

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANALISIS

DISERTACION PREVIA A LA OBTENCION DEL TITULO DE
LICENCIADA EN HISTOCITOLOGIA

**TAMIZAJE DE *Chlamydia trachomatis* MEDIANTE TÉCNICAS
MOLECULARES Y CITOLOGICAS EN MUJERES EN EDAD FÉRTIL
DEL ÁREA URBANA DE LA CIUDAD DE IBARRA, AÑO 2009.**

ANDREA CAROLINA MONTALVO CALISTO

DIRECTORA: DRA. LENIS ORTIZ GOMEZ

QUITO, 2010

DEDICATORIA

A mi hija Milena por ser el motor de mi vida y mi fuerza para salir cada día adelante

A mis padres, hermano y abuelitos por su amor y apoyo incondicional y su buen ejemplo.

AGRADECIMIENTO

Al personal docente y administrativo de la Escuela de Bioanálisis y a todas aquellas personas cuya valiosa colaboración hizo posible el desarrollo de la presente tesis de grado.

Andrea Montalvo Calisto.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	II
INDICE DE CONTENIDOS	III
LISTA DE TABLAS	VI
LISTA DE GRÁFICOS	VII
LISTA DE ANEXOS	VIII
RESUMEN.....	IX
ABSTRACT	X
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
3. MARCO TEÓRICO	2
3.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	2
3.2. Ciclo de vida de <i>Chlamydia trachomatis</i>	3
3.3. Genoma de <i>Chlamydia trachomatis</i>	4
3.4. Factores de virulencia.....	5
3.5. Patogénesis.....	5
3.6. Prevalencia de la infección por <i>Chlamydia trachomatis</i>	6
3.7. Diagnóstico por laboratorio	6
3.7.1. Citología Vaginal.....	7
3.7.2. Pruebas inmunológicas	7
3.7.3. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).....	8
4. JUSTIFICACIÓN.....	9
5. OBJETIVOS	10
5.1. Objetivo General.....	10
5.2. Objetivos Específicos	10
6. DEFINICIÓN DE VARIABLES	10
6.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	11
6.2. Citología vaginal	11
6.3. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.....	11
7. METODOLOGÍA.....	11
7.1. Sujetos, materiales y métodos.....	11

7.1.1.	Diseño de la investigación.....	11
7.1.2.	Área de estudio.....	11
7.2.	Universo, población y muestra.....	12
7.2.1.	Población de estudio.....	12
7.2.2.	Criterios de inclusión.....	12
7.2.3.	Criterios de exclusión.....	12
7.3.	Cálculo de la muestra.....	12
8.	PROCEDIMIENTOS.....	12
8.1.	Toma de muestras.....	12
8.1.1.	Recolección, transporte y almacenamiento de muestras vaginales y cervicales para <i>Chlamydia trachomatis</i>	13
8.1.1.1.	Toma de muestra Cérvico vaginal.....	13
8.1.1.2.	Transporte y conservación de las muestras.....	13
8.2.	Técnicas.....	14
8.2.1.	Protocolos moleculares.....	14
8.2.1.1.	Extracción de DNA con High Pure PCR Template Preparation Kit ROCHE.....	14
8.2.1.2.	Cuantificación de DNA con el Espectrofotómetro.....	14
8.2.1.3.	Control de Extracción de DNA (B – Globina).....	15
8.2.1.4.	Amplificación de DNA de <i>Chlamydia trachomatis</i> por PCR en tiempo real (qPCR).....	15
9.	ESTANDARIZACIÓN.....	16
10.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	16
11.	NORMAS ÉTICAS.....	16
12.	RECURSOS.....	17
12.1.	Recursos humanos.....	17
12.2.	Recursos materiales.....	17
12.2.1.	Citología vaginal.....	17
12.2.2.	PCR en tiempo real (qPCR).....	17
12.3.	Recursos financieros.....	18
13.	RESULTADOS.....	19
13.1.	Descripción de la población.....	19
13.2.	Descripción de la citología.....	21
13.3.	Descripción de los resultados obtenidos en la qPCR. Frecuencia de	

<i>Chlamydia trachomatis</i>	24
13.4. Relación de la citología vaginal y qPCR para <i>Chlamydia trachomatis</i>	25
13.5. Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo y Valor predictivo negativo para <i>Chlamydia trachomatis</i>	26
14. DISCUSIÓN	28
15. CONCLUSIONES	30
16. RECOMENDACIONES	31
17. BIBLIOGRAFÍA	32
18. GRÁFICOS	35
19. ANEXOS	38

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Histograma de edad de las pacientes de la ciudad de Ibarra	19
Tabla 2. Antecedentes ginecológicos previos de las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	19
Tabla 3. Antecedentes ginecológicos previos de las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	20
Tabla 4. Manifestaciones clínicas de las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	20
Tabla 5. Signos físicos, cambios cervicales y vaginales encontrados en el momento de la toma de las muestras en las pacientes de la ciudad de Ibarra	21
Tabla 6. Información clínica de la pareja sexual de las pacientes de la ciudad de Ibarra .	21
Tabla 7. Resultados citológicos de las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	22
Tabla 8. Resultados de la citología vaginal por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	22
Tabla 9. Parámetros valorados en la citología vaginal de las muestras obtenidas de las pacientes de la ciudad de Ibarra	23
Tabla 10. Microorganismos presentes diagnosticados a través de la citología vaginal en las muestras de las pacientes de la ciudad de Ibarra.....	24
Tabla 11. Frecuencia de <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT) mediante PCR en tiempo real (qPCR) por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra	24
Tabla 12. Relación entre la citología vaginal y PCR en tiempo real (qPCR) para <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT) por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra	25
Tabla 13. Relación entre la sintomatología y PCR en tiempo real (qPCR) para <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT) en las pacientes de la ciudad de Ibarra	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Gel de electroforesis (Control de extracción B - Globina)	35
Gráfico 2. Curvas positivas para <i>Chlamydia trachomatis</i> por qPCR.....	36
Gráfico 3. Citología Vaginal	37

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado	38
Anexo 2. Formulario de factores de riesgo.....	40
Anexo 3. Nomenclaturas utilizadas en el país para el reporte citológico	41
Anexo 4. Hoja de control de temperatura.....	42
Anexo 5. Hoja de resultados	43
Anexo 6. Formato de resultados citológicos y qPCR.....	44

RESUMEN

Introducción: *Chlamydia trachomatis* es la causa más frecuente de infecciones de transmisión sexual y enfermedad pélvica inflamatoria. Aproximadamente la mitad de los casos cursan en forma asintomática lo que dificulta su detección clínica temprana y aumenta la probabilidad de secuelas a largo plazo.

Objetivo: Demostrar si las pruebas de diagnóstico citológico permiten obtener resultados reproducibles con el fin de considerarlas efectivas para el tamizaje de infección por *Chlamydia trachomatis* frente a la PCR en tiempo real

Material y métodos: Fueron estudiadas 152 pacientes de la ciudad de Ibarra y se obtuvieron muestras endo y exocervicales. La citología vaginal junto con la PCR en tiempo real fueron utilizadas para la detección de *Chlamydia trachomatis*.

Resultados: Fueron positivas para *Chlamydia trachomatis* 31 muestras (20,4%) por PCR en tiempo real. La prevalencia según la edad fue mayor en el grupo de 15 a 19 años (40%). También se pudo observar que *Gardnerella vaginalis* (7,9%) estuvo presente en un número considerable de citologías vaginales

Conclusión: *Chlamydia trachomatis* es uno de los patógenos de transmisión sexual predominantes en el mundo. Por el momento, la tecnología necesaria para establecer el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* es limitada, imposibilitando que estudios como el presente no puedan ser realizados en forma rutinaria y dificultando la estimación de su verdadera prevalencia.

Palabras clave: *Chlamydia trachomatis*, citología vaginal, PCR en tiempo real (qPCR).

ABSTRACT

Introduction: *Chlamydia trachomatis* is the most frequent cause of sexually transmitted infection and pelvic inflammatory disease. Approximately half of the cases present as asymptomatic, making early clinical detection difficult and increasing the probability of long-term sequelae.

Objective Show whether cytological diagnostic test allow to obtain reproducible results to consider effective for screening of *Chlamydia trachomatis* in front of the real-time PCR.

Material and methods: 152 patients were studied in the city of Ibarra and endo and ectocervical samples were obtained. The vaginal cytology along with real-time PCR were used for detection of *Chlamydia trachomatis*.

Results: *Chlamydia trachomatis* were positive for 31 samples (20.4%) by real-time PCR. The prevalence by age group was higher in the group of 15 to 19 years (40%). It was also noted that *Gardnerella vaginalis* (7.9%) was present in a considerable number of Pap smears.

Conclusion: *Chlamydia trachomatis* is one of the most prevalent sexually transmitted pathogens in the world. For now, the technology needed for diagnosis of *Chlamydia trachomatis* is limited; making it impossible that studies like this cannot be performed routinely and difficult to estimate its true prevalence.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, vaginal cytology, real-time PCR (qPCR).

1. INTRODUCCIÓN

Chlamydia trachomatis es una bacteria Gram negativa intracelular obligada que fue identificada, hace aproximadamente 40 años, como un patógeno exclusivamente humano. (Larkin M.-1998)

La infección por *Chlamydia trachomatis* es un problema de salud pública; de acuerdo con la literatura en los países de primer mundo como Estados Unidos, este patógeno es considerado la causa más frecuente de infecciones de transmisión sexual, mientras que en nuestro país e inclusive en América Latina no lo es. En las mujeres, la infección por esta bacteria produce secuelas y complicaciones graves, como enfermedad inflamatoria pélvica, infertilidad entre otras. (Vallejos C. y col.- 2009)

La enfermedad por *Chlamydia trachomatis* se manifiesta entre una y dos semanas después de la infección, tanto en el canal vaginal como en el tracto urinario. Las mujeres afectadas con este agente patógeno son a menudo totalmente asintomáticas (aproximadamente un 51.8%) o pueden presentar ardor al orinar; prurito y escozor vaginal durante el coito, así como la presencia de flujo vaginal amarillento y de mal olor, la infección puede persistir durante meses sin producir signos ni síntomas, lo cual puede retardar el diagnóstico y aumentar el riesgo de secuelas a largo plazo, tales como la infertilidad. (Arráiz N., Ginestre M.-2006) (Vallejos C. y col.- 2009)

Se han identificado diversos factores de riesgo asociados a la historia natural de la infección por *Chlamydia trachomatis*: número de parejas sexuales, edad, nivel socioeconómico, hábitos higiénicos, empleo de anticonceptivos orales y presencia de otras infecciones de transmisión sexual. (Vallejos C. y col.- 2009)

Las infecciones genitales causadas por *Chlamydia trachomatis* son altamente prevalentes. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que en 1995 ocurrieron 89 millones de casos en el mundo y actualmente cada año se descubren 92 millones de casos y se calcula que el costo por morbilidad y secuelas de esta infección es de \$ 2.4 billones por año. (Larkin M.-1998)

En los Estados Unidos a nivel nacional, la tasa anual de detección aumentó de 25,3% en 2000 al 43,6% en 2006 y luego disminuyó ligeramente al 41,6% en 2007. (Medicina Molecular-2007) Muchos casos no se reportan porque la mayoría de las personas con *Chlamydia trachomatis* no saben que tienen la infección y no se hacen pruebas para detectar la enfermedad. Además, es frecuente que se traten los síntomas y no se hagan las pruebas de detección. (Lutwick L.-2009)

La transmisión sexual de *Chlamydia trachomatis* a menudo excede el 20% en mujeres adolescentes. La edad de mayor incidencia de las infecciones genitales por *Chlamydia trachomatis* es hacia el final de la adolescencia y comienzos de la edad adulta. (Carrasco C.-2006)

La prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en América Latina varía de un estudio a otro. Una reciente investigación hecha por Carrasco (Carrasco C.-2006) ha puesto de manifiesto que en América Latina uno de cada tres hombres está infectado con *Chlamydia trachomatis*, de éstos el 14% son adolescentes. (Carrasco C.-2006) (Vallejos C. y col.- 2009)

La naturaleza asintomática y la severidad de las complicaciones de la infección con este microorganismo, así como, sus implicaciones en términos económicos para la salud, hacen esencial el tamizaje si se quiere llevar a cabo el control de la enfermedad y la reducción de las secuelas. Para que este tamizaje sea efectivo es necesario utilizar el método más sensible y específico disponible y el método de muestreo que resulte menos invasivo para lograr una adecuada aceptación en la población objeto.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad los métodos más utilizados para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* son la citología vaginal y las pruebas serológicas, siendo las últimas las más utilizadas en los laboratorios por su bajo costo a pesar de su baja sensibilidad y especificidad en el momento de emitir un diagnóstico.

Tradicionalmente, el cultivo celular se ha considerado el método de elección para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, sin embargo, los requerimientos especiales para el manejo de las muestras, el tiempo consumido para llegar al resultado y su baja sensibilidad han propiciado la introducción de los métodos serológicos. Aunque estos últimos no superan la sensibilidad del cultivo, constituyen una opción más asequible para el diagnóstico.

Actualmente, con la introducción de las técnicas de amplificación del ADN se cuenta con un ensayo relativamente simple y de mayor sensibilidad que el método tradicional. Las pruebas que utilizan la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) no están exentas de desventajas, por ejemplo, su tendencia a brindar resultados falsos positivos por contaminación cruzada y su alto costo; sin embargo, el uso de estos ensayos disminuye los gastos asociados al tratamiento de las secuelas producidas por *Chlamydia trachomatis* y al empleo de tecnologías médicas altamente costosas, como la fertilización *in vitro* y la cirugía ginecológica de mínimo acceso. (Benvenuto L.-2007)

Con esta investigación se pretende realizar una correlación entre citología vaginal y PCR en tiempo real para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la ciudad de Ibarra, con el propósito de responder la siguiente interrogante:

¿Cuál de estos dos métodos (citología vaginal o la PCR en tiempo real) es el mejor para el diagnóstico oportuno de *Chlamydia trachomatis*?

3. MARCO TEORICO

3.1. *Chlamydia trachomatis*

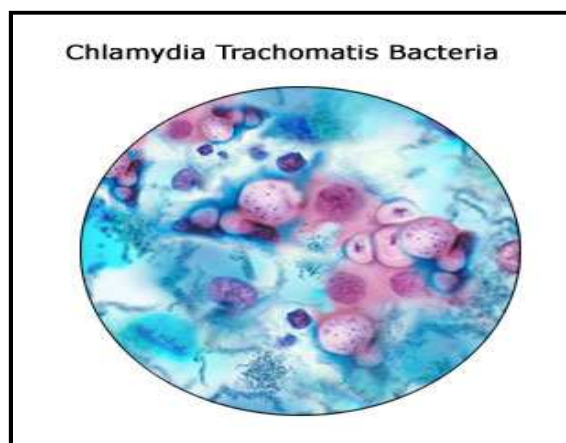
A la infección por *Chlamydia trachomatis* se le conoce como la enfermedad "silenciosa" porque casi tres cuartas partes de las mujeres infectadas y cerca de la mitad de los hombres infectados no presentan síntomas. Cuando se manifiestan, los síntomas aparecen generalmente entre 1 y 3 semanas después del contagio. (Centro para el control y prevención de enfermedades - 2009), (Ostos L., Mérida R.-2003)

Chlamydia es una bacteria Gram negativa, no móvil, de vida parasitaria intracelular obligada, ya que carece de la habilidad para sintetizar ATP. Fue identificada hace aproximadamente 40 años como un patógeno exclusivamente humano. (Larkin M.-1998), (Lutwick L.-2009)

Presentan una morfología esférica u ovalada y se observan como cocos Gram negativos, son inmóviles no ciliadas y poseen una membrana interna y una externa, la que se asemeja a la pared celular de las bacterias Gram negativas. (Anzalone L.-2007), (Carrasco C.-2006)

La membrana de *Chlamydia* muestra dos membranas celulares trilaminares caracterizadas por la ausencia de peptidoglicanos, pero con proteínas de unión a las penicilinas. (Carrasco C.-2006), (Centro para el control y prevención de enfermedades - 2009)

La membrana presenta proteínas extracelulares ricas en cisteína, las cuales están unidas en forma cruzada por puentes disulfuro en los cuerpos elementales para proporcionar una integridad estructural de resistencia frente a situaciones de estrés mecánico y osmótico. Los cuerpos reticulados son frágiles en comparación con los cuerpos elementales. (Larkin M.-1998)



3.2. Ciclo de vida de *Chlamydia trachomatis*

Los cuerpos elementales son estructuras redondeadas diminutas infecciosas, tienen un tamaño de 200 a 400 nm, son rígidas, resistentes a la ruptura como consecuencia de la presencia de puentes disulfuro de las proteínas de la capa externa de la membrana, que se liberan cuando se lisa la célula hospedera infectada. (Ostos L., Mérida R.-2003), (Zapata M., Ahumada F.-1997)

En los cuerpos elementales se encuentra el DNA y RNA. La mayor parte del DNA se encuentra en el nucleoide y la mayor parte del RNA está en los ribosomas. (Ostos L., Mérida R.-2003)

Los cuerpos reticulados son el resultado de la diferenciación de los cuerpos elementales al ser fagocitados, presentan una morfología bacilar, y están desprovistos del nucleoide, su tamaño es de 600 a 1000 nm y no son infecciosos. Se tiñen de azul con el colorante de Giemsa y son capaces de replicarse, presentan actividad metabólica y el ADN está disperso. (Ostos L., Mérida R.-2003)



3.3. Genoma de *Chlamydia trachomatis*

El genoma de un considerable número de Chlamydias ha sido ampliamente estudiado desde el año 1998. (Ostos L., Mérida R.-2003)

Chlamydia trachomatis tiene un genoma bacteriano pequeño comparado con el micoplasma. El genoma cromosómico de Chlamydia tiene 1.042.519 pb. (Ostos L., Mérida R.-2003)

El análisis del genoma Chlamydial ha mostrado que codifica para 875 proteínas aproximadamente, que no son necesariamente expresadas, 70 de las cuales son exclusivas de *Chlamydia trachomatis*. (Ostos L., Mérida R.-2003)

Es importante anotar que en la región cercana al origen de la replicación del cromosoma Chlamydial es donde existe mayor diversidad genética. (Carrasco C.-2006)

3.4. Factores de Virulencia

Chlamydia trachomatis se ha clasificado en 18 serotipos: A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, la J, K, L1, L2, L2a, L3, L3a. Esta clasificación está basada en el análisis de la proteína principal de la membrana externa (MOMP). (Murray P.-2006)

La MOMP contiene cuatro dominios variables (DVs) que son flanqueados e interespaciados por cinco dominios constantes. Tres de los cuatro DV (DV1, DV2 y DV4) se encuentran en la superficie y contienen epítopes antigénicos que son sitios blanco para la serotipificación. Los serotipos D - K están asociados con infecciones del tracto genital. (Murray P.-2006), (Ostos L., Mérida R.-2003)

3.5. Patogénesis

En las mujeres, la bacteria infecta inicialmente el cuello uterino y la uretra (el conducto urinario), siendo esta la manifestación clínica más frecuente de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Las mujeres con síntomas podrían presentar flujo vaginal anormal o una sensación de ardor al orinar. Algunas mujeres siguen sin tener signos ni síntomas aun después de que la infección se propaga del cuello uterino a las trompas de Falopio; otras mujeres presentan dolor en la parte inferior del vientre, dolor de espalda, náusea, fiebre, dolor durante las relaciones sexuales o sangrado entre los períodos menstruales. La infección por *Chlamydia trachomatis* del cuello uterino puede propagarse al recto. (Lutwick L.-2009), (Mahony J., Luinstra K.-1992)

Los hombres con signos o síntomas podrían presentar secreción del pene o una sensación de ardor al orinar; también pueden sufrir de ardor y picazón alrededor de la abertura del pene. El dolor y la inflamación de los testículos es poco frecuente. (Lutwick L.-2009), (Vidal L.-2005)

Los hombres o mujeres que tienen relaciones sexuales con penetración anal pueden contraer la infección por *Chlamydia trachomatis* en el recto, lo cual puede causar dolor, secreciones o sangrado en el recto. (Anzalone L.-2007)

La infección por *Chlamydia trachomatis* también puede presentarse en la garganta de las mujeres y hombres que han tenido relaciones sexuales orales con una pareja infectada. (Topolanski R.-2004.)

Si la infección por *Chlamydia trachomatis* no es tratada, puede avanzar y causar graves problemas a corto y largo plazo. Las consecuencias para las mujeres son muchos más graves que para los hombres, ya que en ellas la bacteria puede propagarse al útero o a las trompas de Falopio y, por consiguiente, causar dolor pélvico crónico, infertilidad o embarazo ectópico; pero no sólo eso, multiplica el riesgo de padecer cáncer en el cuello del útero. (Martínez A.-2001), (Topolanski R.-2004.)

Las complicaciones en los hombres son poco comunes. En ocasiones, la infección se propaga al epidídimo y genera dolor, fiebre y, rara vez, esterilidad. (Martínez A.-2001), (Medscape - 2007)

3.6. Prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis*

La prevalencia de *Chlamydia trachomatis* es muy variada, de acuerdo al grupo estudiado y a la región geográfica revisada. Así, es mayor en jóvenes sexualmente activas menores de 20 años, en ciudades grandes con poblaciones con mayor actividad sexual, en la infertilidad, entre otras. Mientras tanto, se ha constatado su disminución en ciudades que están tomando medidas de prevención, como en los países escandinavos. (Pacheco J.-1999)

3.7. Diagnóstico por laboratorio

Múltiples consideraciones afectan la selección de una prueba de diagnóstico para *Chlamydia trachomatis*. La sensibilidad hace hincapié en reducir al mínimo aparición de falsos-negativos en los análisis, lo que puede dar lugar a complicaciones de la infección sin tratamiento y a una posible transmisión en curso.

Para prevenir la infección por *Chlamydia trachomatis*, se recomienda que las mujeres sexualmente activas se realicen exámenes de detección al menos una vez al año. (Arráiz N., Ginestre M.-2006)

Existen varias pruebas de laboratorio para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, actualmente el método de análisis preferido en virtud de su sensibilidad y especificidad y porque no requieren de la toma de muestras invasoras para su ejecución es la prueba molecular conocida como prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT). Esta prueba se basa en la amplificación del ADN presente en *Chlamydia trachomatis*, y se considera que es el método de referencia, por lo que es actualmente el más utilizado. La ventaja de las pruebas moleculares es que generalmente son más sensibles y específicas que los cultivos convencionales y por lo tanto permiten identificar mayor cantidad de especímenes positivos. (Labtestonline.es - 2002)

Se ha demostrado que las NAAT detectan entre 17 y 28% más infecciones que otros procedimientos de diagnóstico. Existen varias tecnologías comerciales de NAAT, siendo los más conocidos la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) (Labtestonline.es - 2002)

El CDC recomendó en el año 2002 confirmar los ensayos positivos para *Chlamydia trachomatis* si el valor predictivo positivo (VPP) del procedimiento fuera inferior a 90%, con el objeto de evitar resultados falsamente positivos en poblaciones con baja prevalencia de infección. Todas las pruebas que hayan resultado positivas para *Chlamydia trachomatis* deben confirmarse por el mismo método u otro. (CDC - 2002)

Dentro de las pruebas para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* también se encuentra la serología y la citología vaginal que a pesar de tener un valor limitado y una sensibilidad y especificidad bajas son las pruebas que con mayor frecuencia se utilizan debido a su bajo costo y accesibilidad. (Labtestonline.es - 2002)

3.7.1. Citología vaginal (Papanicolaou)

La citología vaginal es una prueba que consiste en la toma de una muestra de las células epiteliales que recubren el cuello de útero para su posterior estudio con microscopio, y así poder observar precozmente cambios en la forma de las células que, tras la aplicación de medidas oportunas, impidan una posible progresión hacia el cáncer. (Díaz G.-2003)

La citología vaginal es una de las ayudas diagnósticas más importantes pues es muy útil, indolora, relativamente rápida, económica y sencilla. (Díaz G.-2003), (Bowden F. et al-2008)

Se utiliza principalmente para el diagnóstico de procesos inflamatorios y como screening o tamizaje para un diagnóstico precoz del cáncer de cérvix (cuello del útero). (Herrera M, Salgueiro V.-2005)

A pesar de que *Chlamydia trachomatis* es una bacteria de difícil diagnóstico citológico, se pueden tomar en cuenta ciertos parámetros que ayuden a considerar una citología sugestiva de *Chlamydia trachomatis* (Mahony J., Luinstra K.-1992)

En la siguiente tabla se detallan los cambios morfológicos en las células que permiten establecer parámetros para considerar a una citología vaginal como positiva. (Montes E y col.-2000)

PARÁMETROS PARA CITOLOGÍA POSITIVA POR INFECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis*

- Citología con más de 10 PMN por campo
 - Células con metaplasia escamosa
 - Vacuolización citoplasmática con presencia de cuerpos reticulares en su interior
 - Núcleos anormales (Agrandamiento, binucleación y multinucleación)
 - Inflamación Severa
-

¹⁵ Montes Elizabeth, López Guillermo, Bazante Vladimir, Sisalima Lorena. Manual de Citología. SOLCA – Núcleo de Quito. Quito 2000

3.7.2. Pruebas Inmunológicas

Durante la década de 1980, el desarrollo de técnicas inmunológicas tuvo un inmenso impacto en el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, incluso mayor que el que se ha producido en los últimos años con el desarrollo de las técnicas moleculares. Esto se explica, porque un mayor número de laboratorios pudo acceder al diagnóstico de este microorganismo. (Ostos O., Mérida R.-2005), (Zapata M., Ahumada F. - 1997)

La inmunofluorescencia directa (IFD) fue el primer tipo de procedimiento en desarrollarse. Existen actualmente en el comercio un gran número de marcas de anticuerpos monoclonales disponibles para el diagnóstico de este patógeno. (Medscape - 2007), (Murray P. - 2007)

Los ensayos de inmunofluorescencia parecen incrementar la sensibilidad, debido a que los antígenos dirigidos a las proteínas de membrana externa de *Chlamydia trachomatis* son detectadas en las células obtenidas del sitio infectado con el empleo de un anticuerpo monoclonal conjugado a un fluorocromo. (Sweet R., Gibbs R. - 2007) Esta técnica presenta una sensibilidad del 75 % en el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*. (Anzalone L.-2007), (Guerra F., López M. - 2004)

Los procedimientos de diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* basados en ELISA aparecieron a fines de los años 80 para constituir actualmente la tecnología que más kits ofrece para el diagnóstico de esta bacteria. (Centro para el Control y Prevención de enfermedades - 2009), (Ostos O., Mérida R.-2005)

La mayoría de los ELISA (EIA) emplea un anticuerpo policlonal anti LPS, por ser la molécula más abundante en su pared. En los ELISA directos, el anticuerpo se une directamente a los corpúsculos elementales de *Chlamydia trachomatis*. En los ELISA indirectos, un anticuerpo anti LPS preparado en ratón se une a *Chlamydia trachomatis*. Con posterioridad se usa un anticuerpo anti inmunoglobulina de ratón. En cualquiera de los casos, un anticuerpo conjugado a una enzima cambia el color de un sustrato de incoloro a coloreado, fenómeno que es medido en un espectrofotómetro. (Ostos L., Mérida R.-2003), (Ostos O., Mérida R.-2005)

Se ha determinado que la sensibilidad de cada método varía en gran medida, pero aún así ninguna de las dos se considera tan sensible como el cultivo, especialmente cuando se usan muestras de pacientes asintomáticos. (Guerra F., López M. - 2004), (Lutwick L. - 2009)

3.7.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR)

Desde hace algunos años, se han diseñado sondas de ácidos nucleicos para pruebas de amplificación como la Reacción en Cadena de la Ligasa (LCR) y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Actualmente, esta última, constituye una de las técnicas más sensibles para el diagnóstico de la infección por *Chlamydia trachomatis* y se considera que su sensibilidad es superior a las técnicas de cultivos celulares. (Arráiz N., Ginestre M.-2006), (Ostos O., Mérida R.-2005)

El proceso de evaluación de estas pruebas no siempre se ha hecho de una forma científicamente rigurosa. Pese a todo, se recomiendan que estas técnicas se realicen en base a diversos estudios multicéntricos realizados a nivel mundial, como las más sensibles y específicas tanto para estudios de cribado poblacional, sea cual sea la prevalencia, como para diagnóstico de pacientes sintomáticos. (Benvenuto L.-2007), (Martínez A.-2001)

La clave en la Reacción en Cadena de la Polimerasa cuantitativa es la posibilidad de detectar en tiempo real la amplificación de nuestro genoma de interés. Para llevar a cabo esta detección existen varios métodos pero casi todos basados en la utilización de otro fragmento de ADN (sonda) complementario a una parte intermedia del ADN que queremos amplificar. (Mahony J., Luinstra K.-1992), (Ostos O., Mérida R.-2005)

Se ha reportado una especificidad de 100 % y una alta sensibilidad ≥ 95 % para los ensayos de amplificación de ADN, pudiendo detectar genes de *Chlamydia trachomatis* en muestras con escasos cuerpos de inclusión. (Medicina Molecular-2007)

Además, las técnicas de amplificación detectan secuencias de ADN específicas de *Chlamydia trachomatis*, sin necesidad de que el microorganismo estudiado se encuentre intacto, superando algunas limitaciones de los cultivos celulares, relacionadas con el transporte y la manipulación de las muestras. (Benvenuto L.-2007), (Mahony J., Luinstra K.-1992)

Debido a la elevada sensibilidad de la técnica, uno de los puntos más importantes a la hora de realizar una Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR), es la calidad del material de partida. Por ello, la extracción de los ácidos nucleicos de la muestra toma un papel crítico y fundamental. (Mahony J., Luinstra K.-1992)

El CDC de Atlanta recomienda que todas las mujeres sexualmente activas de 25 años de edad o menos y las mujeres de más edad con factores de riesgo de infecciones por *Chlamydia trachomatis* (quienes tienen una nueva pareja sexual o múltiples parejas sexuales), así como todas las mujeres embarazadas se hagan anualmente pruebas para detectar esta enfermedad. El médico debería siempre hacer una evaluación de riesgos de enfermedades sexuales, la cual podría indicar la necesidad de realizar pruebas de detección con mayor frecuencia en ciertas mujeres. (Centro para el control y prevención de enfermedades - 2009)

4. JUSTIFICACIÓN

Chlamydia trachomatis es uno de los patógenos comúnmente reportados como causante de infecciones del tracto genital femenino y es quizá el agente más frecuente de las infecciones adquiridas por contacto sexual. (Pacheco J.-1999)

La presencia de infección endocervical durante la vida sexual activa y la etapa reproductiva, representa un alto riesgo de contagio potencial para la pareja sexual, así como una variedad de infecciones en la misma persona, como cervicitis mucopurulenta, salpingitis, endometritis, vulvovaginitis, infecciones intercurrentes durante el parto que pueden extenderse al recién nacido o bien ser causa de secuelas que propician esterilidad, embarazo extrauterino o enfermedad pélvica inflamatoria. (Arráiz N., Ginestre M.-2006), (Sweet R., Gibbs R.-2007)

La naturaleza asintomática de la infección por *Chlamydia trachomatis* y la severidad de las complicaciones de la infección con este microorganismo, así como, sus implicaciones en términos económicos para la salud, hacen esencial el tamizaje si se quiere llevar a cabo el control de la enfermedad y la reducción de las secuelas. (Ostos O., Mérida R.-2005)

Para que este tamizaje sea efectivo es necesario utilizar el método más sensible y específico disponible y la técnica de muestreo que resulte menos invasivo para lograr una adecuada aceptación en la población a ser estudiada. (Ostos O., Mérida R.-2005)

Por esta razón es que mediante pruebas de laboratorio accesibles y de bajo costo como son la citología vaginal se logra obtener un diagnóstico rápido y un tratamiento adecuado y oportuno. Por otro lado existen pruebas moleculares, las cuales son más sensibles y específicas como la Reacción en Cadena de la Polimerasa en tiempo real (qPCR) que permiten confirmar el diagnóstico obtenido por la citología vaginal.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General

- Demostrar si las pruebas de diagnóstico citológico permiten obtener resultados reproducibles con el fin de considerarlas efectivas para el tamizaje de infección por *Chlamydia trachomatis* frente a la PCR en tiempo real

5.2. Objetivos Específicos

- Obtener la sensibilidad y especificidad de la citología vaginal frente al PCR en tiempo real para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*.
- Determinar si la citología vaginal, permite obtener resultados fiables para el tamizaje de *Chlamydia trachomatis* frente a la PCR en tiempo real

6. DEFINICIÓN DE VARIABLES

6.1. *Chlamydia trachomatis*

Es una bacteria intracelular obligatoria, inmóvil, incapaz de desarrollar su metabolismo con producción de energía por lo que depende de la célula como huésped intermediario y de su ATP. (Martínez A. - 2001)

6.2. Citología Vaginal

También conocida como prueba de Papanicolaou. Se realiza para diagnosticar el cáncer cérvico uterino, conocer el estado hormonal, e identificar alteraciones inflamatorias a través de las células descamadas. ^(Díaz G. - 2003)

6.3. Reacción en Cadena de la Polimerasa en Tiempo Real (qPCR)

Es un tipo de PCR cuantitativo que mide la cantidad de DNA o de mRNA en una muestra, de una población de células (cultivo del tejido o de célula) en tiempo real, mediante el uso de sondas marcadas con fluorocromos. Las sondas frecuentemente empleadas en esta técnica, son oligonucleótidos que presentan fluorocromos en ambos extremos y tienen una secuencia complementaria a parte del fragmento de ADN que se quiere amplificar. ^(Medicina Molecular - 2007)

7. METODOLOGÍA

7.1. Sujetos, materiales y métodos

7.1.1. Diseño de la Investigación

Se realizó un estudio transversal, observacional para medir la frecuencia de *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la ciudad de Ibarra mediante la correlación de dos parámetros citología vaginal y PCR en tiempo real.

7.1.2. Área de Estudio

La investigación se llevó a cabo en el centro de salud CEMOPLAF de la ciudad de Ibarra, en mujeres en edad fértil que presentaban o no sintomatología sugestiva de *Chlamydia trachomatis*. Las muestras recolectadas fueron transportadas al laboratorio DISerLAB-PUCE de la ciudad de Quito (Laboratorio de la Escuela de Bioanálisis de la PUCE), donde se realizó el estudio citológico y molecular.

7.2. Universo, población y muestra

7.2.1. Población de Estudio

La investigación se realizó en la ciudad de Ibarra, en 152 mujeres en edad fértil que presentaban o no sintomatología sugestiva de *Chlamydia trachomatis*, previa la autorización por medio del consentimiento informado.

7.2.2. Criterios de Inclusión

- Mujeres en edad fértil
- Pacientes que acepten participar en el estudio
- Número de parejas sexuales

7.2.3. Criterios de Exclusión

- Mujeres embarazadas
- Tratamiento local o sistémico con antibióticos.
- Sangrado genital

7.3. Cálculo de la Muestra

Según los diferentes artículos revisados, se estimó una prevalencia (P) del 17%, equivalente a la más alta encontrada en la literatura, el cálculo se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$N = 4Z\alpha^2 P (1-P) \div W^2$$

$$N = 4 \times (1,64)^2 \times 0,17 \times (1 - 0,17) \div (0,10)^2$$

$$N = 152$$

8. PROCEDIMIENTOS

8.1. Toma de muestras

A cada mujer que ingresó en el estudio se le realizó un cuestionario estandarizado y validado; y se le pidió que firme un consentimiento informado (Anexo 1,2), luego de lo cual se procedió a tomar una muestra cervical para la investigación de *Chlamydia trachomatis*, la toma la realizó el ginecólogo o personal encargado en el Centro de Salud CEMOPLAF de la ciudad de Ibarra. Las técnicas a utilizar durante el estudio propuesto se describen a continuación.

8.1.1. Recolección, transporte y almacenamiento de muestras vaginales y cervicales para Chlamydia trachomatis

8.1.1.1. Toma de Muestra Cérvico Vaginal

1. La paciente se coloca en posición ginecológica, procurando que esté relajada.
2. Se separan con una mano los labios vulvares y se introduce el espéculo con la otra, en sentido longitudinal a la vulva.
3. Se rota el espéculo 90°.
4. Un vez introducido se abre hasta la completa visualización del cérvix, y se fija el espéculo. Se realizan 3 tomas:
5. La primera muestra es del endocérvix, con una gasa estéril se retira el moco del exocérvix, luego se procede a tomar la muestra con un hisopo. El hisopo se inserta en el endocérvix hasta que la punta no sea visible. El hisopo debe ser rotado en este sitio por 3 a 5 segundos y retirado sin tocar las paredes de la vagina. Por último se coloca el hisopo en el medio de transporte Remel M4RT, el cual va a servir para el análisis molecular.
6. La segunda muestra es del exocérvix, girando la espátula, en su parte lobulada, alrededor del cérvix, extendiendo la muestra en la parte superior del portaobjetos.
7. La tercera toma es del endocérvix, esta se realiza con el cepillo endocervical, una vez introducido en el orificio cervical, y extendemos la muestra en la parte inferior del portaobjetos.
8. Después se procede a la fijación de la placa portaobjetos con spray, y se identifica correctamente la muestra

8.1.1.2. Transporte y Conservación de las Muestras

Los hisopados cervicales recolectados fueron transportados en un *cooler* a 4° C al Laboratorio de Biología Molecular de la Escuela de Bioanálisis (PUCE). En el caso de las muestras de Papanicolaou, fueron correctamente identificadas y fijadas para evitar el deterioro de las células hasta su llegada al laboratorio para su procesamiento y análisis.

a) Muestras de Citología Vaginal: las muestras estuvieron en un ambiente seco y se las fijó bien para evitar el deterioro celular. Las placas citológicas fueron transportadas en porta placas.

b) Muestras para Análisis Molecular: las muestras se conservaron a -20° C en el congelador, la temperatura del congelador está controlada por una hoja de control de temperatura. (Anexo 4)

8.2. Técnicas

8.2.1. Protocolos Moleculares

8.2.1.1. Extracción de DNA con High Pure PCR Template Preparation Kit ROCHE.

1. Descongelar la muestra cervical que se encuentra en el medio de transporte Remel M4RT. Una vez descongelada mezclarla bien con el vórtex.
2. En un tubo eppendorf nuevo adicionar 200 μ l de la muestra, 40 μ l de proteinasa K reconstituida y 200 μ l de buffer de unión (binding buffer), mezcle inmediatamente e incube por 10 minutos a 70° C.
3. Adicione 100 μ l. de etanol al 100% y mezcle bien.
4. Coloque un tubo con filtro en un tubo de colección y pipetee la muestra en la parte superior del tubo con filtro.
5. Inserte el tubo con filtro y el tubo de colección en una centrifuga y centrifugue la muestra por 1 minuto a 8000 x g.
6. Remueva el tubo con el filtro del tubo de colección, descarte el sobrenadante y el tubo de colección.
7. Coloque otro tubo de colección en el tubo con el filtro. Añada 500 μ l del buffer inhibidor (inhibitor removal buffer) en la parte superior del tubo con el filtro.
8. Centrifugar por 1 minuto a 8000 x g.
9. Remover el tubo con el filtro del tubo de colección y descarte el sobrenadante y el tubo de colección.
10. Coloque un nuevo tubo de colección en el tubo con el filtro. Adicione 500 μ l del buffer de lavado a la parte superior del tubo con el filtro.
11. Centrifugar por 1 minuto a 8000 x g y descarte el sobrenadante.
12. Añada 500 μ l de buffer de lavado a la parte superior del tubo con el filtro. Centrifugar por 1 minuto a 8000 x g y descarte el sobrenadante.
13. Centrifugue el tubo con el filtro y el tubo de colección por 10 segundos a máxima velocidad. Descarte el tubo de colección. Este paso asegura que se remueva todo el buffer de lavado.
14. Inserte el tubo con el filtro en un tubo eppendorf estéril y añada a la parte superior del tubo con el filtro 200 μ l de buffer de elución precalentado en el paso 1.
15. Centrifugar por 1 minuto a 8000 x g.
16. Guarde el tubo eppendorf que ahora contiene el ADN a -20° C para futuros análisis.

8.2.1.2. Cuantificación de DNA con el Espectrofotómetro

1. Preparar 2 tubos con 3 ml de agua grado biología molecular y adicionar al primero 5 μ l de agua y el segundo adicionar 5 μ l de la muestra de ADN.
2. Colocar en el espectrofotómetro y leer a 260 y 280nm. Una unidad a A260 es igual a 50ng de ADN por ml de muestra.

3. Con los valores observados de las absorbencias realizar una relación entre el valor obtenido a 260 y 280nm.
4. Para saber la calidad de ADN se debe dividir el valor obtenido a 260nm para el valor obtenido a 280nm, el valor que resulta esta división denota la calidad del ADN. Un valor de 1.5 es considerado de muy buena calidad.
5. Para saber la concentración de ADN que tiene la muestra estudiada se utiliza la siguiente fórmula:

$$N (\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}) = 70A_{260} - 40A_{280} \text{ (Surzycky, 2000)}$$

8.2.1.3. Control de Extracción de DNA (B - Globina)

1. En un tubo eppendorf de 1.5ml adicione:

Reactivo	Concentración inicial	Vol. 1X (μl)	Concentración final	Vol. X
GoTaq® Green Master Mix	Taq, 3mM MgCl ₂ , 400μM dNTPs c/u	12.5	1U Taq, 1.5Mm MgCl ₂ , 200μM dNTPs c/u	
Primer 1	10μM	1		
Primer 2	10μM	1		
Agua BM		5.5		
ADN		5		
		Vol. final 25μl		

2. Si va a realizar más de una reacción prepare una mix primero sin colocar el ADN. Después reparta la mix en cada tubo de 0.2ml. Adicione el ADN a cada tubo de 0.2ml.
3. Cargue las muestras en el termociclador y corra el programa. Una vez terminado el programa en el termociclador coloque las muestras a -20°C hasta su posterior análisis.

8.2.1.4. Amplificación de DNA de *Chlamydia trachomatis* por PCR en tiempo real (qPCR)

1. Reconstituir el vial de tapa verde (reagent) y tapa blanca (IC) con 66 ul. de agua grado biología molecular y mezclar por pipeteo.
2. Centrifugar para que baje toda solución a máxima velocidad por 30 segundos.
3. Tomar 1 vial de reaction mix (vial 1b)
4. Centrifugar rápidamente la "enzima" (vial1a)
5. Pipetear 10 ul. del vial 1a dentro del vial 1b
6. Mezclar por pipeteo "**NO VORTEX**"
7. Re-etiquetar el vial 1b (tapa roja) con etiqueta de "Master mix"
8. Dependiendo del número de reacciones colocar los capilares en el pre-congelado adaptador.

9. Pipetear.
10. En un tubo de 1,5 ml. preparar PCR mix por 20ul. y añadir los componentes en el siguiente orden:

Agua grado biología molecular	3 ul.
Reagent Mix	4 ul.
IC Mix	4 ul.
Master mix	4 ul.
DNA	5 ul.
Volumen total	20 ul.

11. Tapar los capilares y colocarlos en la centrífuga a 1200 rpm por 30 segundos.
12. Llevar los capilares al Light Cyler y correr el programa

9. ESTANDARIZACIÓN

Para la estandarización de la técnica de PCR en tiempo real (qPCR) se realizó una curva estándar con LightMix Kit *Chlamydia trachomatis*. El kit contiene 6 diferentes concentraciones desde 10^1 a 10^6 . Se empieza con el estándar de menor concentración, para esto se añade a cada estándar 40 ul. de agua grado biología molecular y se mezcla diez veces por pipeteo. Posteriormente se llevaron las muestras al LightCycler y se ingresaron los datos respectivos del programa y se procedió a correr las muestras.

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron registrados en formularios en hoja de Excel (Anexo No.2). Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 17.0 para calcular la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos de la Citología vaginal frente a la Reacción en Cadena de la polimerasa en Tiempo Real (qPCR), considerada prueba de referencia, mediante la tabla de doble entrada (Gómez de la Cámara, 2004)

11. NORMAS ÉTICAS

Previo al inicio del estudio, se realizó un consentimiento informado el cual fue firmado por las pacientes que aceptaron formar parte de la investigación y para permitir la toma de muestras endocervicales. (Anexo No 1)

Cada paciente participante del estudio tuvo conocimiento del resultado de laboratorio para su adecuado tratamiento posterior, tanto para ellas como para sus respectivas parejas.

12. RECURSOS

12.1. Recursos Humanos

- **Doctores de CEMOPLAF:** Dra. Margoth Riofrío
- **Personal de los laboratorios:** Ing. Cecilia Cruz
- **Personal encargado del transporte de las muestras:** Dr. Vladimir Bazante
- **Personal encargado del procesamiento y diagnóstico de las muestras:** Andrea Montalvo, Dra. Lenis Ortiz
- **Personal encargado del control de calidad de Citologías Vaginales:** Lcda. María Gabriela Albuja

12.2. Recursos Materiales

12.2.1. Citología Vaginal

- Guantes
- Cepillos
- Espéculos
- Espátula de madera
- Placas portaobjetos
- Colorantes para tinción de Papanicolaou
- Cubreobjetos
- Fijador

12.2.2. PCR en tiempo real (qPCR)

- Kit *Chlamydia trachomatis*
- Capilares de 20 ul.
- Guantes sin talco
- Hisopos
- Medio de conservación Remel M4RT
- Puntas con filtro
- Kit remel M4RT

12.3. Recursos Financieros

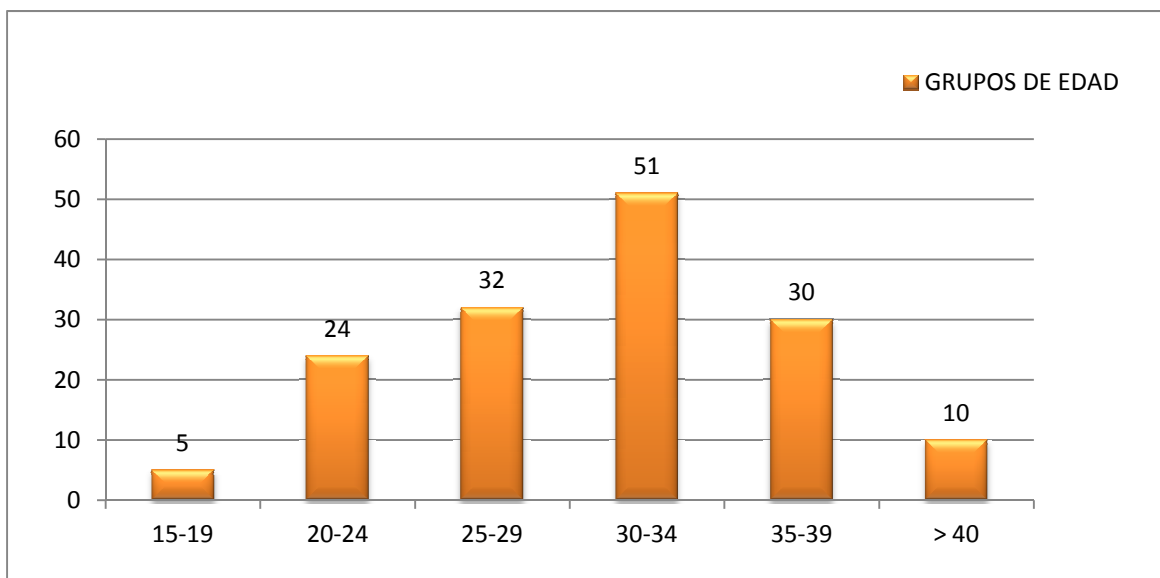
Cantidad de equipos/ Reactivos	Material	Precio Unitario	Precio Total	Uso
BIOLOGÍA MOLECULAR				
2	LightCycler FastStart DNA Master plus hyb. Probes	340	680	qPCR
2	LightCycler kit Chlamydia trachomatis	780	1560	qPCR
2	Hight Pure PCR template prep kit	320	640	qPCR
2	Kit remel M4RT (FEM)	200	400	qPCR
1	Capilares de 20 ul (la caja de 5 cajas de 96 capilares)	446	446	qPCR
2	Cajas de guantes sin talco	18	36	qPCR
2	Caja de puntas con filtro (10 cajas de puntas)	75	150	qPCR
1	Funda de hisopos			qPCR
CITOLOGÍA				
1	Tinción de Hematoxilina 1 litro	22	22	Citología
1	Tinción EA50 1 litro Merck	26	26	Citología
1	Tinción OG6 1 litro Merck	26	26	Citología
1	Metanol 25 litros	106	106	Citología
1	Etanol absoluto 25 litros	208	208	Citología
1	Medio de montaje Citoseal Stephens x 125ml	22	22	Citología
3	Porta objetos 50unds filo esmerilado	1,9	5,7	Citología
2	Cubre objetos 24 x 50 caja x 1 onza	4	8	Citología
EQUIPOS				
2	Cabinas de Bioseguridad DISerLAB-PUCE	Disponibles		qPCR
1	Termobloque DISerLAB-PUCE	Disponible		qPCR
1	Centrífuga DISerLAB-PUCE	Disponible		qPCR
1	Termociclador en tiempo real DISerLAB-PUCE	Disponible		qPCR
1	Microscopio DISerLAB-PUCE	Disponible		Citología
Presupuesto del Proyecto			\$6300	

13. RESULTADOS

13.1. Descripción de la Población

Se estudiaron 152 mujeres de 15 a 42 años con una media de 30.34 años de la ciudad de Ibarra como se detalla en la tabla 1

Tabla 1. Histograma de edad de las pacientes de la ciudad de Ibarra



Los resultados obtenidos de la investigación, tomando en cuenta los antecedentes ginecológicos y citológicos previos, se resumen en las tablas 2 y 3

Tabla 2. Antecedentes ginecológicos previos de las pacientes de la ciudad de Ibarra

ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS	MÍNIMO	MÁXIMO	MEDIA +/- SD
Edad de inicio de la vida sexual	12	25	19.31 +/- 3.052
Número de parejas sexuales	1	8	1.51 +/- 0.906

Tabla 3. Antecedentes citológicos previos de las pacientes de la ciudad de Ibarra

ANTECEDENTES CITOLÓGICOS (Resultados de Pap test anteriores)	PORCENTAJES (%)
Normal	23.7 %
Inflamatorio	37.5 %
Inflamación + Infección	4.6 %
Inflamación Moderada	3.3 %
Inflamación Severa	2 %
Displasia Moderada	0.7 %
No Recuerda	28.3 %

Previo a la toma de muestras durante la encuesta realizada, un alto porcentaje de las pacientes refirió tener secreción vaginal y dolor abdominal bajo. Estos datos se pueden observar a continuación en la tabla 4.

Tabla 4. Manifestaciones clínicas de las pacientes de la ciudad de Ibarra

MANIFESTACIONES CLÍNICAS	PORCENTAJES (%)
Secreción Vaginal	96.1 %
Prurito	53.3 %
Secreción con presencia de mal olor	54.6 %
Ardor	44.1 %
Ardor al orinar/Disuria	36.2 %
Dolor abdominal bajo	65.1 %

Se observó durante el momento de la toma que la mayoría de pacientes presentaban laceraciones en la mucosa vaginal además de algún tipo de secreción ya sea blanquecina o purulenta; estos datos se presentan a continuación en la Tabla No. 5

Tabla 5. Signos físicos, cambios cervicales y vaginales encontrados en el momento de la toma de las muestras en las pacientes de la ciudad de Ibarra

SIGNOS FISICOS	PORCENTAJES (%)
Temperatura mayor a 37.5 °C	5.2 %
CAMBIOS CERVICALES	PORCENTAJES (%)
Laceraciones	53.9 %
Quistes de Naboth	32.2 %
CAMBIOS VAGINALES	PORCENTAJES (%)
Secreción purulenta	43.4 %
Secreción blanquecina	55.9 %
Mal olor	52 %

De acuerdo con la encuesta realizada a las pacientes de la ciudad de Ibarra, se pudo encontrar que la mayoría de sus parejas sexuales habían presentado secreción uretral y disuria. (Tabla 6)

Tabla 6. Información clínica de la pareja sexual de las pacientes de la ciudad de Ibarra

INFORMACIÓN CLÍNICA	PORCENTAJES (%)
Secreción uretral	14.5 %
Disuria	9.9 %
Úlceras o llagas en los genitales	9.2 %
Presencia de ITS	2 %

13.2. Descripción de la Citología

En la tabla 7, 8, 9 y 10 se sintetizan los parámetros citológicos establecidos para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* en las pacientes de la ciudad de Ibarra.

Tabla 7. Resultados citológicos de las pacientes de la ciudad de Ibarra

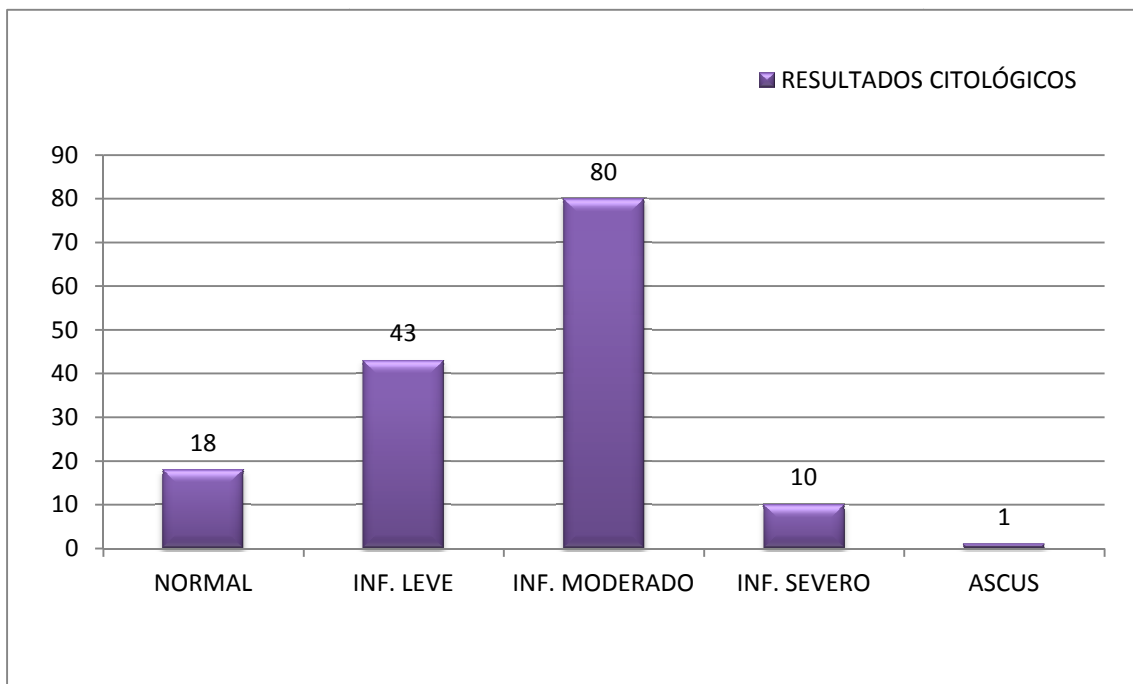


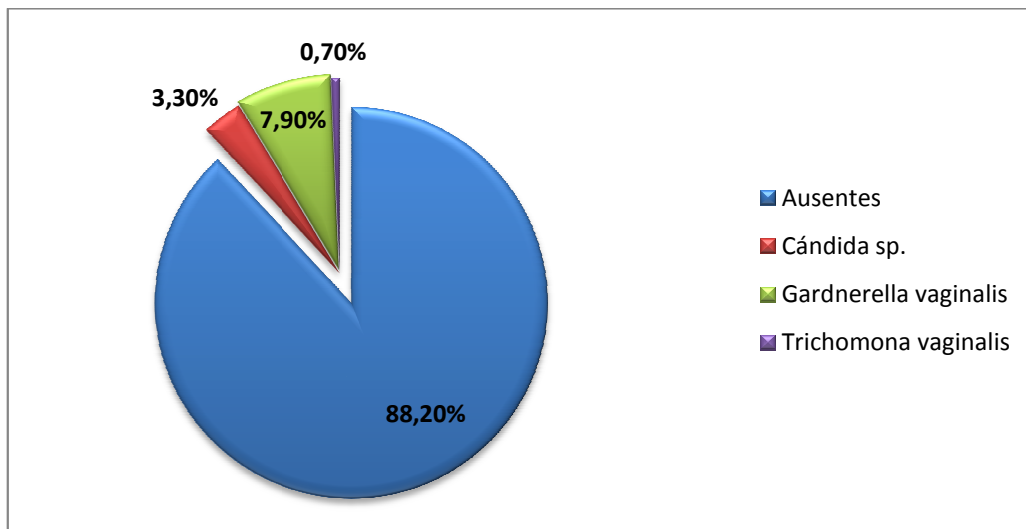
Tabla 8. Resultado de la Citología vaginal por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra

GRUPOS DE EDAD	NORMAL % (Casos)	INF. LEVE % (Casos)	INF. MODERADO % (Casos)	INF. SEVERO % (Casos)	ASCUS % (Casos)
15 a 19	0 (0/5)	20 (1/5)	60 (3/5)	20 (1/5)	0 (0/5)
20 a 24	12,5 (3/24)	37,5 (9/24)	37,5 (9/24)	12,5 (3/24)	0 (0/24)
25 a 29	15,62 (5/32)	18,75 (6/32)	62,5 (20/32)	3,12 (1/32)	0 (0/32)
30 a 34	7.8 (4/51)	29.4 (15/51)	55 (28/51)	5.8 (3/51)	2 (1/51)
35 a 39	16.6 (5/30)	33.3 (10/30)	43.3 (13/30)	6.6 (2/30)	0 (0/30)
=/> 40	10 (1/10)	20 (2/10)	70 (7/10)	0 (0/10)	0 (0/10)

Tabla 9. Parámetros valorados en la citología vaginal de las muestras obtenidas de las pacientes de la ciudad de Ibarra.

<i>POLIMORFONUCLEARES</i>	<i>PORCENTAJES (%)</i>
Ausentes	0.7 %
+	14.5 %
++	69.7 %
+++	15.1 %
<i>HEMATIES</i>	<i>PORCENTAJES (%)</i>
Ausentes	29.6 %
+	40.8 %
++	23.7 %
+++	5.9 %
<i>CÉLULAS ENDOCERVICALES</i>	<i>PORCENTAJES (%)</i>
Ausentes	13.8 %
Normales	68.4 %
Inflamadas	15.1 %
Reactivas	2.6 %
<i>FLORA BACTERIANA</i>	<i>PORCENTAJES (%)</i>
Bacilar +	32.9 %
Bacilar ++	34.9 %
Bacilar +++	5.9 %
Cocoide +	1.3 %
Cocoide ++	7.9 %
Cocoide +++	0.7 %
Mixta +	3.3 %
Mixta ++	7.9 %
Mixta +++	5.3 %

Tabla 10. Microorganismos presentes diagnosticados a través de la Citología, en las muestras de las pacientes de la ciudad de Ibarra



13.3. Descripción de los resultados obtenidos en la qPCR. Frecuencia de *Chlamydia trachomatis*.

De las 152 muestras obtenidas de las pacientes de la ciudad de Ibarra, mediante técnicas moleculares se obtuvo un 20,4% de muestras positivas para *Chlamydia trachomatis*. En la tabla 11 se resume la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* obtenida por PCR tiempo real en las pacientes de la ciudad de Ibarra.

Tabla 11. Frecuencia de *Chlamydia trachomatis* (CT) mediante PCR en tiempo real (qPCR) por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra

GRUPO DE EDAD	POSITIVO	NÚMERO DE CASOS
15 a 19	40%	2/5
20 a 24	16.6 %	4/24
25 a 29	21.8 %	7/32
30 a 34	19.6 %	10/51
35 a 39	26.6 %	8/30
=/> 40	0 %	0/10

13.4. Relación entre la citología vaginal y PCR en tiempo real (qPCR) para *Chlamydia trachomatis* (CT)

En la tabla 12 se puede observar la relación que existe entre los resultados de la Citología Vaginal y PCR en tiempo real (qPCR) obtenidos de las muestras de las pacientes de la ciudad de Ibarra.

Tabla 12. Relación entre Citología Vaginal y PCR en tiempo real (qPCR) para *Chlamydia trachomatis* (CT) por grupos de edad en las pacientes de la ciudad de Ibarra

GRUPO DE EDAD	POSITIVO para CT	NÚMERO DE CASOS DE CT	CITOLOGÍA SUGESTIVA DE CT	NUMERO DE CASOS DE CT
15 a 19	40%	2/5	20 %	1/5
20 a 24	16.6 %	4/24	8.3 %	2/24
25 a 29	21.8 %	7/32	3.1 %	1/32
30 a 34	19.6 %	10/51	7.8 %	4/51
35 a 39	26.6 %	8/30	0 %	0/30
=/> 40	0 %	0/10	0 %	0/10

En la tabla 13 se puede observar la relación existente entre la sintomatología y los resultados positivos para PCR en tiempo real (qPCR) de las pacientes de la ciudad de Ibarra

Tabla 13. Relación entre la Sintomatología y PCR en tiempo real (qPCR) para *Chlamydia trachomatis* (CT) en las pacientes de la ciudad de Ibarra

SINTOMATOLOGÍA	qPCR POSITIVO (%)
Secreción vaginal	19.1 %
Prurito	13.2 %
Secreción con mal olor	10.5 %
Ardor	17.1 %
Disuria	9.2 %
Dolor abdominal bajo	15.8 %

13.5. Sensibilidad, Especificidad, Valor predictivo positivo (VPP) y Valor predictivo negativo (VPN), mediante el cuadro de la Prueba de Oro para *Chlamydia trachomatis* (CT)

Datos:

- **Positivos:** 7 pacientes (Positivos para Citología y qPCR)
- **Negativos:** 120 pacientes (Negativo para citología y qPCR)
- **Falsos Positivos:** 1 paciente (Positivo para Citología y negativo para qPCR)
- **Falsos Negativos:** 24 pacientes (Negativo para Citología y positivo para qPCR)

Citología Vaginal	qPCR		TOTAL
	Positivo	Negativo	
Positivo	7	1	8
Negativo	24	120	144
TOTAL	31	121	152

13.5.1. Sensibilidad

$$\text{SENSIBILIDAD} = \frac{\text{Positivos}}{\text{Positivos} + \text{Falsos Negativos}} = \frac{7}{7 + 24} = 0.225 * 100$$

SENSIBILIDAD = 22.5 %

13.5.2. Especificidad

$$\text{ESPECIFICIDAD} = \frac{\text{Negativos}}{\text{Falsos Positivos} + \text{Negativos}} = \frac{120}{1 + 120} = 0.991 * 100$$

ESPECIFICIDAD = 99.1 %

13.5.3. Valores predictivos Positivo (VPP)

$$\text{VPP} = \frac{\text{Positivos}}{\text{Positivos} + \text{Falsos Positivos}} = \frac{7}{7 + 1} = 0.875 * 100$$

VPP = 87.5 %

13.5.4. Valor predictivo Negativo (VPN)

$$\text{VPN} = \frac{\text{Negativos}}{\text{Falsos Negativos} + \text{Negativos}} = \frac{120}{24 + 120} = 0.833 * 100$$

VPN = 83.3 %

14. DISCUSIÓN

Desde septiembre del 2009 hasta junio del presente año se estudiaron 152 muestras de mujeres de la ciudad de Ibarra con edades comprendidas entre 15 y 42 años, de las cuales el 88,2% presentaron algún tipo de alteración cervical (Papanicolaou inflamatorio, ASCUS) y el 11,8% restante presentó una citología normal.

La media para la edad mínima de inicio de la vida sexual fue de 19,31 y del número de parejas sexuales fue de 1,51 (rango 1 a 8). Aquí se debe recalcar que comparando estos datos con lo que se ha publicado, no se encontró relación alguna entre el inicio de la vida sexual y la infección producida por *Chlamydia trachomatis*.

En cuanto a las manifestaciones clínicas más relevantes reportadas en estudios realizados anteriormente en Chile en el año 2009, como son flujo vaginal, disuria, dolor abdominal bajo leve y prurito; se pudo observar que de las 152 pacientes un 96,1% de estas presentó flujo vaginal, un 65,1% dolor abdominal bajo leve, un 36,2% disuria y un 53,3% prurito. (FUNCEI - 2004); (Huneus A. y col. - 2009)

Para los cambios cervicales y vaginales, se pudo determinar que un 53,9% de las pacientes presentó laceraciones en el cuello uterino y un 52% de estas manifestó tener secreción con mal olor, lo cual reafirma los resultados presentados en artículos científicos encontrados. (CDC - 2009)

En lo que se refiere a estudios realizados a nivel nacional (Ortiz L., Bazante V, 2010), estos porcentajes tienen una gran relación; siendo el flujo vaginal y el dolor abdominal bajo leve los factores predominantes para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*.

Dentro de la información clínica de las parejas sexuales de las pacientes participantes en el estudio se encontró que un 14,5% manifestó la presencia de secreción uretral, un 9,9% disuria y un 9,2% refirió llagas o úlceras en los genitales; estos datos concuerdan con información bibliográfica existente; es por esta razón que a los dos primeros factores mencionados anteriormente se los podría considerar los más importantes para la detección de *Chlamydia trachomatis* en hombres. (FUNCEI - 2004)

Contrariamente a lo expuesto (Ortiz L., Bazante V, 2010) se puede apreciar que en este caso la disuria y las úlceras o llagas en los genitales alcanzaron los porcentajes más altos respectivamente, seguidos de la secreción uretral.

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante técnicas moleculares como es la PCR en tiempo real (qPCR) y tomando en cuenta los resultados arrojados en un estudio anterior (Ortiz L., Bazante V, 2010) podemos darnos cuenta que en ambos estudios los resultados son similares a pesar de que las poblaciones estudiadas son diferentes; confirmando que las pruebas moleculares son mucho más sensibles y específicas que otras pruebas disponibles para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*; revelando así la verdadera prevalencia de la infección por esta bacteria en el grupo de mujeres estudiadas. (Ortiz L, Bazante V. [Disertación] 2010)

De los resultados citológicos obtenidos, la mayor parte de mujeres (52,6%) presentó una citología con un grado inflamatorio moderado, que según la edad era superior en mujeres mayores a 40 años, también se observó un caso de ASCUS.

Aparte de estos resultados se observó un 69,7% de polimorfonucleares (++) y un 40,8% de hematíes (+). En lo que se refiere a cambios en las células endocervicales se obtuvo un 68,4% de células normales, seguidas de un 15,1% de las mismas que se encontraban inflamadas. Con relación a la flora bacteriana se pudo observar que un 34,9% de las pacientes presentó una flora bacilar (++) y un 7,9% flora cocoide (++) y mixta (++).

Además se pudo observar la presencia de *Cándida sp.* (3,3%), *Gardnerella vaginalis* (7,9%) y *Trichomona vaginalis* (0,7%); asociadas con *Chlamydia trachomatis*. En este punto se debe aclarar que *Gardnerella vaginalis* no es estrictamente transmitida por contacto sexual; ya que muchas veces se la puede adquirir en baños, piscinas, entre otras.

De acuerdo a la edad los resultados de las citologías vaginales tuvieron un mayor porcentaje (70%) en mujeres mayores de 40 años. Estos resultados comparados con los parámetros para citologías sugestivas por infección de *Chlamydia trachomatis*, han sido encontrados como inespecíficos y de bajo poder predictivo de la presencia de *Chlamydia trachomatis*; es por esta razón que la citología vaginal no es un método fiable para la detección de esta bacteria. ^(Pacheco J.-1999)

Se debe tomar en cuenta que los CDC recomiendan que todas las mujeres sexualmente activas menores de 25 años y las mujeres de más edad con factores de riesgo de infecciones clamidiales (nueva pareja sexual o múltiples parejas sexuales), se deben hacer anualmente pruebas para detectar esta enfermedad. ^(CDC - 2009)

Cuando observamos la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* por grupos de edad encontramos que la presencia de esta fue más frecuente en pacientes del grupo de edad de 15 a 19 años; esta prevalencia concuerda con la informada en diferentes artículos científicos. Cabe recalcar que se hizo una relación entre los resultados obtenidos entre la citología vaginal y la PCR en tiempo real por grupos de edad; y se pudo observar que esta relación era mayor y coincidía con el grupo de edad antes mencionado. ^(Pacheco J.-1999)
^(Huneus A. y col. - 2009)

También se debe tomar en cuenta que el número de casos de infección por *Chlamydia trachomatis* en las pacientes con una edad igual o mayor a 30 años son menores ya que a diferencia de las adolescentes y mujeres jóvenes, este grupo de mujeres tienen el epitelio escamocolumnar menos expuesto, siendo menos susceptibles a contraer la infección.

En lo que se refiere a sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivos y negativos, se obtuvo un 22,5%; 99,1%; 87,5% y 83,3% respectivamente. Estos datos están estrechamente relacionados con los de estudios previos, mientras la especificidad fue cercana al 100%, la sensibilidad fue muy baja en el presente estudio, siendo esta la única diferencia con otros estudios. ^(Martínez A. - 2001)

15. CONCLUSIONES

- En este estudio se encontró que factores como la edad, el número de parejas sexuales y antecedentes urogenitales, así como la presencia de secreción vaginal, son indicadores relevantes para la detección de *Chlamydia trachomatis*.
- La prevalencia más alta encontrada para *Chlamydia trachomatis* en el presente estudio se ubicó en el grupo de mujeres de 15 a 19 años de edad.
- A pesar de que la citología vaginal no es un método recomendable para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* por su baja sensibilidad y especificidad; se la utiliza por su bajo costo y accesibilidad. Es por esta razón que para este estudio se contó con parámetros establecidos en estudios previos que ayudaron a determinar citologías sugestivas para *Chlamydia trachomatis*.
- En cuanto a la asociación de *Chlamydia trachomatis* con otros agentes en el presente estudio, se encontró como principal agente asociado a *Gardnerella vaginalis*, que según las literaturas consultadas es el segundo agente más frecuente que se asocia con *Chlamydia trachomatis*. Otras asociaciones que se encontraron fueron *Cándida sp.* y *Trichomona vaginalis*.
- *Chlamydia trachomatis* es uno de los patógenos de transmisión sexual predominantes en el mundo. Por el momento, la tecnología necesaria para establecer el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* es limitada debido a que consume demasiado tiempo, a su elevado costo y a que requiere de equipo y personal especializado, imposibilitando que estudios como el presente no puedan ser realizados en forma rutinaria y dificultando la estimación de su verdadera prevalencia.

16. RECOMENDACIONES

- Se debe enfatizar que la Infección por *Chlamydia trachomatis* es asintomática en una proporción importante de pacientes y constituye un serio problema de salud pública. Es necesario implementar programas de tamizaje para la búsqueda activa de casos, así como una notificación de contactos sexuales, que reduzcan la carga de la enfermedad y las secuelas a largo plazo.
- Se recomienda el uso del condón; ya que si se los utiliza de manera habitual y correcta, ya que puede reducir el riesgo de transmisión de *Chlamydia trachomatis*.
- Se recomienda que las mujeres sexualmente activas de 25 años de edad o menos se realicen una prueba de detección de *Chlamydia trachomatis* al menos una vez al año, para ayudar a prevenir las graves consecuencias que conlleva esta bacteria.
- La prueba de PCR ofrece ventajas por su alta sensibilidad, que a la larga conduce a reducción de costos.
- Este estudio fortalece la propuesta de evaluar mujeres jóvenes, sexualmente activas para detectar infección por *Chlamydia trachomatis*, independientemente de su condición sintomática o asintomática y es recomendable que la evaluación sea adoptada como política de salud pública, para de esta manera evitar las complicaciones en la salud reproductiva de las mujeres afectadas.

17. BIBLIOGRAFÍA

Anzalone Leonardo. Enfermedades de Transmisión Sexual. Internet. www.scribd.com/doc/Cap-31. (2007)

Arráiz R. Nailet, Ginestre P. Messaria. Molecular diagnosis and *Chlamydia trachomatis* infections prevalence in symptomatic and asymptomatic patients of a population of the Zulia State, Venezuela. Internet. www.scielo.cl/scielo. Acceso: (Agosto 2, 2006)

Benvenuto Luca. Diagnóstico de las infecciones por *Chlamydia trachomatis* por amplificación de ácidos nucleicos. Internet. www.deguate.com/salud/. Acceso: (Octubre 22, 2007)

Bowden FJ, Currie MJ, Toyne H, McGuinness C. Screening for *Chlamydia trachomatis* at the time of routine PAP smear in general practice: A cluster randomized controlled trial. *Med J Aust*. 2008

Carrasco V. Cristian. *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.scribd.com/. Acceso (2006)

Centers for Disease Control and Prevention. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* infection- 2002. Internet. www.cdc.gov/. Acceso: (2002)

Centro para el Control y Prevención de enfermedades. *Chlamydia trachomatis*: hoja informativa. Internet. www.cdc.gov/std/. Acceso: (Marzo 23, 2009)

Díaz Gonzalo M. Citología Vaginal. Internet. www.drgdiaz.com/citologiavaginal. (2003)

Guerra Fernando, López Marcela. Seroprevalencia de *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.scielo.br/pdf/. Acceso: (Marzo – Abril, 2004)

Herrera Miguel Angel, Salgueiro Víctor. Sensibilidad y Especificidad de la Citología Vaginal. Pinar del Río. Internet. www.conganat.org/. Acceso: (Año 2005)

Huneus Andrea, Pumarino María, Schilling Andrea. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* en adolescentes chilenas. *Revista médica de Chile*. Internet. www.scielo.cl/scielophp. Acceso: (Diciembre 2009)

KFF- Kaiser Family Foundation. Sexually Transmitted Diseases in America. How many Cases and what Cost? Mela Park, CA. Kaiser Family Foundation and American Social Health Association. 1998.

FUNCEI. Infecciones genitales por *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.funcei.org.ar/. Acceso: (2004)

Lab Tests Online. *Chlamydia*. Internet. www.labtestsonline.es/. Acceso: (2002)

Larkin Marylinn. *Chlamydia trachomatis: Perspectivas clínicas*. Internet. www.latina.obgyn.net/html. Acceso: (Noviembre 11, 1998)

Lutwick Larry I. Genitourinaria de infecciones por *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.ebi.ac.uk/genomes/bacteria/Chlamydia_trachomatis.html. Acceso: (Abril, 2009)

Mahony James, Luinstra Kathleen. Confirmatory Polimerase Chain Reaction Testing for *Chlamydia trachomatis*. Internet. jcm.asm.org/pdf. Acceso: (Septiembre 1992)

Martínez Angélica M. Diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. Internet. www.scielo.cl/scielo. Acceso: (Año 2001)

Medicina Molecular. PCR en tiempo real. Internet. www.medmol.es/tecnica.cfm?id=34. Acceso: (Octubre 9, 2007)

Medscape. Bajas tasas de detección de Chlamydia en las mujeres estadounidenses. Internet. www.medcenter.com/Medscape/. Acceso: (Agosto 2007)

Montes Elizabeth, López Guillermo, Bazante Vladimir, Sisalima Lorena. Manual de Citología. SOLCA – Núcleo de Quito. Quito 2000

Murray P. R. Microbiología Médica. Quinta edición 2006.

Ortiz Lenis, Bazante Vladimir. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Streptococcus agalactiae*, en pacientes gestantes del área urbana de la ciudad de Ibarra, año 2008. [Disertación] Quito: PUCE, 2010

Ostos Ortiz Olga Lucía, Mélida Sánchez Ruth. *Chlamydia trachomatis*: Avances y Perspectivas. Internet. www.unicolmayor.edu.co/. Acceso: (Diciembre 2003)

Ostos Ortiz Olga Lucía, Mélida Sánchez Ruth. Tamizaje serológico y con PCR para determinar la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en pacientes con vaginosis y vaginitis inespecífica que asisten a hospitales de la Secretaría de Salud de Bogotá. Internet. www.unicolmayor.edu.co/invest_nova/. Acceso: (Junio 5, 2005)

Pacheco José. Infección por *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.sisbib.unmsm.edu.pe/Vol_45_N3. (1999)

Planned Parenthood. Enfermedades de transmisión sexual: *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.plannedparenthood.org/esp. Acceso: (2010)

Sweet RL, Gibbs RS. Infecciones genitales por *Chlamydia trachomatis*. Internet. www.who.int/entity/rhl/reviews/. Acceso: (Año 2007)

Topolanski Ricardo. Pescando en Internet: Enfermedades ETS. Internet. www.sogiu.com/. Acceso: (Marzo 19, 2004)

Vallejos Clotilde, Enríquez Miguel, López María, Valdez J. Antonio, Pría Patricia. Cérvico Vaginitis por *Chlamydia trachomatis* en mujeres atendidas en un hospital de Acatlán de Osorio, Puebla. Internet. www.amimc.org.mx/revista/2010/30. Acceso: (Noviembre 2009)

Vidal Rodríguez Lemoine. Diagnóstico de Infección por *Chlamydia trachomatis* empleando dos métodos comerciales rápidos. Internet. www.caibco.ucv.ve/. Acceso: (Noviembre 2005)

Zapata Martha, Ahumada Fabiana. Aislamiento de *Chlamydia trachomatis* y respuesta inmune en diferentes poblaciones. Internet. www.medicinabuenosaires.com/revistas/vol57-97/1. Acceso: (Año 1997).

18. GRÁFICOS

GRÁFICO 1. GEL DE ELECTROFORESIS (Control de Extracción B - Globina)

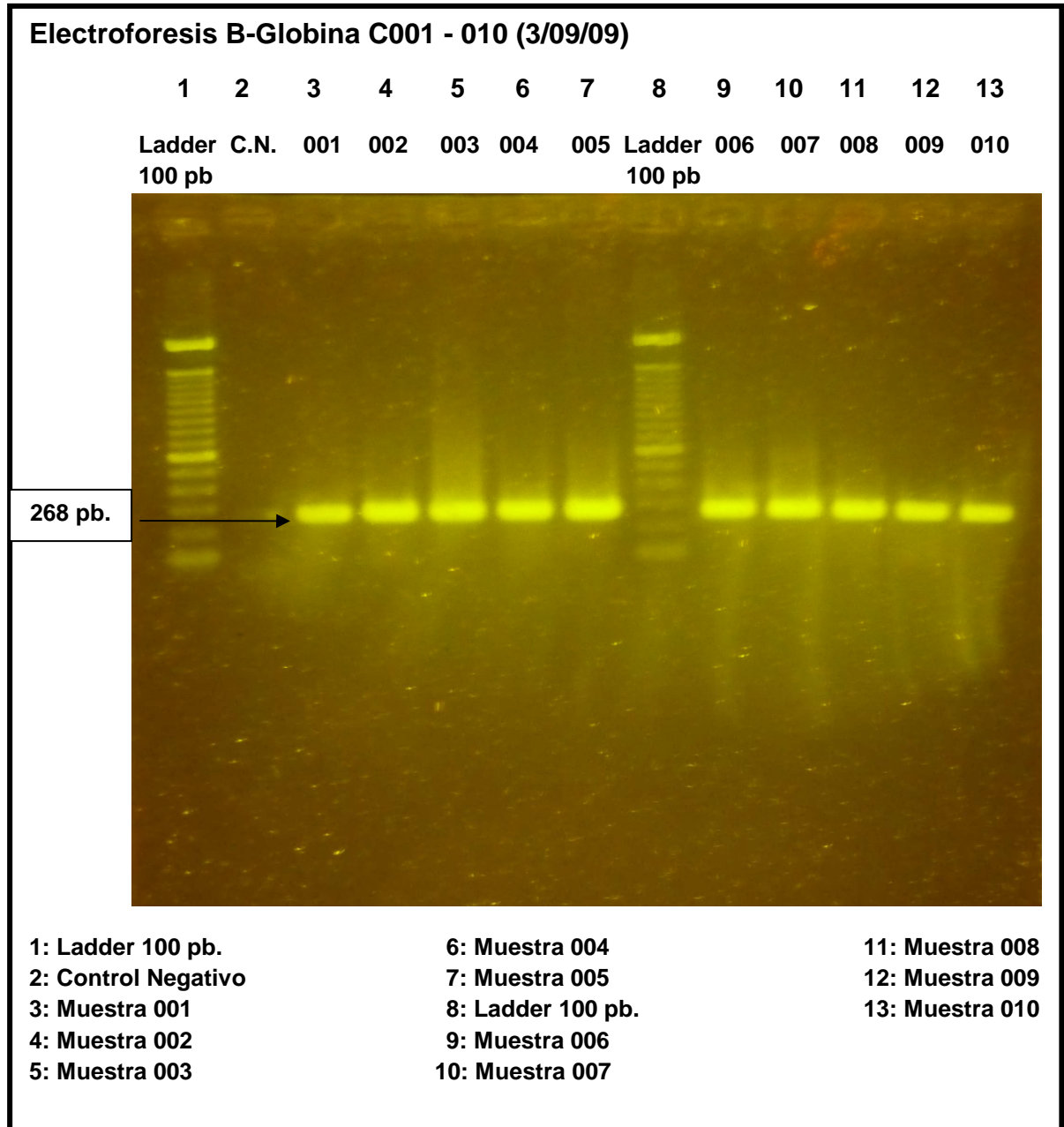


GRÁFICO 2. CURVAS POSITIVAS PARA *Chlamydia trachomatis* POR qPCR

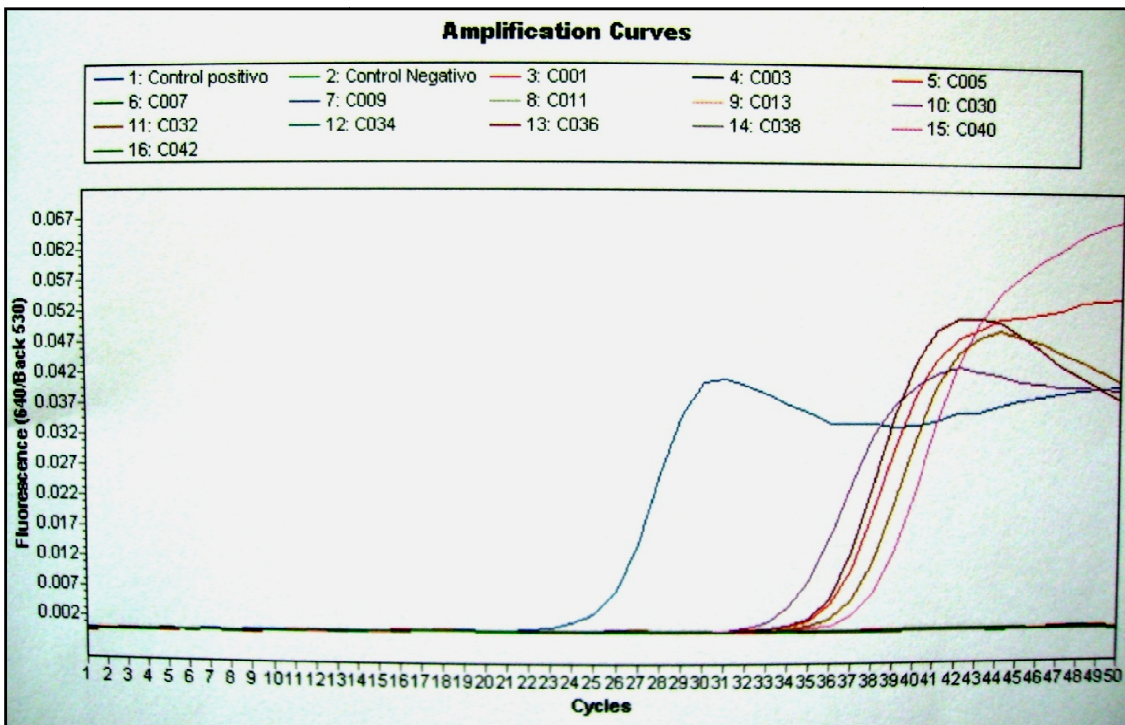
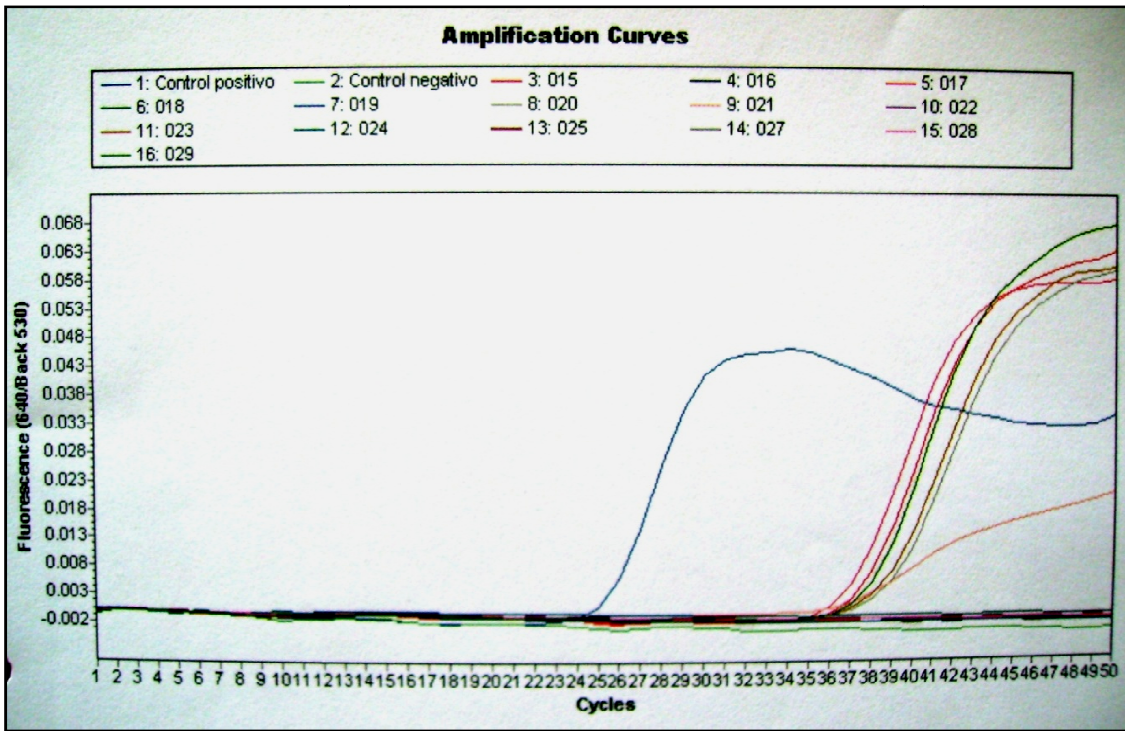


GRÁFICO 3. CITOLOGÍA VAGINAL

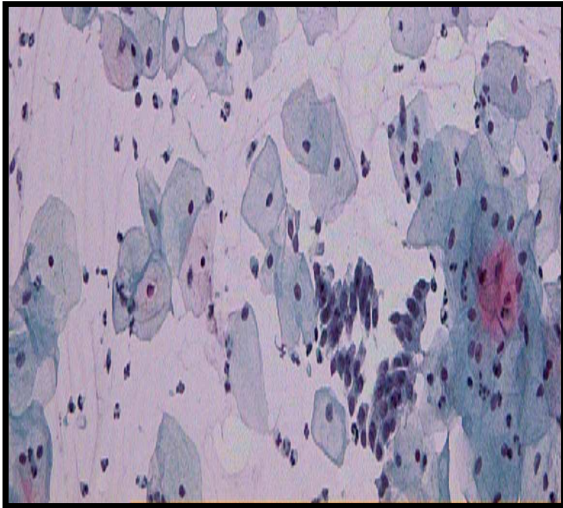


Foto 1. Citología Normal

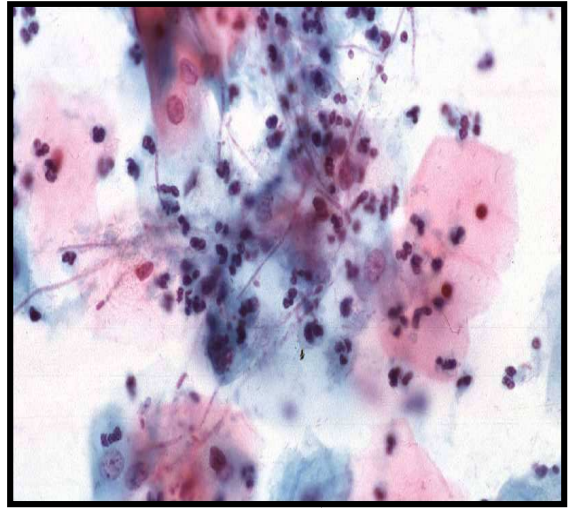


Foto 2. Citología Inflamatoria con presencia de *Cándida* sp.

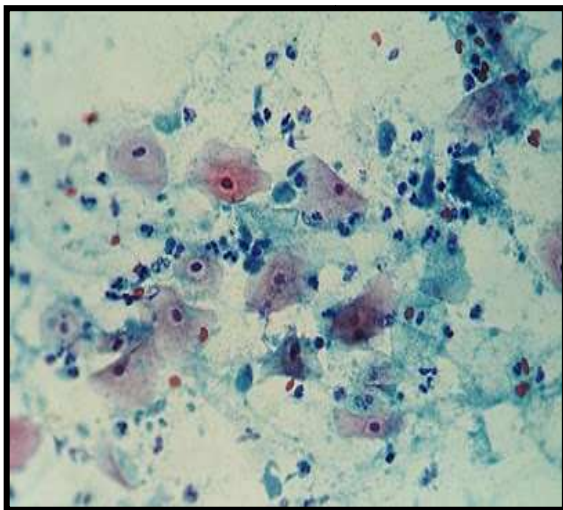


Foto 3. Citología sugestiva de *Trichomonas vaginalis*

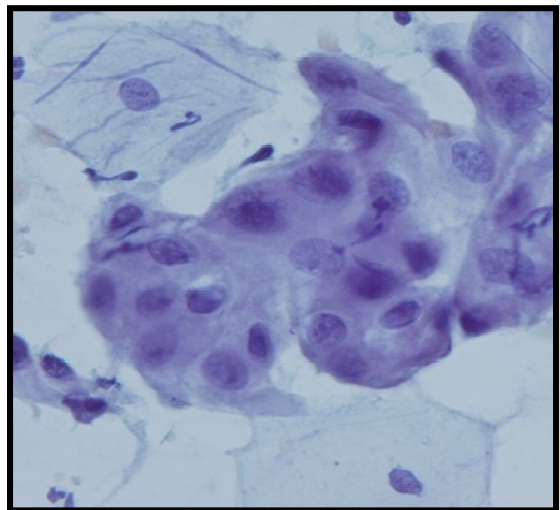


Foto 4. Citología con presencia de ASCUS

19. ANEXOS

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR CEMOPLAF– Ibarra

Proyecto “Tamizaje de *Chlamydia trachomatis* mediante técnicas moleculares, citológicas en mujeres en edad fértil del área urbana de la ciudad de Ibarra.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

El investigador:

Señora: Muchas mujeres pueden tener enfermedades en su cuello uterino y no haber presentado molestia alguna, sin embargo la falta de tratamiento puede causar problemas en usted. Para poder saber si tuvo o tiene esta enfermedad se requieren de pruebas especiales, para lo cual es necesario que el médico tome muestras de sangre y de la vagina. Estas muestras serán estudiadas después con procedimientos especiales de laboratorio. En caso de que alguna de sus muestras resulten positivas para este microbio buscado, el resultado será entregado a su médico tratante para que usted reciba el tratamiento oportuno y específico.

Invitación:

Es posible que usted tenga una infección por este microbio y que no haya presentado síntomas o que hayan pasado por desapercibido; pero que hoy pueden causarle daño. Para conocer si es así le invitamos a participar en un proyecto de investigación para determinar la presencia de esta bacteria.

Que se le solicita que usted haga:

Si es que usted voluntariamente decide participar, usted deberá autorizarnos tomar una muestra de sangre en cantidad de una cuchara y varias muestras cervicales, para que sean sometidas a un proceso de diagnóstico especial que permita identificar el microbio que puede estar infectando a su cuello uterino. Su participación en la investigación no implica gastar su tiempo más que el necesario para el examen diagnóstico habitual.

Riesgos:

- El examen de su cuello uterino no es doloroso pero algunas veces puede haber un pequeño sangrado.
- El pinchazo para la toma de la muestra de sangre podría causar un poco de dolor y/o un pequeño hematoma.

Beneficios:

- Es posible que esta investigación determine la presencia de estos microbios causantes de problemas en su organismo y potenciales complicaciones en su futuro.
- Su participación en este estudio, podría ofrecerle mejores posibilidades de tener un diagnóstico rápido y oportuno y así evitar problemas para su salud.

- Si esta bacteria está presente, los médicos le indicarán un tratamiento para combatirla y evitar graves secuelas para usted.
- Esta investigación podría ayudarnos a tener un mejor conocimiento de la frecuencia de estos microbios que causan graves daños en las mujeres de la provincia de Imbabura.

Costos:

Todos los exámenes especiales que se le van a realizar, para ver si usted está infectada con algún microbio, NO tienen costo alguno para usted.

Confidencialidad:

Su nombre será manejado confidencialmente. Un número de código será usado a partir de este momento para proteger su identidad. Los datos obtenidos de esta investigación serán mantenidos bajo llave, en la oficina del investigador.

Voluntario:

Su participación es absolutamente voluntaria.

Paciente:

Yo _____ he leído (escuchado) con atención los exámenes que se realizarán en mi sangre, cuerpo, para conocer si estoy infectada o no por este microbio capaz de causarme daño. Durante el examen se tomarán unas pequeñas muestras en las cuales se realizarán pruebas especiales para determinar la presencia de ese microbio. Si esta bacteria está presente los investigadores comunicaran a mi medico tratante los resultados y se me indicará un tratamiento para combatirla.

Yo autorizo libremente que se realicen los procedimientos indicados. También me siento libre de seguir o no las indicaciones o tratamientos que se establezcan. Mi firma (huella) abajo indica que he leído y entendido toda la información arriba explicada.

Firma del paciente CC:	Fecha
Firma del testigo CC:	Fecha
Teléfono del paciente	Dirección del paciente

En caso de dudas comunicarse con los investigadores, Dra. Lenis Ortiz Telf: 022991727 (DISerLAB-PUCE)

H.CI:	Médico:
CODIGO DE LA PACIENTE:	

ANEXO 2. FORMULARIO DE FACTORES DE RIESGO

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR
FORMULARIO DE FACTORES DE RIESGO DE LAS PACIENTES**

Información Demográfica:

Código

--	--	--	--

Ciudad y fecha de nacimiento: Edad.....

Instrucción:

Ultimo Grado completado:

Primaria	
----------	--

Secundaria	
------------	--

Superior	
----------	--

Con quién vive:

Padre	Madre	Esposo	Hijos	P. adoptivos	Sin hogar	Solo

Usted trabaja:

SI		NO	
----	--	----	--

Permanente	
Ocasional	
Quehaceres domésticos	

Antecedentes personales:

Fecha de su último Pap -Test	
Resultado	
Tratamiento	

Edad de inicio de la primera relación sexual	
Número de parejas sexuales	

Información de su pareja sexual:

Su pareja tuvo o tiene otras parejas sexuales

SI		NO		Confundido		No sabe	
----	--	----	--	------------	--	---------	--

Su pareja ha tenido alguno de estos síntomas:	SI	NO
Secreción uretral		
Problemas urinarios – Disuria		
Ha visto alguna úlcera o llaga en el área de los genitales		
Otro		

Su pareja ha tenido alguna enfermedad de transmisión sexual: SI..... NO.....

Recibió tratamiento		
Hace cuanto tiempo		
Sabe que enfermedad tuvo		

Manifestación clínica:

Usted en este momento tiene: SI NO

1. Secreción vaginal		
Picazón		
Mal olor		
Ardor		
2. Ardor al orinar		
3. Dolor abdominal bajo leve		

Al momento de la toma de la muestra la paciente presenta:

SIGNOS FISICOS:	SI	NO
Temperatura bucal > 37,5°C		
Tatuajes #		
Cambios cervicales:		
Laceraciones		
Quistes de Naboth		
Tumoraciones		
Cambios vaginales:		
Secreción purulenta		
Secreción blanquecina		
Mal olor		
Condilomas		

ANEXO 3. NOMENCLATURAS UTILIZADAS EN EL PAIS PARA EL REPORTE CITOLÓGICO

BETHESDA	OMS	PAPANICOLAOU
Negativo	Inflamatorio	Clase II

ANEXO 6. FORMATO DE RESULTADOS CITOLÓGICOS Y qPCR

Pontificia Universidad Católica del Ecuador



Av. 12 de Octubre y Roca

Tel: 2991727

Formato de Resultado de exámenes de Laboratorio:

Paciente:

Fecha de Ingreso:

Fecha de Entrega:

Nº de Muestra:

CITOLOGÍA VAGINAL

Muestra:

Frotis:

Polimorfonucleares:

Flora:

Hematíes:

Histiocitos:

Hongos:

Células endocervicales:

Diagnóstico:

BETHESDA

OMS

PAPANICOLAOU

RESULTADO MOLECULAR

TEST	RESULTADO	VALOR DE REFERENCIA
Identificación de CHLAMYDIA TRACHOMATIS por PCR (Reacción en Cadena de la polimerasa) en tiempo real (qPCR)		

Dra. Lenis Ortiz G. CMP: 9070
Directora Técnica DISerLAB-PUCE
