	RSA	APP	EN
Igs	5/50	6/50	8/50
IgG	5/50	5/50	6/50
IgM	—	1/50	2/50
Ag	3/50	1/50	3/50

($p < 0.05$)

Porcentaje de positividad.

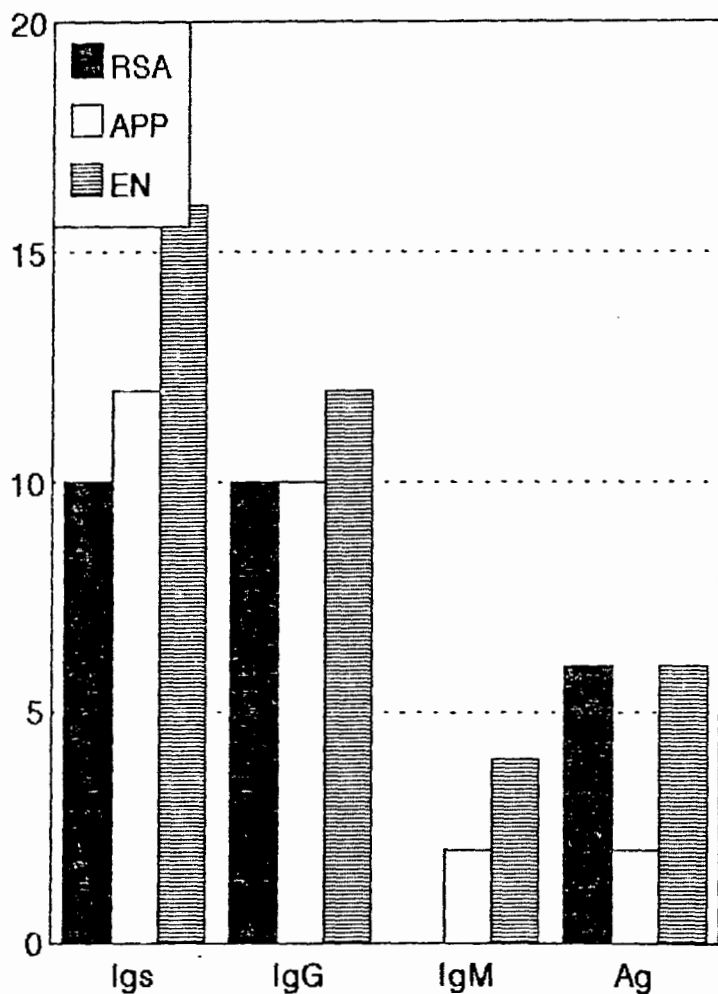


Fig. 1. Anticuerpos positivos (dil > 1:64) contra *C. trachomatis* en suero y antígenos positivos en frotis de ECV por IFD e IFI respectivamente.

Tabla 5. Bacterias aisladas en Uc y ECV de pacientes con Ac positivos a *C. trachomatis*.

RSA											APP											EN											
n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	n	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	
1.											1.	o	o									1.	+										
2.	+	*							*		2.		*	*								o	2.										o
3.	*	o			o						3.	+			o						o		3.	+									o
4.	+	*									4.	+											4.	+		o	o						
5.	o	o	o						*		5.	+	o	o									5.	+		o							
6.										o	6.	*	o							*			6.	+			o						
																							7.	+									
																							8.	+									

* Positivo solo en UC.
 o Positivo solo en ECV
 + Positivo en ambas

A. *Staph. coag. positiva*.
 B. *Staph. coag. negativa*.
 C. *E. coli*
 D. *L. acidophilus*
 E. *Klebsiella*.
 F. *Candida albicans*.
 G. *Staph. Epidermidis*
 H. *Proteus*.
 I. *Lactobacillus*.
 J. *Gardnerella*.

En la Fig. 2 y 3 se muestran los porcentajes de positividad de las bacterias presentes en los UC y ECV. El mayor grado de positividad lo tuvieron *Staphylococcus coagulas* negativa, *E. coli*, *Cándida albicans* y *Gardnerella*.

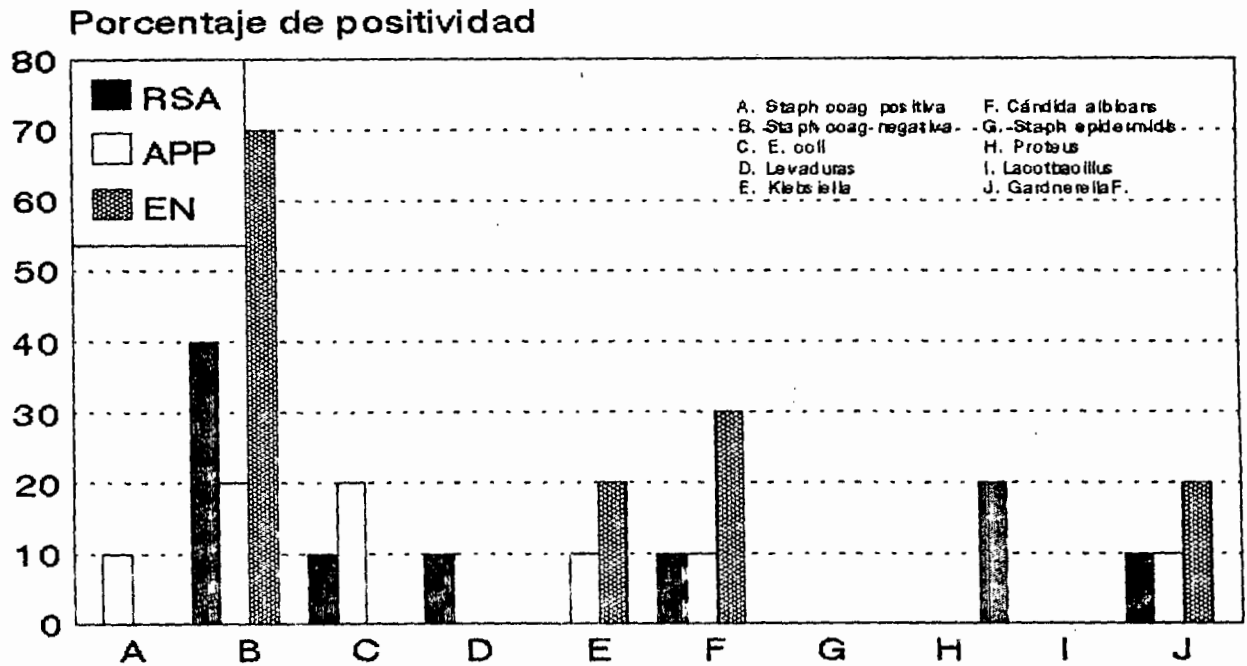


Fig 3. Bacterias presentes en cultivos de ECV de pacientes con Ac contra *C. trachomatis*.

Porcentaje de positividad

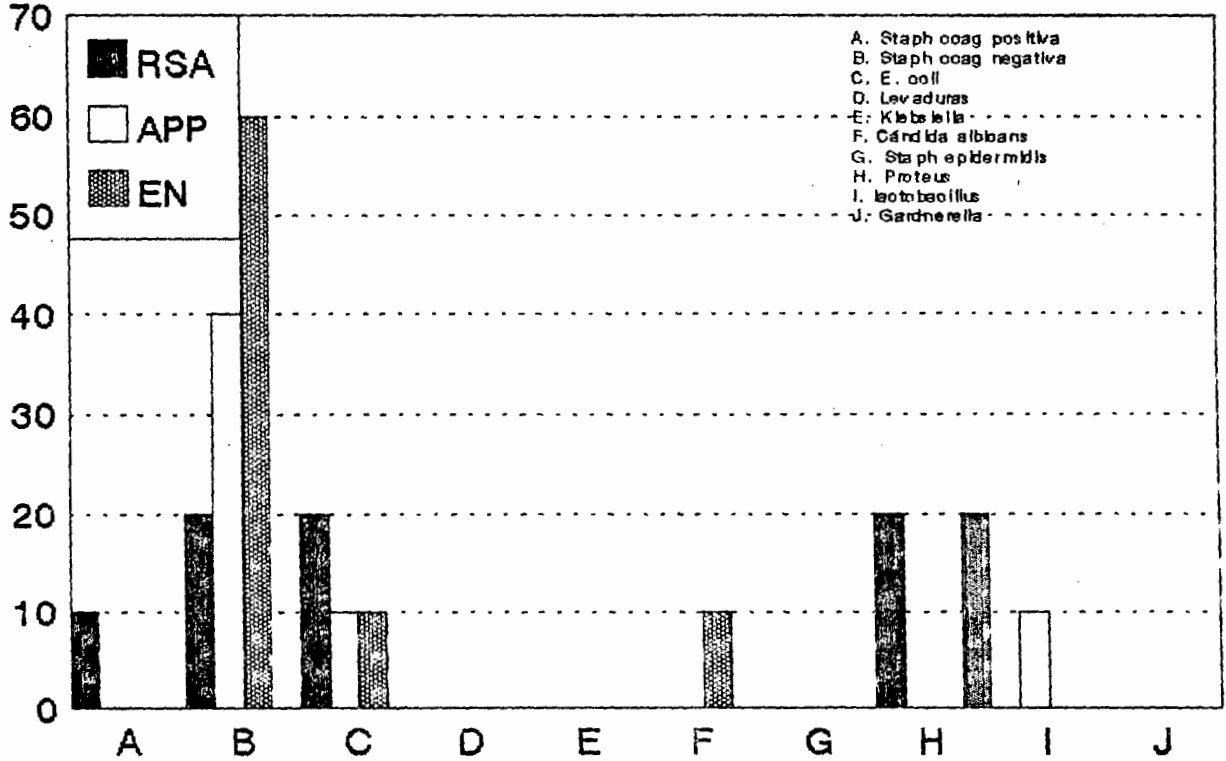


Fig 2. Porcentaje de positividad de bacterias presentes en urocultivos de pacientes con Ac positivos a *C. trachomatis*.

DISCUSSION

DISCUSIÓN.

Las enfermedades de transmisión sexual en los países industrializados son consideradas como problemas prioritarios de salud pública ¹⁸. Existe una gran diversidad de microorganismos entre los que se consideran normales y que incluso cumplen una finalidad en su ecosistema, así como los que ocasionan daños y se consideran patógenos, sin dejar de considerar aquellos que por su difícil aislamiento, cultivo e identificación no se reportan en los estudios rutinarios y que sin embargo son los causantes de cuadros oscuros y rebeldes a los tratamientos habituales, tal es el caso de *Chlamydia trachomatis*, *Listeria monocytogenes* y *Ureaplasma urealyticum*, entre otras ¹⁹.

Decker en 1977 señaló que la presencia de *Chlamydia* no equivalía a infección, que se consideraba se podía transmitir por contacto sexual y que no existía un cuadro clínico específico ¹¹. Recientemente *C. trachomatis* ha sido reconocida como uno de los patógenos genitales de mayor prevalencia en mujeres ³.

El diagnóstico definitivo de *C. trachomatis* no es fácil debido a su escasa o nula sintomatología ¹³. Esta infección genitourinaria en mujeres ha sido detectada por análisis de muestras endocervicales con tinciones histopatológicas (Papanicolaou) ^{9, 18}, cultivos de células ¹³ ensayos con anticuerpos fluorescentes directos e indirectos, ensayo inmunoenzimático, pruebas de hibridación de ácido nucleico ³⁵. Actualmente Lee y cols. ha mostrado que un diagnóstico de infección por *C. trachomatis* basados en la reacción de cadenas de ligasas en orina, da buenos resultados; con una sensibilidad del 94% en comparación con el cultivo cervical que es del 65% ³⁶.

Los resultados de estas pruebas para el diagnóstico de la infección por *C. trachomatis* no han sido del todo satisfactorios, debido a que por técnicas serológicas algunas veces se presentan reacciones cruzadas. La fijación del complemento tiene poca especificidad y el cultivo de células requiere de técnicas de laboratorio especializadas ¹³.

Con las técnicas de tinción para los cuerpos de inclusión característicos, se obtiene el 44% de positividad. En cambio con el aislamiento de *C. trachomatis* en saco vitelino de embrión de pollo tiene una sensibilidad del 20% ¹⁸.

En cuanto a las técnicas de tinción utilizadas para la identificación de *C. trachomatis* los resultados han sido variables. Con la tinción de Giemsa se observa mayor claridad en el contraste de las inclusiones y las células infectadas. En cambio con yodo solo se observan las inclusiones durante una parte del ciclo de *C. trachomatis*, cuando aparece una matriz de glucógeno¹³⁻¹⁹. La técnica de Machiavelo parece influir en la destrucción de algunas células y los contrastes de las inclusiones no son claros¹³.

En otros trabajos donde se utilizó la técnica de Papanicolaou para diagnosticar la infección, los resultados mostraron que la prueba es poco sensible y su valor predictivo varía de 30 - 40% en las mejores condiciones. Por lo que esta prueba se limitó a establecer la sospecha de infección por *C. trachomatis* y justificar la realización de otras pruebas confirmatorias⁹.

El parasitismo intracelular obligado de *C. trachomatis* origina en el huésped una inmunidad importante de tipo celular e hipersensibilidad de tipo retardado. Se observa además producción de anticuerpos específicos inicialmente de clase IgM que se mantienen aproximadamente dos meses produciéndose después anticuerpos clase IgG. Aunque estos anticuerpos no parecen jugar un papel protector¹⁷.

En la realización de este trabajo se utilizó como prueba para diagnóstico la detección de anticuerpos y antígenos contra *C. trachomatis* por inmunofluorescencia directa e indirecta respectivamente, obteniendo resultados que permiten señalar que el número de pacientes con amenaza de parto prematuro y ruptura de saco amniótico que presentaban anticuerpos contra *C. trachomatis* es reducido.

Esto permitió considerar a *Chlamydia* como un agente agregado en los embarazos de alto riesgo y no como responsable del problema, puesto que siempre se encontraron otras bacterias asociadas (*Staphylococcus* coagulasa negativa, *E. coli* y *Gardnerella* principalmente) a *Chlamydia* en el tracto genitourinario de las mujeres estudiadas.

llamó la atención el hecho de que el número de mujeres con anticuerpos contra *Chlamydia* fue mayor en el grupo con embarazo normal que en amenaza de parto prematuro o en ruptura de saco amniótico.

Aunque estas mujeres no presentaban ningún síntoma relacionado con la infección puede pensarse en el período de latencia que presenta el ciclo de *Chlamydia* donde alterna un estado metabólicamente inactivo infeccioso (cuerpo elemental) y un estado metabólicamente

activo (cuerpo reticulado) en vista de que la infección está presente se producen cantidades considerables de anticuerpos aunque la infección no desarrolle sintomatología ¹².

Los anticuerpos encontrados en las mujeres con embarazo normal corresponden a la clase de inmunoglobulina G, lo que sugiere una infección de tipo crónica en la que podría estar presente *C. trachomatis* y que podría ocasionar problemas al producto en el momento de el nacimiento.

Aún cuando el efecto protector de los anticuerpos contra *Chlamydia* no se ha comprobado, es conveniente llevar un control de los niveles séricos de ellos en las mujeres embarazadas, una vez detectada la infección, el tratamiento adecuado debe ser aplicado de inmediato para evitar las consecuencias que pudiera llegar a ocasionar la persistencia de la infección.



BIBLIOTECA CENTRAL

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

C. trachomatis no se considera el agente causal específico de amenaza de parto prematuro o de ruptura de saco amniótico, debido a que siempre se le encontro asociada a otras bacterias.

El hallazgo de anticuerpos de clase IgG contra *C. trachomatis* en mujeres con embarazo normal sugiere una infección de tipo crónico que debe ser tratada adecuadamente para evitar problemas al producto al momento de el nacimiento.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

1. Martín Oll, Koutsky L, Eschenbach DA y cols. Prematurity and perinatal mortality in pregnancies complicated by maternal *Chlamydia trachomatis* infection. JAMA 1982;247:1585-1589.
2. Harrison R, Phil D, Castin M y cols. Cervical *Chlamydia trachomatis* in university women: Relationship to history, contraception, ectopy and cervicitis. Am. J. Obstet. Gynecol. 1985; 153:244-251.
3. Smith JW, Rogers RE, Katz BP y cols. Diagnosis of *Chlamydia* infection in women attending antenatal and gynecologic clinics. J. Clin. Microbiol. 1987;25:868-872.
4. Fraiz J y Jones RB. *Chlamydia* infections. Anv. Rev. Med. 1988;39:357-370.
5. Katz BP, Batteiger BE y Jones RB. Effect of prior sexually transmitted disease on the isolation *Chlamydia trachomatis*. Sex. Trans. Dis. 1987;14:160-164.

6. Landers DV, Erlich K, Sung M y Schachter J. Role of L3T4-Bearing T-cell population in experimental murine Chlamydial salpingitis. *Infect. Immun.* 1991;59:3774-3777.
7. Igietseme JV y Rank RG. Susceptibility to reinfection after a primary Chlamydial genital infection is associated with a decrease of antigen-specific T-cell in the genital tract. *Infect. Immunity.* 1991;59:1346-1351.
8. Hammersch MR, Roblin PM y Cummnings C y cols. Comparison of enzyme immunoassay and culture for diagnosis of Chlamydial conjunctivitis and respiratory infections in infants. *J. Clin. Microbiol.* 1987;25:2306-2308.
9. Sanchez-Mejía RM, Echaniz-Aviles G, Olvera-Salinas. Detección de infección endocervical por *Chlamydia* comparando la tinción de Papanicolaou con inmunofluorescencia directa. *Ginecol. Obst. Mex.* 1989;57:29-35.
10. Sweet, R., Shachter, J., Landers, D., Infecciones por *Chlamydia* en Obstetricia y ginecología, Clínicas Médicas de Norteamérica, Interamericana, México, 1984, pp. 167-188.

11. Stamm, Holmes KK. Measures to control *Chlamydia trachomatis* infections: an assessment of new national policy guidelines. JAMA 1986;256:1179.
12. D. Buzoni-Gatel et al protection against *Chlamydia psittaci* in mice conferred by Lyt-2 T cells. Immunology. 1992;77:284-288.
13. Deleón Rodríguez I. Jiménez Escalante Z. El diagnóstico citológico de clamidias. Bioquímica.1990;15:23-25.
14. Stuart ES, Wyrick PB, Choong J, Stoler SB, McDonald AB. Examination of chlamydial glycolipid with monoclonal antibodies:cellular distribution and epitope binding immunology.1991;74:740-747.
15. Stamm WE. Diagnosis of *chlamydia* genitourinary infections. Ann Intern Med 1988; 180:210-217.
16. Oriel J. D, Ridgay G.L. Infecciones genitales causadas por *Chlamydia trachomatis*. Edit. Científica PLM.

17. Reynold DJ y Pearce JH. Endocytic mechanisms utilized by *Chlamydia* and their influence on induction of productive infection. *Infect. Immunity*. 1991;59:3033-3039.
18. Ibarra Camacho A, Lopez Ojeda G y Iugo de la Fuente G. Un ensayo para el aislamiento y demostración de *Chlamydia trachomatis* en exudados uretrales. *Microbiol*. 1986;28:95-98.
19. Schachter, J. Chlamydial infections. *New England Journal of medicine*. 1978. 298:428-435; 490-495; 540-549.
20. Ossewaarde JM, Rieffe M, De Vries A, Derksen-Nawrocki RP, Hooft HJ, Van Doornum GJJ y Van Loon AM. Comparison of two panels of monoclonal antibodies for determination of *Chlamydia trachomatis* serovars. *Journal of clinical Microbiology*. 1994.32:2968-2974.
21. Rodriguez P. Allardet Servent A. De Barbeyrac B. Ramuz M y Rehear C. Genetic variability among *Chlamydia trachomatis* reference and clinical strains analyzed by pulsed-field Gel electrophoresis. *Journal of clinical Microbiology*. 1994.62:5614-5623.
22. Westbay T. Dascher C. Bovol P. Zaureder M. Dissociation of immune determinants of outer membrane proteins of *Chlamydia psittaci* strain guinea pig inclusion conjunctivitis. *Infection and immunity* 1994. 62:5614-5623.

23. Dean D, Patton M y Stephen RS. Direct sequence wvaluation of the mayor outer membrane protein gene variant regions of *Chlamydia trachomatis* subtypes D', 1' and 1.2'. 1991;59:1579-1582.
24. Sthepens RS, Tasm MR, Kuo CC y Nowinski RC. Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies J. Infect. Dis. 1985;152:791-800.
25. Conlan JW, Clarke IN y Ward ME, Epitope mapping with solid phase peptidtes: identification of type-subspecies, species and genus-reactive antibody binding domains on the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. Mol. Microbiol.1982;2:673-679.
26. Dunlop, E. M. C., In recent advances in Sexually transmitted Diseases. Edited by Morton, R. S. and Harris, J. R. W. 1975; 290.
27. Alonso de Ruiz P, De Larios N. Serrano Espinoza M. Lorenzana R. Compendio de citología ginecológica. Monografía No. 5 Sociedad Médica del Hospital General de México S.S.A. 1981.
28. Rank RG y Barron AL. Humoral Immune response in acquired immunity to chlamydial genital infection in female guinea pigs. Infect. Immun.1983;39:463-465.

29. Buchanan RE y Gibbons NE (ed) 1974. Bergey's Manual of determinative bacteriology. 8th. ed. The Williams and Wilkins Co. Baltimor.
30. Shaub, I.G., Foley, M.K., Scott, E.G., y Bailey, W.R. Diagnostic Bacteriology, ed. 5, The C.V. Mosby Company, ST. Louis, 1958.
31. Lindner LE, Geerling S, Nettum JA et al. The cytologic features of chlamydial cervicitis. Acta citológica 1985;29:676-682.
32. Elio Madan, MD; Meyer M, Amortegui A. Isolation of genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* in stillborn and neonatal autopsy material. Arch. Pathol Lab. Med. 1988;112:749-751.
33. Bowle, W.R., S. P. Wang, E.R. Alexander, J. Floyd, P. Forsyth, H. Pollock, J.S. Tin, T. Buchanan, and K.K. Holmes. Etiology of nongonococcal urethritis: evidence for *Chlamydia trachomatis* and *ureaplasma urealyticum*. J. Clin. Invest. 1977;59:735-742.
34. Manual de procedimientos de laboratorio y de productos BBL. Eds. Asoc. S.A. Méx. 1974.

35. Lee H, Chernesky M, Schachter J, Burczak J, Andrews W, Muldoon S, et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* genitourinary infection in women by ligase chain reaction assay of urine. THE LANCET 1995; 345(28):213-216.
36. Chernesky M, Lee H, Schachter J, et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* urethral infections in symptomatic and asymptomatic men by testing first-void urine in a ligase chain reaction assay. J. Infect Dis 1994; 170:1308-11.
37. Grayston, W. SP. et al E.T.S. Esterilidad y *Chlamydia*. Bacteriología/identificación bacteriana y viral. J. Clin. Microbiology. 1985;1(3):250-255.

INDICE

	Pags
Introducción	2
Antecedentes	4
Justificación	9
Hipótesis	10
Objetivos	11
Materiales	12
Resultados	19
Discusión	22
Conclusiones	27
Bibliografía	28

Universidad de Guadalajara



1309/94

Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias División de Ciencias Biológicas y Ambientales Biología

C. MA. TERESA PALMA RAMIREZ
P R E S E N T E . -

Manifestamos a usted, que con esta fecha ha sido aprobado el tema de tesis "DETERMINACION DE ANTICUERPOS CONTRA CHALAMYDIA TRACHOMATIS EN MUJERES CON AMENAZA DE PARTO PREMATURO, RUPTURA DE SACO AMNIOTICO Y EMBARAZO NORMAL" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis el M. en C. Rodolfo Ramos Z.

C.U.C.B.A.



DIV. DE CS.
BIOLOGICAS Y
AMBIENTALES

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Las Agujas Zapopan, Jal. 27 de Octubre de 1994
EL DIRECTOR

Fernando Alfaro Bustamante
DR. FERNANDO ALFARO BUSTAMANTE

EL SECRETARIO

Guillermo Barba Calvillo
BIOL. GUILLERMO BARBA CALVILLO

c.c.p.- El M. en C. Rodolfo Ramos Z., Director de Tesis.-pte.

c.c.p.- El expediente del alumno

FAB/GBC/cglr.

C. Alfonso Islas Rodríguez
Director de la Facultad de Ciencias Biológicas
de la Universidad de Guadalajara.

P R E S E N T E

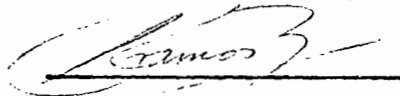
Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de tesis que realizó el (la) Pasante Ma. Teresa Palma Ramirez código número 085479199 con el título Determinación de anticuerpos contra Chlamydia trachomatis en mujeres con amenaza de parto prematuro, ruptura de saco amniótico y embarazo normal. consideramos que reúne los méritos necesarios para la impresión de la misma y la realización de los exámenes profesionales respectivos.

Comunicamos lo anterior para los fines a que haya lugar.

A T E N T A M E N T E

Guadalajara, Jal. a 04 de septiembre 1995

EL DIRECTOR DE TESIS



SINODALES

1. M en C Arturo Orozco Barocio
2. Q.F.B. Adolfo Cárdena Ortega
3. Dr. Hugo Castañeda Vazquez



firma

firma

firma

28/Agosto/95