

UNIVERSIDAD DE OVIEDO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA FUNCIONAL
MICROBIOLOGÍA



**INFECCIÓN POR *Chlamydia trachomatis*: UNA APROXIMACIÓN A
LA SITUACIÓN EN ASTURIAS**

Patricia Mejuto López
Oviedo 2013

RESUMEN DEL CONTENIDO DE TESIS DOCTORAL

1.- Título de la Tesis	
Español/Otro Idioma: Infección por <i>Chlamydia trachomatis</i> : Una aproximación a la situación en Asturias	Inglés: <i>Chlamydia trachomatis</i> infection: Approach to understanding the situation in Asturias.
2.- Autor	
Nombre: PATRICIA MEJUTO LÓPEZ	-
Programa de Doctorado: BIOLOGÍA FUNCIONAL Y MOLECULAR	
Órgano responsable: FACULTAD DE MEDICINA	

RESUMEN (en español)

Chlamydia trachomatis es el patógeno de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial. Su interés epidemiológico ha aumentado notablemente en los últimos años debido, en muchos casos, a la naturaleza asintomática de los cuadros clínicos que produce y a las graves complicaciones que puede ocasionar, principalmente en mujeres jóvenes. La detección precoz de la infección por esta bacteria, permite controlar la transmisión y reducir la incidencia de complicaciones. Debido a la alta prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en pacientes con prácticas sexuales de riesgo y el alto porcentaje de sujetos asintomáticos, es necesaria la toma sistemática de muestras genitales en éstos y en aquellos otros cuyos hábitos sexuales así lo sugieran. Es de suma importancia la realización de controles periódicos en este tipo de individuos, no sólo para un diagnóstico rápido de la infección, sino para el de cualquier otra ITS, así como realizar seguimiento de contactos para evitar la transmisión y la reinfección a sus parejas sexuales. En España, hay pocos estudios sobre la prevalencia de esta bacteria tanto en población general como de riesgo y muchos de éstos no han sido realizados aplicando técnicas de amplificación de ácidos nucleicos. Además, hasta el momento, el sistema de vigilancia de las infecciones por *Chlamydia trachomatis*, en nuestro país, se realiza a través de centros centinelas y no obliga a la declaración de casos por lo que es posible que exista una subestimación del número de pacientes reales afectados, procedentes de nuestro entorno. Por todo lo anteriormente expuesto, se planteó esta tesis, desarrollando un método propio para la detección de *C. trachomatis* en las muestras clínicas. Mediante PCR anidada se amplificó el gen *ompA* de la bacteria, para conocer su prevalencia tanto en población general asintomática, como en pacientes con prácticas sexuales de riesgo. Asimismo, se caracterizaron las diferentes variedades

circulantes, con el fin de diferenciar los genotipos invasivos de aquellos que no lo son; determinar la relación entre genotipos, sexo, rango de edad, localización anatómica y determinadas manifestaciones clínicas, con el propósito de contribuir a la creación de programas de control de la infección.

RESUMEN (en Inglés)

Chlamydia trachomatis is the most prevalent sexually transmitted pathogen recognized throughout the world. Its epidemiological interest has increased markedly in recent years due, in many cases, to the asymptomatic nature of the clinical symptoms produced and the serious complications that can cause, especially in young women. Early recognition of *Chlamydia trachomatis* infections allows to control the transmission and reduces the incidence of complications. Due to the high prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in patients with high-risk sexual practices and the high percentage of asymptomatic subjects, a genital systematic sampling in these and those others with sexual risk behaviors is necessary. Regular checks are important in this type of individuals, not only for rapid diagnosis of infection, but for any other STIs, as well as the importance of contact tracing to prevent transmission and re-infection to sexual partners. In Spain, there are few studies on the prevalence of this bacterium both in general population as well as in subjects with high-risk sexual behavior and the detection of the bacteria was not performed using nucleic acids amplification techniques. Furthermore, the surveillance scheme of *Chlamydia trachomatis* is conducted through the microbiological information system. This system does not require the reporting of cases, so there may be an underestimate of real number of *Chlamydia trachomatis* infections in our environment. According to the previously exposed, a method for the detection of *Chlamydia trachomatis* in clinical samples based on the amplification of a fragment of *ompA* gene using a nested PCR was developed. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* infections in an asymptomatic general population and in patients with high-risk sexual practices was determined. Furthermore, in order to differentiate invasive genotypes of non-LGV strains, as well as to determine the relationship between genotype, sex, age range, location and specific anatomical clinical manifestations, circulating *Chlamydia trachomatis* genotypes were characterized. Our results support the need of establishing programs for control the onward transmission of *Chlamydia trachomatis* infection.

A mi hijo Enrique,

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Pilar Suárez Leiva por haber confiado en mí para la realización de este estudio, por su ayuda y apoyo incondicionales, siempre te estaré agradecida.

Al Dr. José Antonio Boga Riveiro, por guiarme en mis inicios como investigadora y ser mi maestro en el campo de la Biología Molecular, por dedicarme su tiempo e inestimable ayuda.

Al Dr. Juan Evaristo Suárez por aceptar la tutoría de esta tesis.

A la sección de Virología del servicio de Microbiología del HUCA, por facilitarme el trabajo de laboratorio, en especial a la técnico María Torralba y a las Dras. María de Oña y Marta Elena Álvarez.

A la Dra. Marisa Junquera por su colaboración en la búsqueda de datos clínicos de los pacientes.

Al Dr. Carlos Benítez por compartir los resultados de su grupo de estudio, así como por el interés demostrado durante el desarrollo de este trabajo.

Al servicio de Genética del HUCA en especial a la técnico Marta Díaz, sin cuya ayuda esta tesis no hubiese podido llevarse a cabo.

A Merce e Isa, por tantas tardes compartidas desde mis años de residente hasta la finalización de este trabajo, por sus muestras de cariño y afecto constantes.

Al Dr. Pablo Martínez Cambor por la realización del estudio estadístico.

A mi marido por su apoyo incondicional.

A mis padres y hermana por su confianza.

ABREVIATURAS

CDC: Centros para el control y prevención de las enfermedades de transmisión sexual.

CE: Cuerpo elemental.

CI: Cuerpo de inclusión.

CT: *Chlamydia trachomatis*.

ECDC: Centro europeo para la prevención y control de las enfermedades.

EIA: Enzimoimmunoanálisis.

EPI: Enfermedad pélvica inflamatoria.

FDA: Food and drug administration.

IFD: Inmunofluorescencia directa

IFI: Inmunofluorescencia indirecta.

ITS: Infecciones de transmisión sexual.

LGV: Linfogramuloma venéreo.

LPS: Lipopolisacárido.

MIF: Microinmunofluorescencia.

MLST: Multi locus sequencing typing.

MOMP: Proteína principal de la membrana externa.

nvCT: Cepa de la nueva variante de *C. trachomatis*

wCT: Cepa salvaje de *C. trachomatis*

pCT: Plásmido de *C. trachomatis*.

PCR: Reacción en cadena de la polimerasa.

RFLP: Análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción.

RT-PCR: Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real.

SDA: Amplificación con desplazamiento de hebra homogéneo.

TAAN: Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos.

TMA: Técnicas de amplificación mediante transcripción.

UNG: Uretritis no gonocócica.

VHS-1: Virus herpes simple 1.

VHS-2: Virus herpes simple 2.

VPH: Virus del papiloma humano.

ÍNDICE

ÍNDICE

1 INTRODUCCIÓN	1
1.1.- INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL	1
1.2.- HISTORIA	2
1.3.- CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	3
1.4.- CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS	4
1.5.- CICLO DE DESARROLLO	5
1.6.- FACTORES DE VIRULENCIA	7
1.6.1.- Estructura de la membrana externa	7
1.6.2.- Presencia de plásmido endógeno (pCT)	8
1.6.2.1.- Cepas de la nueva variante de <i>C. trachomatis</i> (nvCT).....	10
1.7.- PATOGENIA	11
1.8.- INFECCIONES GENITOURINARIAS	11
1.8.1.- Manifestaciones clínicas en mujeres	12
1.8.1.1.- Cervicitis mucopurulenta.....	13
1.8.1.2.- Enfermedad pélvica inflamatoria (EPI).....	14
1.8.1.3.- Síndrome uretral.....	15
1.8.2.- Infecciones en mujeres gestantes.....	15
1.8.3.- Infecciones en recién nacidos.....	16
1.8.3.1.- Conjuntivitis de inclusión perinatal.....	16
1.8.3.2.- Neumonía del lactante	17
1.8.4.- Manifestaciones clínicas en hombres	17
1.8.4.1.- Uretritis no gonocócica.....	17
1.8.4.2.- Epididimitis	18
1.8.4.3.- Proctitis	18
1.9.- LINFOGRANULOMA VENÉREO	19
1.9.1.- Estadio primario.....	20
1.9.2.- Estadio secundario	21
1.9.2.- Estadio terciario	21
1.10.- TRACOMA	22
1.11.- OTRAS INFECCIONES CAUSADAS POR <i>Chlamydia trachomatis</i>	24
1.11.1.- Conjuntivitis de inclusión en adultos.....	24
1.11.2.- Síndrome de Reiter	24
1.11.3.- Perihepatitis	25
1.11.4.- Otras manifestaciones clínicas	25
1.12.- DIFERENCIAS EN EL CURSO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN.....	25
1.12.1.- Factores relacionados con la bacteria	26
1.12.1.1.- Gen <i>ompA</i>	26
1.12.1.2.- Genes <i>IncA</i>	27
1.12.1.3.- Genes <i>Pmp</i>	27
1.12.1.4.- Zona de plasticidad.....	27
1.12.2.- Factores ambientales.....	28
1.12.3.- Factores del hospedador.....	28
1.13.- DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	29
1.13.1.- Citología.....	31
1.13.2.- Cultivo.....	31
1.13.3.- Detección antigénica.....	34
1.13.4.- Serología	34

1.13.5.- Técnicas moleculares	34
1.14.- GENOTIPADO.....	37
1.14.1.- Asociación entre genotipos de <i>Chlamydia trachomatis</i> y manifestaciones clínicas.....	38
1.15.- EPIDEMIOLOGÍA.....	40
1.16.- TRATAMIENTO.....	43
1.16.1.- Seguimiento de los pacientes	46
1.17.- CRIBADO	47
2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	51
3 PACIENTES Y MÉTODOS	54
3.1.- DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO	54
3.2.- POBLACIÓN ANALIZADA.....	54
3.2.1.- Criterios de inclusión	56
3.2.2.- Criterios de exclusión	56
3.3.- MUESTRAS CLÍNICAS	56
3.3.1.- Criterios de selección de las muestras	56
3.4.- DETECCIÓN DE <i>Chlamydia trachomatis</i> EN LAS MUESTRAS CLÍNICAS	58
3.5.- GENOTIPADO DE <i>Chlamydia trachomatis</i>	58
3.5.1.- Amplificación de un fragmento del gen <i>ompA</i>	58
3.5.2.- Secuenciación del fragmento del gen <i>ompA</i>	61
3.5.3.- Análisis filogenético	61
3.6.- DETECCIÓN DE LA NUEVA VARIANTE DE <i>Chlamydia trachomatis</i> (nvCT) 62	
3.7.- ANÁLISIS DE LOS DATOS Y METODOLOGÍA ESTADÍSTICA.....	63
3.8.- ANEXO.....	64
3.8.1.- Reactivos utilizados en las técnicas de amplificación genómica	64
3.8.2.- Documento de consentimiento del Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias	65
4 RESULTADOS	66
4.1.- PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>Chlamydia trachomatis</i> EN NUESTRA SERIE.....	66
4.1.1.- Resultados de los pacientes analizados en los grupos A y B.....	68
4.1.2.- Resultados de los jóvenes incluidos en el grupo de referencia. Grupo C 70	
4.1.3.- Pacientes sintomáticos: Grupo A	70
4.1.4.- Pacientes asintomáticos: Grupo B.....	71
4.1.5.-Comparación de los resultados de prevalencia de los grupos A y B respecto al grupo de referencia	72
4.2.- RESULTADOS SEGÚN LA PROCEDENCIA ANATÓMICA DE LAS MUESTRAS.....	72
4.2.1.-Mujeres sintomáticas y asintomáticas	73
4.2.2.-Hombres sintomáticos y asintomáticos	76
4.2.3.-Rendimiento diagnóstico de las diferentes muestras.....	79
4.3.- GENOTIPOS CIRCULANTES	80
4.3.1.- Distribución de los genotipos según sexo	82
4.3.2.- Distribución de los genotipos según sexo y rango de edad	82
4.3.3.- Distribución de los genotipos según la localización anatómica	83
4.3.4.- Genotipos y manifestaciones clínicas	84

4.3.5.- Genotipos invasivos.....	91
4.4.- RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE LA NUEVA VARIANTE DE <i>Chlamydia trachomatis</i> (nvCT).....	92
5 DISCUSIÓN	94
6 CONCLUSIONES	104
7 BIBLIOGRAFÍA	107

1 INTRODUCCIÓN

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

3 MATERIAL Y MÉTODOS

4 RESULTADOS

5 DISCUSIÓN

6 CONCLUSIONES

7 BIBLIOGRAFÍA

1 INTRODUCCIÓN

1.1.-INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) constituyen un grupo heterogéneo de patologías transmisibles, cuyo único elemento en común es el compartir la vía sexual como mecanismo de adquisición. Con más de 330 millones de casos anuales¹, representan un problema de salud prioritario a nivel mundial, tanto por el impacto que producen sobre la salud física y mental de las personas que las padecen como por las complicaciones y secuelas que pueden ocasionar, principalmente en mujeres y recién nacidos y por su relación con el aumento de la transmisibilidad del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)¹. Las manifestaciones clínicas comprometen, en la mayoría de los casos, el área genital y las mucosas pero en otros tienen manifestaciones sistémicas.

Desde mediados de la década de los noventa, la Unión Europea está experimentando un aumento significativo y mantenido de las ITS, especialmente de las bacterianas agudas, con incrementos centrados en la población joven, las minorías étnicas y los homosexuales².

Chlamydia trachomatis (CT) es ya, el principal patógeno implicado en este tipo de infecciones. Su interés epidemiológico ha aumentado notablemente en los últimos años debido, en muchos casos, a la naturaleza asintomática de los cuadros clínicos que produce y a las graves complicaciones que puede ocasionar, principalmente en mujeres jóvenes³. Los últimos avances en las técnicas diagnósticas hacen más fácil la detección, tratamiento y prevención de estas infecciones de importancia en la salud pública mundial⁴.

1.2.-HISTORIA

Los primeros informes, acerca de la presencia de *Chlamydia* en patologías infecciosas, se remontan a las descripciones sobre tracoma encontradas en tratados greco romanos y en antiguos manuscritos procedentes de China y Egipto⁵. En 1907, los austríacos Halbertaeder y von Prowazek, trabajando en Java y empleando la coloración

de Giemsa en un frotis conjuntival de orangutan, previamente inoculado con material tracomatoso humano, observaron vacuolas intracitoplasmáticas⁶. A estos cuerpos intracitoplasmáticos, que internalizaban pequeñas partículas (cuerpos elementales y reticulados), los denominaron “inclusiones”^{7,8} (figura 1 y 2).

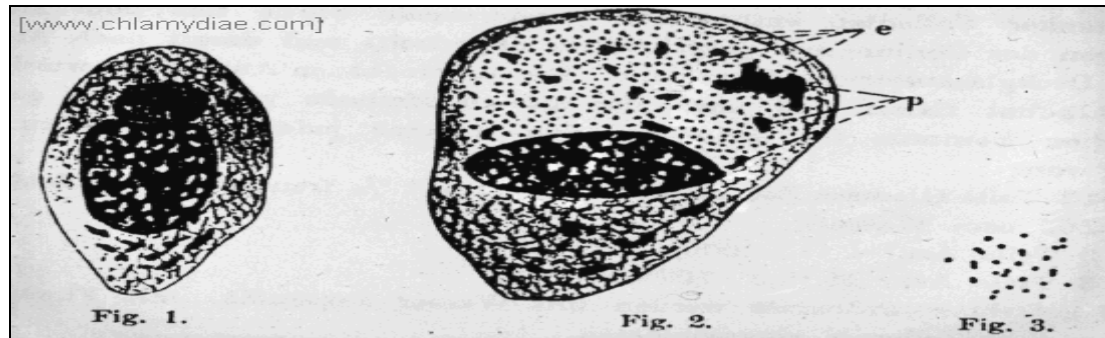


Figura 1: Dibujos de Halberstaedter y von Prowazek de una célula normal del epitelio conjuntival (izquierda), una célula infectada (centro) y partículas clamidiales libres. 1907 (tomado de www.chlamydiae.com)

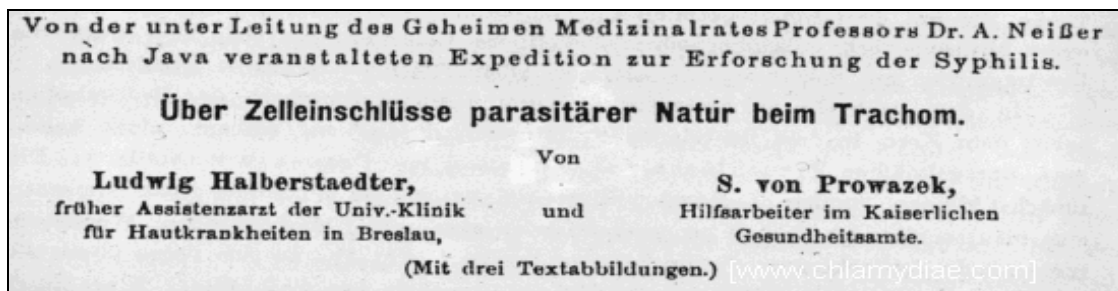


Figura 2: Título del artículo original de Halberstaedter y von Prowazek de 1907, el primero donde se describe la infección por clamidia

En 1957, cincuenta años después de su descubrimiento, se realizó el primer aislamiento de *C. trachomatis*, agente causal del tracoma⁹. Posteriormente se logró identificar a estos microorganismos a partir de muestras conjuntivales y del tracto genital denominándolos agentes “TRIC” (TR: tracoma; IC: conjuntivitis de inclusión)¹⁰. En 1913, se definió como entidad clínica y patológica, el linfogranuloma venéreo, una infección de transmisión sexual causada por microorganismos similares a los previamente aislados, pero con diferente respuesta inmunológica¹¹.

Las técnicas de cultivos celulares para la recuperación de *C. trachomatis*, introducidas en 1965¹² y los métodos para la detección de anticuerpos y determinación de inmunitipos desarrollados en 1970¹³, permitieron confirmar el rol etiológico de *C. trachomatis* en infecciones sexualmente transmisibles.

1.3.-CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Históricamente el orden *Chlamidiales* incluye a cuatro familias, dentro de las que se encuentra la familia *Chlamydiaceae* clasificada en base a sus propiedades fenotípicas, morfológicas y genéticas.

Chlamydia es un taxón genérico que fue acuñado en 1945 por Jones *et al.*, siendo *Chlamydia trachomatis* la especie tipo de éste ¹⁴. Clásicamente, desde 1971, se aceptaban cuatro especies dentro del género *Chlamydia* (según la clasificación de Stolz y Page) ¹⁵: *C. trachomatis*, *C. psittaci*, *C. pneumoniae* y *C. pecorum*.

En 1999, Everett y colaboradores propusieron una nueva clasificación, en función del análisis de las secuencias del gen ARNr16s¹⁶. La familia Chlamydiaceae, clásicamente representada con un sólo género (*Chlamydia*), se dividiría en dos: *Chlamydia* y *Chlamydophila* (tabla 1). Esta teoría se apoya en diferencias en sus secuencias genéticas y proteicas y en la producción de glucógeno detectable por parte de *Chlamydophila*. Además, esta última presenta un solo operón ribosomal a diferencia de *Chlamydia* que posee dos.

Tabla 1: Clasificación según la propuesta de Everett y colaboradores

FAMILIA	GÉNERO	ESPECIE
<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C. trachomatis</i>
		<i>C. muridarum</i>
		<i>C. suis</i>
	<i>Chlamydophila</i>	<i>C. pneumoniae</i>
		<i>C. pecorum</i>
		<i>C. psittaci</i>
		<i>C. abortus</i> <i>C. caviae</i> <i>C. felis</i>
<i>Simkaniaceae</i>	<i>Simkania</i>	<i>S. negevensis</i>
<i>Parachlamydiaceae</i>	<i>Parachlamydia</i>	<i>P. acanthamoeba</i>
<i>Waddilaceae</i>	<i>Waddila</i>	<i>W. chondrophila</i>

Sin embargo, esta nueva clasificación no fue bien recibida por la comunidad científica especializada en el estudio de las clamidias, por lo que en la actualidad se

utilizan ambas. En busca de una unificación de criterios que resultasen en una taxonomía correcta y funcional, Stephens y colaboradores propusieron en 2008¹⁷, durante la sexta reunión de la Sociedad Europea de Investigación en *Chlamydia*, la reagrupación de las clamidias en un único género, basándose en la comparación de los genomas de las especies (figura 3). Se consideraron además argumentos de índole biológica como los siguientes: a) durante su evolución los miembros de este género han perdido genes, más que adquirirlos, b) su carácter intracelular los aísla de otros organismos, c) su amplitud de hospedadores es muy reducida. De este modo se concluyó que la clasificación basada en el análisis filogenético del ARN16s, no refleja la historia evolutiva natural del grupo.

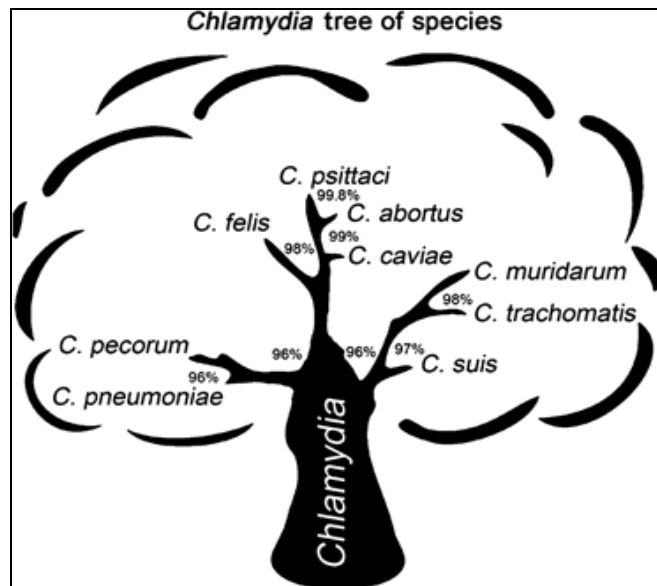


Figura 3: Agrupación propuesta por Stephens y colaboradores¹⁷

1.4.-CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Los miembros de la familia Chlamydiaceae fueron considerados inicialmente virus debido a su tamaño, suficientemente pequeño para atravesar filtros de 0,45 μm , y a que son organismos intracelulares obligados.

Tienen forma esférica son inmóviles y no ciliadas. Presentan características morfológicas similares entre todos sus miembros, comparten antígeno común de grupo y se multiplican en el citoplasma de las células huésped mediante un ciclo de desarrollo exclusivo.

Presentan una membrana interna y otra externa trilaminares, semejantes a las de las bacterias gramnegativas, pero, a diferencia de estas, su pared celular carece de peptidoglucano, a pesar de disponer de los genes para su producción. Contienen ADN y ARN, poseen ribosomas procariotas y sintetizan sus propias proteínas, ácidos nucleicos y lípidos y son sensibles a numerosos antibióticos antibacterianos⁵.

Carecen de mecanismos para la producción de energía metabólica y no pueden sintetizar ATP por lo que emplean compuestos fosfatados de alta energía (ATP y GTP) de la célula anfitriona, para satisfacer sus necesidades energéticas.

1.5.-CICLO DE DESARROLLO

Los integrantes de la familia *Chlamydiaceae* siguen un ciclo de desarrollo bifásico que comprende dos morfologías: el cuerpo elemental (CE) y el cuerpo reticular o de inclusión (CR o CI) (figura 4).

Los CEs tienen un tamaño aproximado de 300-400 nm, son extracelulares, redondos, antigénicos, infecciosos y no proliferativos. El ADN dentro de ellos se encuentra altamente compactado por la acción de dos proteínas semejantes a histonas^{18,19}.

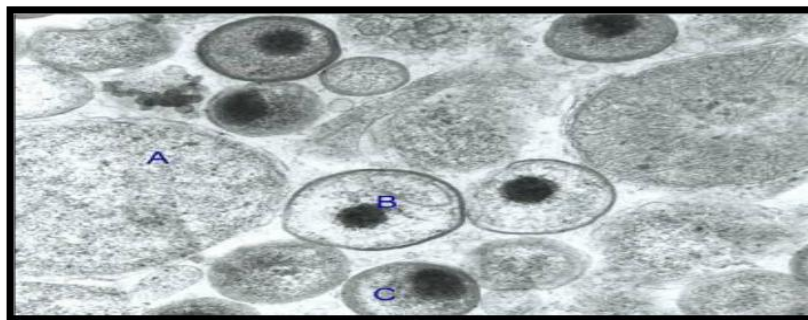


Figura 4: Fotografía de microscopía electrónica de una célula infectada por *C. trachomatis*. Se aprecian A: CR, B: Forma intermedia entre CR y CE y C: CE (tomado de www.slideshare.net)

Los CRs tienen un tamaño variable que va desde los 400nm a 1 μ m, son intracelulares, no infectivos ni antigénicos, metabólicamente activos y presentan la forma reproductiva de la bacteria²⁰.

El ciclo de desarrollo involucra la infección y la entrada de la bacteria a células eucariotas, y su posterior multiplicación dentro de una vacuola modificada conocida como inclusión.

Durante estas etapas, existe una interacción íntima entre la bacteria y su célula huésped. A nivel molecular existen eventos que van desde el reconocimiento de ligandos y receptores hasta la señalización y regulación del metabolismo^{21,22}.

El ciclo de desarrollo comienza con la interacción del ligando presente en la superficie del CE con los receptores que hay en la célula eucariota (adherencia), lo cual desencadena una serie de señales dentro de ésta que culminan con la interiorización del CE dentro de una vacuola fagocítica. La vacuola fagocítica que contiene el CE es transformada por la bacteria y es conocida como inclusión, evade la fusión fagolisosomal y se desplaza por el citoplasma hasta la vecindad del núcleo. Durante ese trayecto, el CE se convierte en CR y comienza a desarrollarse. Aproximadamente entre 6 y 8 horas después de la infección, el CR se encuentra plenamente desarrollado y se divide, produciendo nuevos CR los cuales a su vez se desarrollan y dividen. Entre las 24 y 48 horas después de la infección algunos CR comienzan a convertirse en CE, y a las 48-72 horas de iniciado el ciclo, los nuevos CE son liberados al medio externo, donde pueden infectar a las células vecinas e iniciar nuevamente el ciclo^{18,19,23} (figura 5)

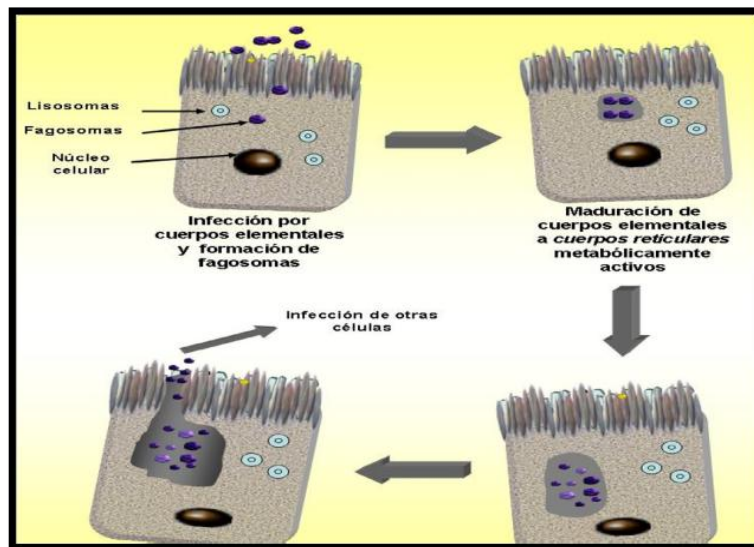


Figura 5: Ciclo de desarrollo de *C. trachomatis* (tomado de www.pathmicro.med)

1.6.-FACTORES DE VIRULENCIA

C. trachomatis posee numerosos factores que contribuyen a su virulencia, prestándose gran atención a los componentes de la superficie celular, que le permiten la interacción con receptores de ácido siálico en los tejidos diana²⁴, y a la presencia de un plásmido de virulencia²⁵.

Los principales determinantes antigénicos de las clamidias se encuentran en su membrana externa; desempeñan un papel en la patogenia y son de utilidad en el diagnóstico de la infección.

1.6.1.-Estructura de la membrana externa.

La estructura única de la pared celular de *C. trachomatis* contribuye a su virulencia debido a sus interacciones con receptores de las células eucariotas y a su capacidad para inhibir la fusión de los endosomas en los lisosomas. Es semejante a la de las bacterias gramnegativas porque contiene una membrana externa de lipopolisacáridos, pero carece de ácido murámico. La membrana externa está constituida por: el lipopolisacárido (LPS, específico de género); las proteínas de superficie (codificadas por familias de genes *Omp*), las adhesinas (n-octil β -D-glucopiranosido); y el heparán sulfato involucrado en la unión a la célula huésped²⁶.

La proteína principal de la membrana externa (MOMP, por sus siglas en inglés), representa el 60% de ésta. Es responsable de la integridad estructural del CE y de la conversión al CR. Presenta diversas funciones entre las que se encuentran: la integridad estructural de la membrana, la acción de porina y la de adhesión. Además, esta proteína es inmunogénica, ya que presenta epitopos inmunodominantes (específicos de especie), por lo que se ha considerado como una proteína útil para el desarrollo de vacunas. Está codificada por el gen *ompA* que posee una extensa secuencia de ADN, con variaciones localizadas principalmente en cuatro regiones denominadas dominios variables (VD 1-4). Estos cuatro dominios están separados por cinco segmentos altamente conservados. El serotipado con antígenos dirigidos a tres de estas cuatro regiones variables, diferencia entre al menos 19 serovares. La neutralización de las MOMPs con anticuerpos monoclonales disminuye la infectividad de *C. trachomatis* en ratón, por lo cual se le ha atribuido un papel importante en la interacción con células eucariotas²⁷.

Las proteínas de 60 kDa y 12 kDa (codificadas por los genes *Omp2* y *Omp3*) son proteínas ricas en cisteínas y se encuentran solamente en los cuerpos elementales. La proteína de 60 kDa ha sido considerada como el sitio de unión por el cual se ancla el heparán sulfato, sintetizado por el microorganismo, y que está involucrado en la unión a la célula huésped²⁸.

Otras proteínas que han sido identificadas son: 18, 28 y 82 kDa, las cuales tienen propiedades de adhesión (codificadas por un fragmento de 6,7 kb del ADN cromosómico)²⁹.

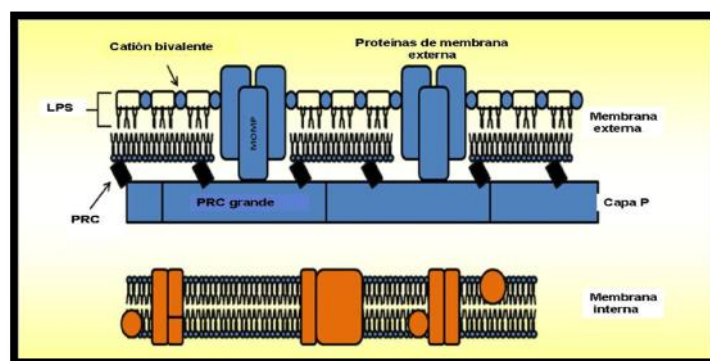


Figura 6: Estructura de la pared celular de *Chlamydia trachomatis*.

1.6.2.-Plásmido endógeno (pCT).

El genoma cromosómico de *C. trachomatis* tiene 1.042.519 pb, (58.7% de A-T). A raíz de su secuenciación, se han encontrado muchos genes que permiten conocer la capacidad metabólica de esta bacteria y ayudan a explicar algunos de los eventos relacionados con su ciclo de desarrollo. Sin embargo, aún existe un porcentaje de éstos, de función desconocida, que no presentan homología con ningún otro microorganismo y cuya alta conservación y frecuencia con que se presentan en las diferentes serovariedades, sugieren que las proteínas codificadas por los mismos, son importantes en la infección²⁵. Dentro de este grupo, se encuentran los codificados en un plásmido de 7,5Kb, llamado también pCT y que fue descrito en 1980 por Lovett y cols. Tiene ocho marcos de lectura abiertos y se incrementa a 7,6 copias durante la replicación de la bacteria, siendo diferente de los plásmidos encontrados en otras especies de *Chlamydia*^{30, 31}.

La figura 7, muestra el plásmido con la posición de los 8 marcos abiertos de lectura, conjuntamente con la posición de diferentes sitios de corte para endonucleasas de restricción. Todos los plásmidos de *C. trachomatis* aislados de humanos son extremadamente similares con menos de un 1% de variaciones en la secuencia de nucleótidos, tienen alrededor de 7.500 nucleótidos y 22 pares de bases repetidas en tándem en la región intergénica entre ORF1 y ORF8³²⁻³⁴.

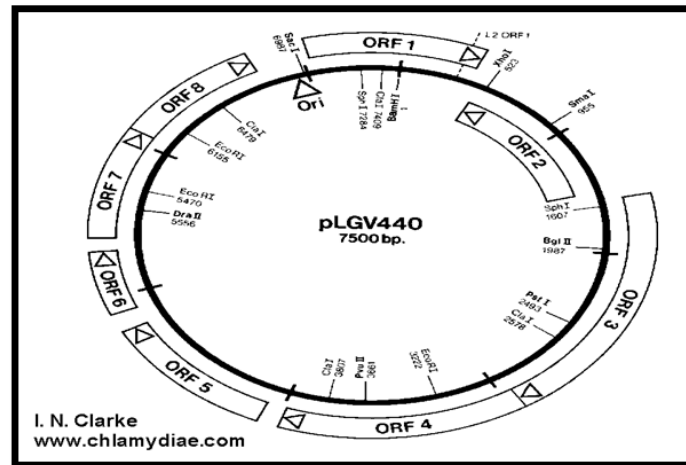


Figura 7: Plásmido de *C. trachomatis* (tomado de www.chlamydiae.com)

A partir de su descripción, varios autores se dieron a la tarea de determinar su presencia y secuencia nucleotídica en las diferentes serovariedades de *C. trachomatis* (Acceso Gen Bank No J03304, X06707). Los resultados encontrados en estos estudios demostraron que es especie-específico y las secuencias completas están altamente conservadas entre las diferentes cepas^{30, 35}. Esto dio pie al desarrollo de un método de diagnóstico molecular basado en las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN), para infecciones por esta bacteria, en donde el pCT es utilizado como ADN blanco³⁶.

En 1990, se realizó un estudio de secuenciación, aislándose una cepa carente del plásmido (pCT-), dicha cepa, perteneciente a la serovariedad LGV, presentaba capacidad de infectar y desarrollarse en cultivo celular sin ningún problema aparente³⁷. Años más tarde, en 1997, se comunicó el segundo aislamiento de una cepa pCT- de la serovariedad tracoma³⁸ y a finales de 1998, se informa un tercer aislamiento perteneciente a la serovariedad E³⁹. La aparición de estas cepas da otro enfoque al estudio del plásmido pCT, pues el que exista una marcada abundancia de cepas clínicas

que presentan plásmido, habla de que posiblemente, las proteínas codificadas por éste pudieran jugar un papel importante en la patología de la bacteria, confiriéndole algunas ventajas selectivas durante la infección in vivo^{40, 41}.

1.6.2.1- Cepas de la nueva variante de *C. trachomatis* (nvCT)

En el año 2006, en Suecia, se publicó la aparición de una variante del serovar E con la característica de presentar una delección de 377 pb en el plásmido críptico. La infección por esta cepa no podía ser diagnosticada por algunos métodos comerciales, basados únicamente en la amplificación del ADN plasmídico, por lo que hubo miles de casos de diagnósticos falsos negativos^{42, 43}. Estas variantes no presentan polimorfismo genómico ni características fenotípicas distintas a las cepas salvajes, por lo que su comportamiento biológico es similar. Aunque la nvCT ha sido detectada también en Noruega, Finlandia y Dinamarca, sólo unos pocos casos han sido diagnosticados fuera de los países nórdicos y existen muy pocos datos de otras zonas, especialmente del Sur de Europa.

1.7.-PATOGENIA

C. trachomatis es un patógeno fundamentalmente humano, del que hasta ahora han sido identificados 19 serovares agrupados en tres biovares, responsables de patologías específicas (tabla 2). Además, han sido descritas nuevas variantes del serovar L2 que muestran mutaciones en el gen *ompA*^{148, 149}.

Tabla 2: Serotipos de *C. trachomatis* y enfermedades que producen.

BIOVAR	SEROVAR	PATOLOGÍA
Tracoma	A, B, Ba y C	Tracoma
Oculo-Genital	D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia J, y K	Infecciones oculares y genitales no invasivas
Linfogranuloma	L1, L2, L2a y L3	LGV y proctocolitis hemorrágica

C. trachomatis infecta, en primer lugar, las células del epitelio columnar de las mucosas. Los receptores de ácido siálico para los CE se localizan, fundamentalmente, en las células del epitelio cilíndrico no ciliado, cuboidal y de transición presente en las

membranas mucosas de la uretra, endocérvix, endometrio, trompas de Falopio, ano, recto, aparato respiratorio y conjuntiva. A través de mínimas laceraciones o abrasiones, la bacteria logra acceder al huésped. Tras un periodo de incubación de 7 a 14 días, aparecen las manifestaciones clínicas debidas a la destrucción directa de las células durante la replicación y a la respuesta inflamatoria del organismo.

Los serovares invasivos, causantes del LGV, se replican en los fagocitos mononucleares y producen lesiones en los ganglios linfáticos dando lugar a la formación de granulomas. Las lesiones se pueden volver necróticas, atraer a los leucocitos polimorfonucleares y desencadenar un proceso inflamatorio que se extiende a los tejidos circundantes. Se estimula una respuesta inflamatoria grave con producción de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas. La posterior rotura del ganglio linfático lleva a la formación de abscesos o de fístulas.

La infección no confiere inmunidad duradera¹⁸³. Por el contrario, la reinfección induce una importante respuesta inflamatoria característica con posterior daño tisular. Esta respuesta origina cicatrización con esterilidad y disfunción sexual en individuos infectados con biovares genitales y pérdida de visión en pacientes con infecciones oculares crónicas, ocasionadas por el biovar ocular o el tracoma.

1.8.-INFECCIONES GENITOURINARIAS DEBIDAS A *C. trachomatis*

C. trachomatis está considerado el patógeno de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial^{44,45}. En 1999, la OMS estimó en 92 millones los casos nuevos por año, de éstos 5 millones son diagnosticados en Europa Occidental y el mismo número de pacientes son registrados en Europa del Este y Asia Central¹.

Aunque el principal impacto de la infección es dirigido a la salud reproductiva de la mujer, también infecta a hombres y niños. Se reconoce como la principal causa de EPI en mujeres, incluso algunas de ellas aparentemente padecen una infección cervical no complicada, pero ya tienen infección del tracto genital alto de forma subclínica. Además, en éstas puede dar lugar a infertilidad, embarazos ectópicos, bartolinitis, endometritis, perihepatitis sin olvidar la transmisión vertical al neonato. En los varones

ocasiona epididimitis y en ambos, conjuntivitis, artritis reactivas y síndrome uretral (tabla 3).

Tabla 3: Manifestaciones clínicas y complicaciones de la infección por *C. trachomatis*

SEROTIPOS	MANIFESTACIONES CLÍNICAS	COMPLICACIONES
A - C	Queratoconjuntivitis	Tracoma de inclusión Ceguera
D - K	♂: Uretritis, proctitis	Epididimitis
	♀: Cervicitis, uretritis	Endometritis, salpingitis, dolor pélvico, embarazo ectópico, perihepatitis, infertilidad
	Ambos: conjuntivitis	Síndrome de Reiter, artritis reactiva
	Oftalmia neonatal Neumonía neonatal	
L1- L3	LGV	Fibrosis, síndrome rectal inguinal severo, proctitis, elefantiasis genital

Modificado de Bébéar y Barbeyrac, 2009¹⁹.

Estudios epidemiológicos sugieren que la infección por *C. trachomatis* también supone un incremento en el riesgo de infección por el VIH^{46, 47} y del carcinoma de cérvix, ya que se cree que esta bacteria puede actuar como posible cofactor en la activación oncogénica del virus del papiloma humano (VPH)⁴⁸⁻⁵⁰.

El mayor desafío para el control de la infección es que, un 60%-80% de las mujeres y un 30-50% de los varones que se infectan, no experimentan ningún síntoma. Esto da como resultado un gran reservorio de individuos infectados, no reconocidos, que son capaces de transmitir la infección a sus parejas sexuales. A esto contribuye el hecho de que son frecuentes las infecciones recurrentes, porque la inmunidad que aparece después de esta infección es específica, pero sólo parcialmente protectora¹⁹³.

1.8.1.-Manifestaciones clínicas en mujeres

Aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas, las manifestaciones clínicas incluyen incremento en la secreción vaginal, ardor al orinar, irritación en el área que rodea a la vagina, cervicitis, uretritis, sangrado poscoital u ocasional y, en

infecciones más severas, endometritis y EPI (figura 8). Otras complicaciones son infertilidad, embarazo ectópico, ruptura prematura de membranas, infecciones puerperales y perihepatitis⁵¹.

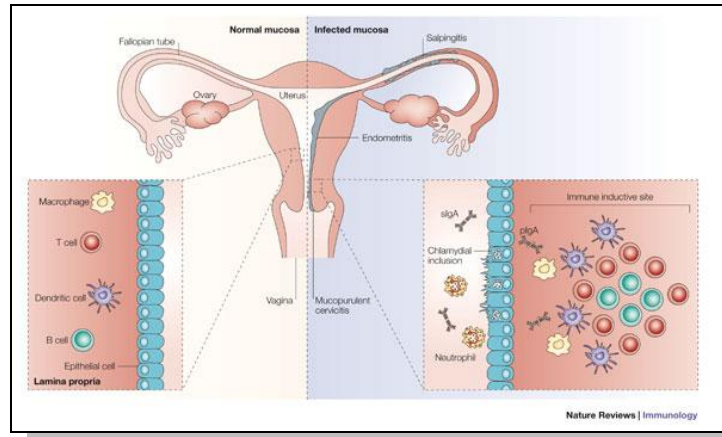


Figura 8: Resultado del ascenso de la infección por *C. trachomatis* (tomado de www.readcube.com)

Algunos estudios han reportado que en un rango comprendido entre el 50-60 % de las mujeres sintomáticas, se presenta infección tanto del cérvix como de la uretra y un 30% tiene sólo infección cervical^{51, 52}. Las infecciones por *C. trachomatis* producen una inmunopatología tubárica severa, a pesar de la ausencia de síntomas, y en más del 50 % de mujeres con oclusión tubárica no se reporta historia previa de inflamación pélvica⁵¹⁻⁵³.

1.8.1.1.-Cervicitis mucopurulenta

La cervicitis es la inflamación del epitelio cilíndrico y del subepitelio del endocérvix. La causada por *C. trachomatis* es un proceso muy frecuente entre las mujeres sexualmente activas, aunque la mayoría de las veces cursa de forma asintomática. El examen del cuello del útero con espéculo pone de manifiesto edema, facilidad para el sangrado en la zona de ectopia cervical, y presencia de exudado mucopurulento endocervical de color amarillento (figura 9).

Aunque se pueden detectar leucocitos con la tinción de Gram y ser útil en el diagnóstico de la infección, no es un criterio estandarizado ya que presenta un bajo valor predictivo positivo. El examen citológico muestra un predominio de neutrófilos, pero también puede observarse un infiltrado inflamatorio compuesto por

linfocitos, plasmocitos e histiocitos⁵². Además esta infección parece estar relacionada con un aumento en el riesgo de adquisición del VIH⁴⁶.



Figura 9 (izquierda): Cérvix uterino con secreción mucopurulenta (tomado de www2a.cdc.gov)



Figura 10 (derecha): Cérvix uterino sano. Tomado de ([tomado de www2a.cdc.gov](http://www2a.cdc.gov))

1.8.1.2.- Enfermedad pélvica inflamatoria (EPI)

La EPI comprende un conjunto de infecciones del tracto genital que incluyen endometritis, salpingitis, absceso tubo-ovárico y/o peritonitis pélvica. Esta enfermedad se produce como consecuencia de la diseminación intraluminal del microorganismo por todo el aparato genital femenino. El ascenso de la bacteria tiene lugar desde el cuello uterino o la vagina, hasta el endometrio, las trompas de Falopio y/o las estructuras adyacentes⁵⁴⁻⁵⁶. Los síntomas, que resultan de la expansión de la infección, pueden ser sutiles o incluir dolor hipogástrico y metrorragias (tabla 4). A la exploración, el útero y especialmente los anejos son dolorosos.

C. trachomatis provoca aproximadamente la mitad de casos de EPI en los países desarrollados. Tanto en Europa como en Estados Unidos se ha atribuido un mayor porcentaje de EPI a *C. trachomatis* que a *N. gonorrhoeae*^{57, 58}.

Las mujeres que sufren EPI tienen mayor riesgo de padecer secuelas a largo plazo, como dolor pélvico crónico o EPI recurrente⁵⁹. Además, la salpingitis silente es una de las principales causas de infertilidad y embarazos ectópicos en mujeres infectadas con este microorganismo, debido a la formación de adherencias peritubarias, hidrosálpinx y fibrosis intramural^{56, 60-63}. El riesgo de infertilidad después de la infección por *C. trachomatis* no se conoce pero, entre un 64% y un 90% de las mujeres infértiles por oclusión tubárica tienen anticuerpos contra *C. trachomatis* lo cual es de 2 a 8 veces mayor que los hallazgos en mujeres infértiles por otras causas⁵³.

Se estima que dos tercios de todos los casos de infertilidad debida a un factor tubárico y una tercera parte de todos los casos de embarazo ectópico pueden ser debidos a una infección por *C. trachomatis* no diagnosticada. Esta es la razón de recomendar el cribado sistemático a mujeres en edad fértil. Sin embargo la persistencia y por tanto la mayor probabilidad de desarrollar complicaciones puede estar relacionada también con el tipo de genotipo.

Tabla 4: Manifestaciones clínicas en mujeres con EPI

Exudado anormal
Sangrado intermenstrual
Sangrado postcoital
Fiebre
Frecuencia urinaria
Dolor abdominal bajo
Naúseas y vómitos

1.8.1.3.-Síndrome uretral

El síndrome uretral en la mujer, presenta una sintomatología similar a la cistitis consistente en disuria, poliaquiuria, tenesmo vesical y piuria, pero con urocultivo negativo o bacteriuria no significativa ($< 10^3$ colonias/ml) para los gérmenes que habitualmente ocasionan este tipo de infecciones⁶⁴. Tal como sucede en los varones, esta bacteria se encuentra en la uretra de muchas mujeres que no presentan sintomatología alguna⁵². Son datos clínicos sugestivos de síndrome uretral los reflejados en la tabla 5.

Tabla 5: Datos clínicos sugestivos de síndrome uretral en mujeres.

Paciente joven.
Instauración lenta y solapada (> 7 días).
Ausencia de otros signos de inflamación vesical, como molestia suprapúbica y microhematuria
Cambio reciente de pareja sexual o si la pareja presentó uretritis.
Coexistencia de cervicitis mucopurulenta.

1.8.2.-Infecciones en mujeres gestantes

Durante la gestación ocurren marcados cambios del medio hormonal, debido a lo cual se produce un reemplazo de Lactobacilos de Doderlein volviéndose el pH vaginal

menos ácido. Se favorece así, la proliferación de diferentes agentes patógenos, haciendo de las infecciones cérvico-vaginales un trastorno frecuente durante la gestación, a menudo difícil de erradicar⁶⁵.

Existe cada día más evidencia de que la infección por *C. trachomatis* puede causar una serie de complicaciones en el embarazo entre las que se encuentran: aborto temprano y tardío, infección fetal intrauterina y neonatal, parto prematuro, ruptura prematura de membranas, corioamnionitis y endometritis post parto⁶⁶⁻⁶⁸. Estudios realizados en poblaciones de mujeres embarazadas, demuestran que éstas presentan mayor riesgo de partos prematuros si contraen la infección por *C. trachomatis* antes de la semana 32 de gestación^{69, 70}. Se ha encontrado ADN de esta bacteria junto con hallazgos histopatológicos de infección placentaria, en un porcentaje elevado de placentas pertenecientes a estas mujeres. Con el objetivo de mejorar estas complicaciones debería ser una infección a tener en cuenta durante el embarazo, sobre todo en mujeres jóvenes y aquellas que presentan factores de riesgo para la adquisición de esta infección.

1.8.3.-INFECCIONES EN RECIÉN NACIDOS

Aproximadamente entre el 60 y el 70% de los recién nacidos que atraviesan un canal cervical colonizado por esta bacteria pueden adquirir la infección en el momento del parto. Este riesgo disminuye a un 20% cuando se realiza una cesárea, existiendo sólo casos anecdóticos de contagio con membranas amniocoriónicas íntegras⁷¹.

1.8.3.1.-Conjuntivitis de inclusión perinatal

Del 22 al 44% de los niños nacidos de pacientes infectadas presentarán conjuntivitis neonatal. Es la manifestación clínica más frecuentemente encontrada en los neonatos expuestos (18-50%). Después de un periodo de incubación variable aparecen las manifestaciones clínicas que no difieren de las del adulto, con exudados progresivamente más purulentos, enrojecimiento y engrosamiento conjuntival.

En asociación con las conjuntivitis puede producirse rinitis purulenta y, en las niñas, vulvovaginitis. El diagnóstico diferencial debe establecerse con la infección

gonocócica. Las infecciones no tratadas pueden durar hasta 12 meses, durante los cuales se produce cicatrización y vascularización corneal⁷².

1.8.3.2.-Neumonía del lactante

El 11-20% de los niños nacidos de madres infectadas desarrollan neumonía por *C. trachomatis*. Por lo general, la consulta se realiza entre la semana 4 y la 11, a pesar de que los síntomas pueden haberse iniciado unas 3 semanas antes. El 50% tiene antecedentes de conjuntivitis y más del 50% alteraciones en el oído medio. La mayoría presenta obstrucción nasal, mucosidad abundante, taquipnea y tos, que a veces es paroxística⁷³.

Es característico de esta patología, la ausencia de fiebre y presencia en la radiografía de tórax, de infiltrados intersticiales bilaterales. En la analítica destacan hipereosinofilia, la hipoxemia y la elevación de inmunoglobulinas. En niños más pequeños, la infección puede ser más severa con episodios de apnea y de insuficiencia respiratoria. En otros casos, el cuadro clínico es más leve y puede persistir semanas o meses. El seguimiento clínico de los lactantes diagnosticados de neumonía por *C. trachomatis* ha demostrado una incidencia superior a la normal de asma bronquial o de alteraciones en las pruebas de función respiratoria⁷⁴.

La infección perinatal por *C. trachomatis* puede persistir en la nasofaringe, el aparato urogenital o el recto durante más de 2 años. Las madres de niños con infección por esta bacteria, deben ser evaluadas y tratadas apropiadamente, para prevenir futuras complicaciones.

1.8.4.-Manifestaciones clínicas en hombres

1.8.4.1.-Uretritis no gonocócica (UNG)

C. trachomatis ocasiona alrededor de la tercera parte de casos de UNG en los varones heterosexuales, y un porcentaje algo menor de dicha infección en los varones homosexuales. El resto de casos de UNG está producido por diversas bacterias, como *U. urealyticum*, *M. genitalium*, protozoos como *T. vaginalis*, o virus como el del *herpes simplex*.

El síntoma fundamental de la uretritis es la presencia de exudado uretral. Otros síntomas frecuentes son la disuria y el prurito. El meato de la uretra, suele estar eritematoso y doloroso al tacto. El diagnóstico de esta infección, se realiza generalmente al detectar leucocitos en el exudado de la uretra. Una prueba sencilla y no invasiva que permite también diagnosticar la uretritis es la detección de piuria, mediante la técnica de la esterasa leucocitaria, en una muestra de orina obtenida al principio de la micción.

La sintomatología que produce *C. trachomatis* suele ser menos intensa con un exudado menos purulento que el que produce *N. gonorrhoeae*, aunque la clínica no es suficientemente fiable para distinguir ambas etiologías. Las infecciones uretrales asintomáticas por *C. trachomatis* son muy frecuentes, de modo que, según algunos estudios, están presentes en hasta el 10% de varones jóvenes sexualmente activos^{75,76}.

1.8.4.2.-Epididimitis

Cuando *C. trachomatis* se disemina desde la uretra al epidídimo, causa epididimitis (en 1-3% de los hombres infectados). Es la principal causa de epididimitis en varones heterosexuales, sexualmente activos menores de 40 años⁷⁷. *N. gonorrhoeae* ocasiona el resto de casos en dicho grupo de personas. No son raras las infecciones mixtas por ambos microorganismos. Además, la epididimitis, con frecuencia se acompaña de uretritis, sintomática o no. La epididimitis producida por *C. trachomatis* se presenta con dolor escrotal unilateral, fiebre, y aumento de tamaño y dolor en el epidídimo. La intensidad del cuadro varía mucho de unos casos a otros, pero en ocasiones requiere el ingreso hospitalario. El diagnóstico diferencial de este proceso debe realizarse fundamentalmente con la torsión testicular, mediante estudios con radioisótopos, *Doppler* o exploración quirúrgica.

1.8.4.3.-Proctitis

C. trachomatis produce proctitis en varones homosexuales que practican el coito anal receptivo o en mujeres heterosexuales que practican el coito anal. La mayoría de casos están producidos por los serotipos D a K, pero en ocasiones también la producen los serotipos L1 a L3.

La proctitis causada por esta bacteria es oligosintomática o completamente asintomática⁷⁸, a diferencia de lo que sucede cuando está producida por *N. gonorrhoeae*, que produce cuadros mucho más intensos. Los síntomas más frecuentes son el dolor perianal, el tenesmo rectal y la emisión de secreciones mucosas, y ocasionalmente sanguinolentas, por el ano. La tinción de Gram de estas secreciones muestra la presencia de leucocitos. La anoscopia pone de manifiesto una ligera inflamación que afecta al ano y a la zona más distal del recto.

Los casos de proctitis producidos por los serotipos L1 a L3 tienden a ser más intensos, y no es raro que se manifiesten con ulceraciones de la mucosa, en cuyo caso debe realizarse el diagnóstico diferencial con la proctitis herpética y la enfermedad inflamatoria intestinal^{79, 83}. Si no son correctamente tratados, estos procesos pueden complicarse con la aparición de abscesos perirectales y fístulas perineales, en los que suele jugar un papel importante la sobreinfección por bacterias diferentes a las clamidias. Otra posible complicación es el desarrollo de estenosis rectales, que a veces son difíciles de distinguir de las neoplasias del recto.

1.9.-LINFOGRANULOMA VENÉREO

El LGV o enfermedad de Nicolás-Favre es una infección sistémica crónica producida por los serovares L de *C. trachomatis*⁸⁰. Se trata habitualmente de una enfermedad de transmisión sexual, pero también existen casos de contagio por contacto personal, a través de fómites o tras la exposición al germen en el laboratorio. Es más frecuente en varones homosexuales, con una frecuencia relativa seis veces mayor respecto a las mujeres.

Es endémica en países en vías de desarrollo, especialmente del sudeste de Asia, Centro y Sur de América y África. Durante décadas fue considerada una enfermedad rara en los países desarrollados, considerándose la mayoría de los casos importados. En el año 2000, en Holanda, se comenzaron a informar casos de LGV en varones homosexuales, detectados a partir de muestras recogidas por el servicio municipal de la salud de Ámsterdam. Desde entonces, han aparecido brotes en hombres homosexuales de Europa, Norte América y Australia.

La bacteria presenta un camino de entrada al organismo que se muestra en la figura 11. El curso de la infección se divide en tres estadios: lesiones genitales primarias, afectación linfática y por último, formación de fístulas, estenosis rectal y obstrucción linfática crónica (tabla 6).

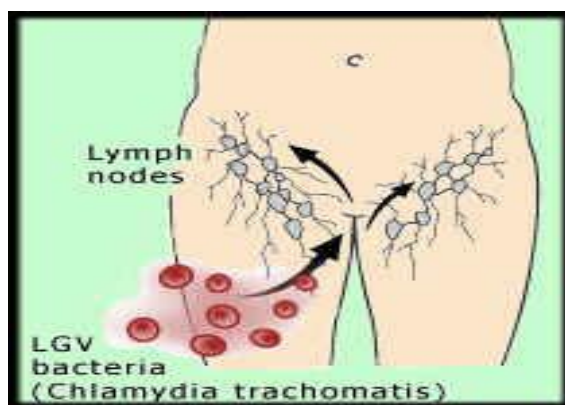


Figura 11: Vía de entrada de las cepas causantes del LGV en el cuerpo humano a través del sistema linfático (tomado de www.indepthlearning.org).

Tabla 6: Fases clínicas de la infección por las cepas L de *C. trachomatis*.

ESTADÍO	TIEMPO TRAS INFECCIÓN	CLÍNICA
Primario	3-30 días	Lesiones urogenitales:
Secundario	2-6 semanas tras infección	Afectación linfática
Terciario	Años	Proctitis, fístulas, estenosis

1.9.1.-Estadío primario

De 3 a 30 días después del contagio se produce una infección genital primaria, consistente en una pequeña lesión vesicular, papular o ulcerada, rodeada de un halo eritematoso y no dolorosa. Ésta aparece en el pene, en los labios vaginales o en la pared vaginal. Se puede observar, aunque con mucha menor frecuencia, en otros lugares como la uretra, el cuello del útero, el recto, la lengua o los dedos. La mayor parte de las veces la lesión pasa inadvertida, especialmente en las mujeres, y se resuelve espontáneamente, sin dejar cicatriz. Se calcula que sólo un 4% de los pacientes con LGV son diagnosticados en esta fase de la infección⁸¹. La apariencia clínica, en este estadio, puede presentar similitud con otras ITS como sífilis, chancroide, donovaniosis, herpes simple o granuloma inguinal. Por ello, es muy importante un buen diagnóstico diferencial para evitar fallos en la determinación del LGV.

1.9.2.-Estadio secundario

Entre 2 y 6 semanas tras la lesión primaria, desde el lugar de la infección el microorganismo pasa a los vasos linfáticos regionales. El diagnóstico de la infección suele hacerse en esta fase, debido a la acusada afectación linfática que produce. La ubicación de la lesión primaria determina en gran parte la localización de la linfadenopatía, que puede ir acompañada o no de síntomas constitucionales (fiebre, cefalea, anorexia y dolor difuso). Cuando la lesión primaria involucra el pene y la región vulvar, hay afección de los ganglios linfáticos inguinales y femorales y produce el típico síndrome inguinal, la forma de presentación más frecuente de LGV. La presentación clínica es a menudo unilateral, dolorosa, al inicio es móvil, pero después se fija a la piel, y se acompaña de eritema y aumento de la temperatura local. Si se afectan los nódulos femorales, se produce el signo de Groove o signo de la hendidura patognomónico del LGV. Cabe destacar que este signo puede aparecer también en pacientes con linfomas no Hodking, en quienes debe hacerse el diagnóstico diferencial con LGV⁸². En la mujer, la linfadenitis inguinal es inusual. Sin embargo, pueden verse afectados los nódulos linfáticos ilíacos y pueden producirse adherencias en la pelvis, que conllevan importantes dolores abdominales.

Si la infección primaria se presenta en la región ano rectal, la adenopatía se encuentra al nivel de los linfáticos ilíacos y obturador. El síndrome rectal es la forma más común de presentación en la mujer y en los varones homosexuales. En este síndrome no se detectan adenopatías, ya que el drenaje linfático del recto es hacia los ganglios pararectales e ilíacos internos. Se pueden observar ulceraciones de bordes irregulares en la mucosa rectal y linforroides a través de la anoscopia. Las complicaciones rectales más frecuentes son la formación de abscesos perirectales o fístulas.

1.9.3.-Estadio terciario

La infección no tratada puede progresar, dando lugar a destrucción del tejido epitelial que es reemplazado por tejido granulomatoso e infiltrados de células plasmáticas, induciendo unos hallazgos histológicos y endoscópicos muy parecidos a los que se producen en la enfermedad de Crohn^{80, 83-85}. También puede haber daño rectal, uretral, estenosis y, en mujeres, formación de fístulas recto-vaginales, con casos recogidos en la literatura de 30 años de evolución^{84, 86, 87}. En los casos más extremos,

debido a la obstrucción linfática crónica, se produce elefantiasis del pene y/o escroto en los hombres y estiomene en mujeres. Esta grave complicación es poco común, los pocos casos recogidos en la literatura se encuentran fundamentalmente en países tropicales. Este proceso crónico, que produce alargamiento hipertrófico y ulceración de los genitales externos, no es completamente reversible con terapia medicamentosa, siendo necesaria la resección quirúrgica. Por ello, es de vital importancia el diagnóstico del LGV en una fase temprana, para evitar el desarrollo de estas deformidades, que provocan angustia mental e incapacidad física en los pacientes que las desarrollan.

1.10.-TRACOMA

El tracoma es un tipo de conjuntivitis crónica producida por los serotipos A, B, Ba y C de *C. trachomatis*, propia de ambientes donde existe hacinamiento con malas condiciones sanitarias. Se estima que 500 millones de sujetos están infectados a nivel mundial, y que como consecuencia de ello entre 7 y 9 millones de personas sufren ceguera⁸⁸.

Es una infección endémica en Oriente Medio, el norte de África e India (figura 12). En estas zonas, la infección se produce por primera vez en la niñez, pero son habituales las reinfecciones. Se transmite mediante el intercambio frecuente de las secreciones oculares, a través de las manos, la ropa infectada y las moscas de las personas infectadas a los ojos de otras sanas.

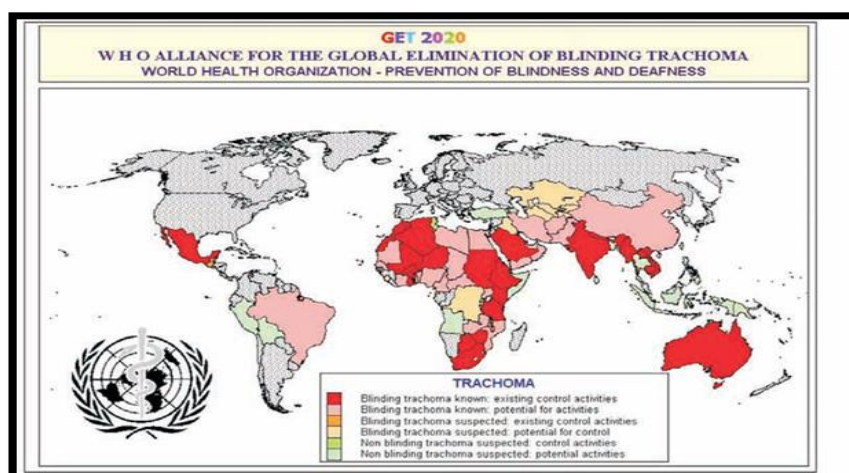


Figura 12: Distribución de casos de ceguera por tracoma a nivel mundial (www.who.int)

Inicialmente, los pacientes tienen una conjuntivitis folicular con inflamación difusa que afecta a toda la conjuntiva. Conforme progresa la enfermedad se van presentando cicatrices que provocan la retracción del párpado del paciente. Las pestañas que crecen hacia dentro, producen excoiaciones en la córnea y finalmente ocasionan una ulceración corneal, con cicatrización, formación de *pannus* (invasión de los vasos de la córnea) y pérdida de visión (figura 13).

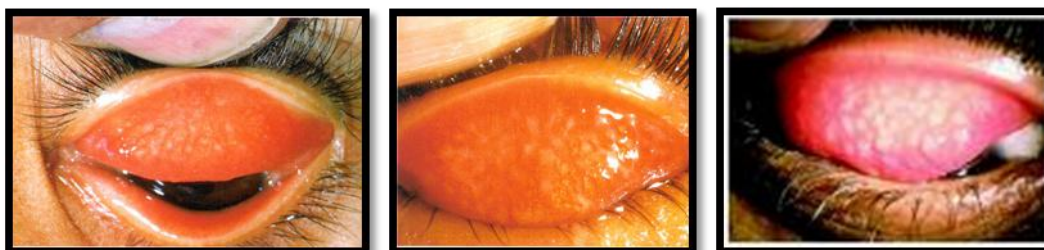


Figura 13: Evolución clínica del tracoma (tomado de www.who.int).

Esta infección afecta fundamentalmente a los niños pequeños, los cuales constituyen el principal reservorio en las áreas endémicas. La incidencia es menor en los niños mayores y en los adolescentes; sin embargo, los casos de ceguera continúan aumentando durante la edad adulta conforme progresa la enfermedad.

Para controlar la enfermedad, la OMS formó, en 1997, la Alianza para la Eliminación Global del Tracoma para el 2020 (más conocida como GET 2020), en colaboración con representantes del gobierno, de la investigación y de los sectores sin y con ánimo de lucro (figura 14).

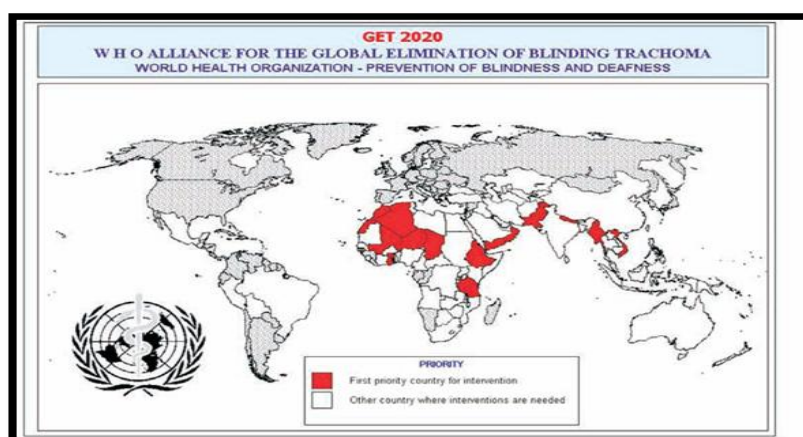


Figura 14: Países de actuación prioritaria para la erradicación del tracoma (www.who.int)

El control del tracoma fue priorizado por la Organización Mundial de la Salud desde 1998 y ratificado en la Resolución CD49.R19 en la Región de las Américas, como prioridad por

parte de los Ministros de Salud para eliminar esta enfermedad al llegar 2015. Los objetivos eran disminuir los casos nuevos de ceguera causada por tracoma (reducción de la prevalencia de triquiasis tracomatosa a menos de 1 caso por cada 1.000 personas y reducción de la prevalencia de tracoma folicular o inflamatorio a menos de 5% en niños de 1-9 años de edad).

Para tal fin, se diseñó una estrategia a nivel mundial que incluye cuatro componentes básicos, dirigidos al tratamiento farmacológico de la infección, al tratamiento quirúrgico de las secuelas inflamatorias y a la implementación de medidas sanitarias y educativas tendientes a prevenir la aparición de nuevos casos (conocida como estrategia SAFE)⁸⁹.

1.11.-OTRAS INFECCIONES

1.11.1.-Conjuntivitis de inclusión en adultos

La mayor parte de los casos de conjuntivitis de inclusión de los adultos, se registran en individuos de edades comprendidas entre 18 y 30 años, probablemente la infección genital precede a la afectación ocular. Se cree que las vías de transmisión son la autoinoculación y el contacto oral-genital⁹⁰.

1.11.2.-Síndrome de Reiter

El síndrome de Reiter es una complicación rara de la infección por *C. trachomatis* no tratada. Es un tipo de artritis reactiva que incluye uretritis en hombres o cervicitis en mujeres, conjuntivitis y erupciones mucocutáneas características. En las mujeres tiene lugar con menor frecuencia (ratio 5:1). Cuando se asocia a uretritis, *C. trachomatis* es el principal responsable de este síndrome, si bien en muchos casos la uretritis es subclínica. La artritis comienza con múltiples articulaciones afectadas, con predilección por las localizadas en las extremidades inferiores. Las erupciones son papuloescamosas y tienden a ocurrir en las palmas de las manos y en la planta de los pies. Los primeros síntomas suelen aparecer a los 3-4 meses tras la infección. Se sospecha que esta enfermedad tiene una patogenia autoinmune, favorecida por factores genéticos, ya que la mayoría de personas que lo presentan tienen el antígeno de histocompatibilidad HLA-B27⁹¹. Los casos de artritis reactiva debidos a una infección primaria por *C. trachomatis*, clásicamente se han asociado a los serovares D-K, sin embargo en los últimos años se han descrito casos asociados a la infección por el

serovar L2b. En estos pacientes hay un elevado nivel de anticuerpos en suero y líquido sinovial frente a hsp60.

1.11.3.-Perihepatitis

La perihepatitis o síndrome de Fitz-Hugh–Curtis fue descrita originalmente como una complicación de la EPI causada por *N. gonorrhoeae*, sin embargo en la actualidad este proceso está producido la mayoría de las veces por *C. trachomatis*⁹². Ocurre en mujeres sexualmente activas, por difusión de la bacteria a través del peritoneo provocando ascitis y perihepatitis. Clínicamente se presenta como un cuadro agudo o subagudo de dolor en el hipocondrio derecho y fiebre, en muchos casos con escasa o nula sintomatología en el hipogastrio. El diagnóstico diferencial debe realizarse con la colecistitis aguda, para lo cual es de gran utilidad la ecografía .

1.11.4.-Otras manifestaciones clínicas

Ocasionalmente se han comunicado casos aislados de otros tipos de infecciones, entre las que figuran endocarditis, peritonitis, infecciones respiratorias altas, pleuritis, periapendicitis, y neumonías en adultos. Presumiblemente estas infecciones se producen como consecuencia de la diseminación hematógica del microorganismo, a partir de infecciones genitales.

1.12.-DIFERENCIAS EN EL CURSO CLÍNICO DE LA INFECCIÓN.

A pesar de todas las investigaciones que se están llevando a cabo en el campo de la infección por clamidia, todavía no está del todo claro porque algunas personas son más susceptibles a la infección desarrollando síntomas y otras, en cambio, no refieren sintomatología. Mientras es conocido que esta bacteria puede ocasionar infecciones de tipo asintomático, los porcentajes correspondientes a estos pacientes son escasos y los rangos varían entre el 60-80% en mujeres y el 30-50% en hombres^{93,94}.

En algunas mujeres la infección puede persistir por años y ascender al tracto genital superior dando lugar al desarrollo de complicaciones graves como son EPI, embarazos ectópicos e infertilidad de origen tubárico. En otras, por el contrario, la infección aclara rápidamente sin consecuencias clínicas. Se cree que ciertas reacciones

inmunes que ocurren en las trompas de Falopio influyen en el curso clínico de la infección.

Por otra parte, las infecciones de repetición están asociadas con el desarrollo de complicaciones tardías y se ha visto que algunas infecciones tratadas reaparecen a pesar del tratamiento de los contactos. Sin embargo, la infección da lugar a complicaciones secundarias sólo en algunos pacientes. Además, no todos los contactos de personas positivas para *C. trachomatis* son también positivos (descartando factores como el uso del condón). La transmisión de la infección desde el paciente positivo a sus parejas es observado en un 47-50% de los casos, con una frecuencia más baja si se trata de personas con un curso asintomático de la infección.

Para *C. trachomatis* así como para otros muchos agentes infecciosos, está demostrado que diferencias en la susceptibilidad y severidad de la infección son debidas a una compleja interacción entre la bacteria, el entorno y los factores del huésped (figura 15).

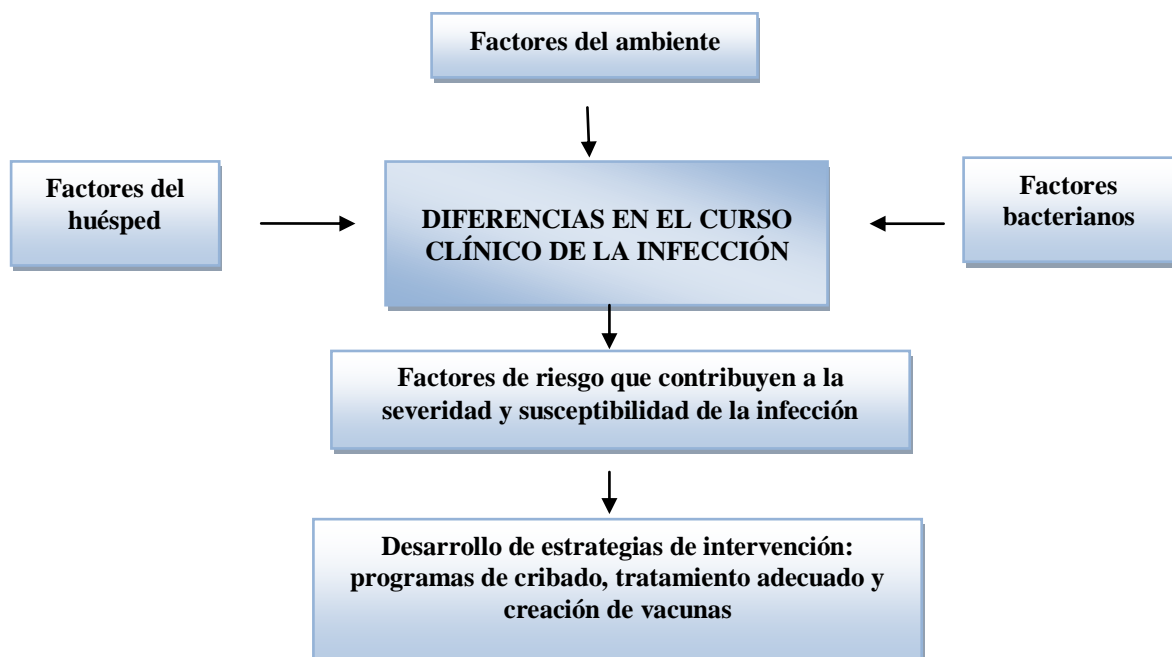


Figura 15: Factores que influyen en el desarrollo de la infección por *C. trachomatis*.

1.12.1.-Factores relacionados con la bacteria: genes *Omp*, *Inc* y *Pmp*

1.12.1.1.-Gen *ompA*

El gen *ompA* contiene cuatro secuencias variables (VS1-VS4) flanqueadas por cinco regiones constantes (CS1-CS5). Los dominios variables VS1 y VS2, de la proteína MOMP, contienen epítomos serovar-específicos^{7, 95}. Los dominios VS4 parece ser que influyen en la unión de los anticuerpos a VS1 y VS2. Las mutaciones que ocurren en los nucleótidos, pueden reflejar cambios en la secuencia de aminoácidos de la proteína. Sin embargo, los cambios en la secuencia de aminoácidos de CS son más a menudo silentes, debido a la importancia de éstos en el mantenimiento de la estructura transmembrana de la proteína MOMP¹³⁹.

1.12.1.2.-Genes *IncA*

C. trachomatis ocupa inclusiones durante todo su ciclo de desarrollo intracelular, produciéndose un conjunto de proteínas denominadas *Inc*, que incluyen a *IncA*. Éstas se localizan en la superficie de las inclusiones, dentro de las células infectadas. Las mutaciones en *IncA* se cree que están asociadas con formas de fusión aberrantes y probablemente éstas influyen en el desarrollo clínico de la infección. Existen estudios que muestran como mujeres infectadas con cepas no fusionables de la bacteria, presentan menos fiebre y son infectadas con un menor número de unidades formadoras de inclusión que aquellas infectadas con cepas de fusión salvajes¹³⁵. Esto sugiere la necesidad de programas de cribado para detectar y tratar infecciones que parecen inaparentes.

1.12.1.3.-Genes *Pmp*

Han sido recientemente descubiertos en *C. trachomatis* una familia de genes denominados *Pmp*, que codifican proteínas polimórficas de membrana, semejantes a proteínas transportadoras. Algunos estudios sugieren que la evolución de al menos uno de ellos (*PmpH*) codifica proteínas que juegan roles diferentes en la patogénesis⁹⁶⁻⁹⁸. Otras influyen en el polimorfismo que se produce en la síntesis de triptófano dando lugar a cambios funcionales en la sensibilidad del organismo infectado al IFN- γ .

1.12.1.4.- Zona de plasticidad

Existe una zona dentro del cromosoma clamidial denominada “zona de plasticidad”, que presenta una reorganización genética mucho mayor que otras zonas del cromosoma. Las mutaciones en ésta, reflejan diferencias en la síntesis de triptófano a

partir de indol. Esto podría ser importante para la persistencia de la bacteria dentro del epitelio del tracto genital, con importantes consecuencias para la transmisión de la infección, así como para las secuelas inflamatorias asociadas con la infección crónica^{98,99}.

1.12.2.- Factores ambientales

La susceptibilidad a la infección por *C. trachomatis* está influenciada por muchos factores incluyendo la presencia y composición de la flora vaginal. Las infecciones ocasionadas por esta bacteria producen un amplio rango de síntomas clínicos que también pueden ser provocados por otros microorganismos. El conocimiento del estado de co-infección y la susceptibilidad a la infección es un paso fundamental para diferenciar la evolución clínica entre las mujeres.

La complicación más importante tras una ITS, en las mujeres, es la EPI, la cuál es responsable de importantes problemas médicos, sociales y económicos. *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* o ambos, causan EPI en el 50% de los casos. Además, se ha demostrado resultados de la interacción y persistencia del VPH como el factor de riesgo más importante cuando hubo una infección previa por *C. trachomatis*¹⁰⁰.

1.12.3.- Factores del hospedador

Debido al curso asintomático de muchas infecciones ocasionadas por *C. trachomatis*, éstas son subestimadas y no diagnosticadas lo que favorece el desarrollo de la infección crónica favorecida por el ascenso y persistencia de la bacteria. Se cree que la inmunidad del hospedador juega un papel importante en el control de la infección. Hay estudios que sugieren que la respuesta autoinmune a la hsp60 humana puede desarrollar infecciones del tracto genital superior en mujeres. Esto puede ser consecuencia de la reactividad cruzada con un epitopo clamidial muy similar. Por otra parte, la identificación de genes que se encargan de regular la susceptibilidad y severidad de la infección, podría facilitar la identificación de mujeres con riesgo de adquirir la infección o desarrollar complicaciones tardías. Así se ha demostrado la relación entre la infertilidad de origen tubárico por *C. trachomatis* y los genes inmunoreguladores del hospedador. Esta bacteria se ha encontrado en sujetos que presentaban un determinado genotipo de IL-10, que se produce en una cantidad mucho mayor que otras interleucinas¹⁰¹.

1.13.-DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

La infección por *C. trachomatis* puede ser diagnosticada mediante estudios citológicos, aislamiento del microorganismo en cultivos celulares, métodos de detección antigénica, identificación de anticuerpos producidos por la infección y técnicas de biología molecular.

El éxito, en el diagnóstico de las infecciones por *C. trachomatis*, radica fundamentalmente en una correcta obtención de la muestra a analizar y del método analítico empleado. Dado que esta bacteria es intracelular obligada e infecta específicamente a las células columnares, las muestras deben recogerse raspando las paredes del sitio anatómico de tal modo que ésta, contenga el mayor número de células epiteliales o, si se trata de una adenopatía, realizando una correcta aspiración^{102, 103}. También pueden realizarse tomas de muestras no invasivas, recogidas por el propio paciente, como son el exudado vaginal y la orina, siempre y cuando el método diagnóstico a aplicar sea de una sensibilidad y especificidad muy alta¹⁰⁴ (tabla 7).

Tabla 7: Métodos diagnósticos recomendados para la determinación de *C.trachomatis*, en función del tipo de muestra.

MUESTRA	MÉTODO DIAGNÓSTICO				
	Microscopía	Cultivo	DA*	Hibridación*	TAAN [¶]
Conjuntival	+	+	+	+	+
Nasofarínge	-	+	-	-	+
Cervical	- ^a	+	+	+	+
Uretral	-	+	+	+	+
Rectal	-	+	+ ^b	-	+
Vulvar	-	-	-	-	+
Vaginal	-	-	-	-	+
Introital	-	-	-	-	+
Meatal	-	-	-	-	+
Orina	-	-	-	-	+
Bubo-aspirado	-	+	-	-	+
Semen	-	-	-	-	+ ^c

*Muestras positivas por EIA (enzima inmunoanálisis) o hibridación requieren confirmación por otro método diagnóstico [¶]Respecto a otras técnicas, las TAAN (técnicas de amplificación de ácidos nucleicos) son las más sensible y específicas. ^a La tinción de Papanicolau no es útil; ^b DA (detección antigénica) sólo mediante inmunofluorescencia directa; ^c No hay TAAN comerciales aprobadas, sin embargo esta técnica podría usarse con un protocolo validado. Resultados con baja carga bacteriana, no son siempre reproducibles.

Se calcula que alrededor del 30% de las muestras que se envían a los laboratorios de microbiología, para el estudio de la infección por *C. trachomatis*, no son las adecuadas. Esto afecta en especial a la sensibilidad del cultivo celular y de las

técnicas inmunológicas, mientras que las TAAN se ven menos afectadas por tratarse de técnicas más sensibles. La torunda debe ser específica de la técnica diagnóstica a emplear, de algodón, dracón o alginato cálcico¹⁰⁵. Nunca con mangos de madera o aluminio, ya que son sustancias tóxicas para la bacteria. La inoculación se realizará en un medio de transporte adecuado para preservar la viabilidad de la bacteria, como el tampón sacarosa fosfato (2SP; 0,2M sucrosa fosfato, 10µg gentamicina/ml, 25µg vancomicina/ml y 25U nistatina/ml). No pueden estar contenidos en éste, antibióticos de amplio espectro como tetraciclinas, macrólidos o penicilinas por su actividad frente a la bacteria.

El diagnóstico se debe realizar durante la primera semana después de la toma de muestra, si esto no es posible, y se va a emplear una TAAN, debe mantenerse almacenada a -70° C.

Es necesario seguir las instrucciones recogidas en cada una de las técnicas a emplear. Éstas incluyen el uso de hisopos o medios de transporte específicos ya que el empleo de otros materiales, podría interferir en la sensibilidad y/o especificidad del test.

Si se va a efectuar citología, cultivo o se pretende utilizar un método de detección antigénica, las muestras deben tener la mayor cantidad de células posibles, evitando que contengan mucosidad. Las localizaciones más adecuadas para su realización incluyen la conjuntiva en el caso de tracoma o conjuntivitis de inclusión; la uretra anterior en los varones y el canal endocervical o la uretra en las mujeres. El exudado vaginal no debe ser recogido si no se usa una TAAN. En las mujeres con salpingitis, las muestras tienen que proceder de la zona de la trompa de Falopio y ser recogidas por aspiración con aguja.

En otras situaciones clínicas la zona rectal, la nasofaringe y la faringe han de ser localizaciones, a tener en cuenta. En niños con neumonía, la muestra debe recogerse de la nasofaringe posterior o de la faringe. En el caso de sospechar una infección por cepas del serovar L, se considerará recoger muestras del aspirado del bubón, biopsia o exudados rectales y uretrales.

En cuanto al uso de las TAAN, dada su alta sensibilidad, éstas son idóneas para utilizar en muestras no invasivas como orina, exudado vaginal, introital o vulvar ¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

C. trachomatis es un biocontaminante que pertenece al nivel 2 de seguridad y no está considerado un agente patógeno peligroso. Sin embargo, han ocurrido casos esporádicos de conjuntivitis foliculares adquiridas en el laboratorio y neumonías o linfadenitis por exposición a aerosoles (producidos por sonicación o centrifugación) que contenían cepas de LGV.

1.13.1.-Citología

Debido a la naturaleza intracelular de la bacteria, el examen microscópico directo consiste en la detección de las inclusiones típicas de la infección en el raspado de los tejidos afectados, mediante la tinción de Papanicolau o de Giemsa ¹⁰⁴. Todas las tinciones se fundamentan en la presencia del glucógeno de las inclusiones citoplasmáticas clamidiales, que suelen tener una ubicación perinuclear. Se ha empleado sobre todo en la conjuntivitis pero posee una sensibilidad y una especificidad limitadas, por lo que su utilización es escasa.

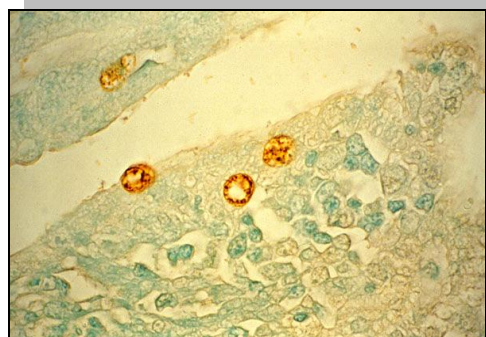
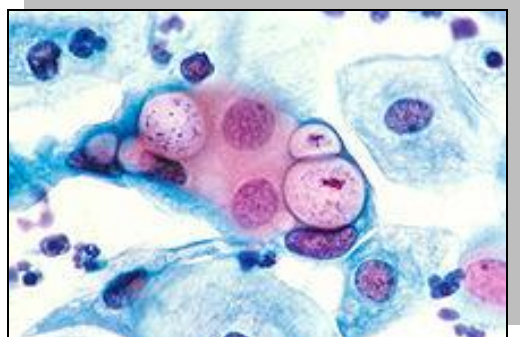


Figura 16 (izquierda): Tinción de Papanicolau (tomado de www.sciencephotolibrary.com)

Figura 17 (derecha): Tinción con Lugol (tomado de www.gfmer.ch)

1.13.2.-Cultivo celular

El cultivo celular de *C. trachomatis* representaba, hasta hace poco, el estándar de oro en el diagnóstico de las infecciones clamidiales ¹⁰⁴. Con una sensibilidad del 80-85%, ésta puede verse reducida por la calidad de la muestra, el sistema de transporte, el procedimiento de cultivo celular de cada laboratorio y el tipo de tinción utilizado en la identificación.

Las líneas celulares más utilizadas son las células McCoy (fibroblastos de ratón) (figura 18) tratadas con 5 yodo-2 dexosiridina o ciclohexamida. También se usan, HeLa299 (carcinoma humano) (figura 19), BHK-21 (células de ovario de hámster) y recientemente las células BGMK^{109, 110}. Los viales se incuban entre 48 y 72 horas a 36°C y posteriormente son fijados con metanol a temperatura ambiente durante 10 minutos. Las monocapas celulares se tiñen con yodo, Giemsa o anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína, dirigidos contra la proteína principal de la membrana exterior de la bacteria. Este último método es el preferido por muchos laboratorios.

El cultivo celular tiene la ventaja de que mantiene viables las bacterias para posteriores estudios, como puede ser los relacionados con resistencias antibióticas. Es la técnica de elección para resolver casos médico legales relacionados con abusos sexuales. Sus principales inconvenientes son su pobre sensibilidad, la necesidad de un transporte y conservación cuidadosos, su coste y la lentitud de los resultados.

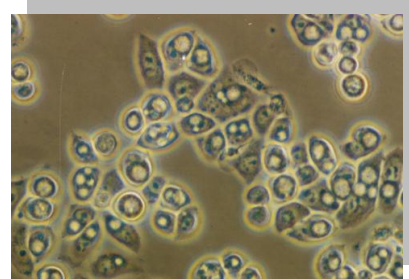
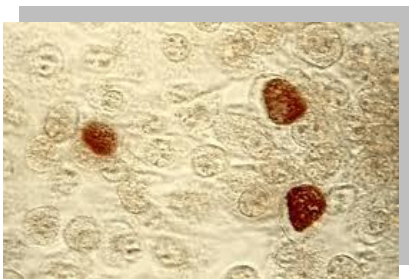


Figura 18 (izquierda): CI de *C. trachomatis* en medio celular McCoy (tomado de www.pathologyoutlines.com).
Figura 19 (derecha): cultivo celular HeLa tras 24h de infección por *C.trachomatis*(tomado de www.ispub.com).

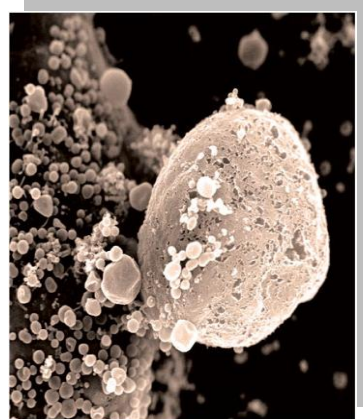
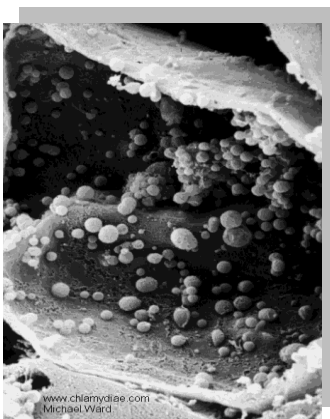


Figura 20 (izquierda): Fotografías de microscopio de campo electrónico (por M.E: Ward and C. Inman, Southampton Biomedical Imaging Unit) de una célula HeLa 229 infectada, 40 horas, por *C. trachomatis* (tomado de www.chlamydiae.com)
Figura 21 (derecha): *C. trachomatis* adherida a la superficie de la célula hospedadora (tomado de www.webpages.scu.edu)

Aproximadamente hace 20 años se introdujeron otros métodos diagnósticos, que facilitaron una disminución del coste y una mayor rapidez en la respuesta, que se detallan a continuación.

1.13.3.-Detección antigénica

Se han utilizado dos enfoques generales para la detección de antígenos de clamidia en las muestras clínicas, la tinción de inmunofluorescencia directa (IFD) con anticuerpos monoclonales teñidos con fluoresceína (figuras 22 y 23) y el inmunoanálisis de absorción ligada a enzimas (EIA). Las tinciones de inmunofluorescencia muestran una sensibilidad muy variable en función del antígeno utilizado (MOMP o LPS) y, además requieren de personal entrenado para una correcta interpretación¹¹¹.

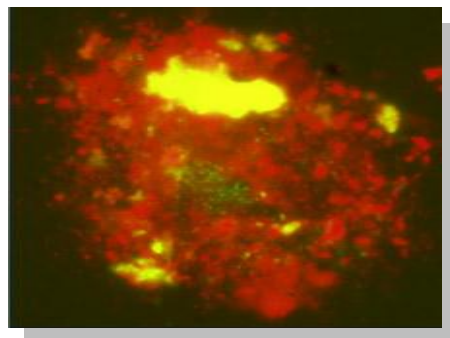
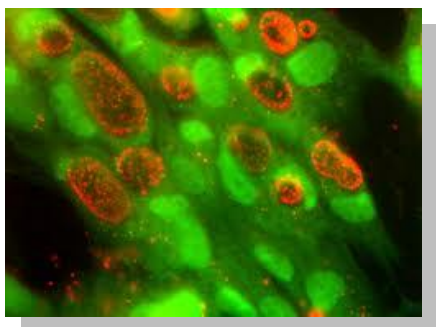


Figura 22 (izquierda): Cuerpos de inclusión de *C.trachomatis* en un cultivo celular teñido con anticuerpos marcados con fluoresceína (tomado de www.ispub.com)

Figura 23 (derecha): IFD positiva para *C.trachomatis* en un exudado faríngeo de un paciente con rinosinusitis crónica (tomado de www.imagenmed.com)

En las técnicas de enzimoimmunoanálisis, se utilizan anticuerpos monoclonales o policlonales contra el antígeno LPS común de grupo. Su uso en poblaciones de baja prevalencia está limitado por su escaso valor predictivo positivo. Algunos autores recomiendan realizar una prueba confirmatoria adicional. En cualquier caso, los reactivos comerciales de más fácil uso tienen una sensibilidad muy limitada (60-70%)¹⁰¹.

1.13.4.-Serología

En décadas pasadas los métodos serológicos no fueron totalmente satisfactorios para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* y, hoy en día aún existen controversias sobre su utilidad. Los niveles de anticuerpos IgG producidos durante una

infección por *C. trachomatis* se encuentran elevados por mucho tiempo, por lo que una prueba de anticuerpos positiva no distinguiría una infección anterior de una infección actual.

La presencia de anticuerpos IgM es un marcador inexacto de infección aguda en adolescentes y adultos, ya que a menudo no está presente. Una explicación sería que las personas infectadas previamente con *C. trachomatis*, u otra especie de *Chlamydia*, generan una respuesta anamnésica a una exposición reciente. Por otro lado, en el 70% de los pacientes la infección cursa de forma asintomática, por lo que los anticuerpos IgM ya no se encuentran presentes cuando se realiza el diagnóstico de infección¹¹². Sin embargo, se han descrito dos excepciones en cuanto a la utilidad en el diagnóstico de los anticuerpos IgM específicos: la primera es en el caso de recién nacidos con neumonía por *C. trachomatis*, y la segunda, en pacientes con LGV. Éstos, desarrollan una infección sistémica con una alta respuesta de anticuerpos comparada con los pacientes que muestran infección genital localizada.

El primer método serológico empleado, fue la prueba de fijación de complemento, utilizada ampliamente en los años setenta por su alta sensibilidad en infecciones sistémicas. Sin embargo, cayó en desuso por su baja sensibilidad en infecciones locales y fue sustituida por la microinmunofluorescencia (MIF).

Aunque la prueba de MIF no está disponible en el mercado, existen otras pruebas que miden la presencia de anticuerpos, ya sea por el método de ELISA o por inmunofluorescencia indirecta (IFI). La primera muestra una sensibilidad de 91% y la segunda de 97% con respecto a la técnica de MIF.

1.13.5.-TÉCNICAS MOLECULARES

1.13.5.1.-Hibridación.

Las técnicas de hibridación fueron los primeros test de biología molecular utilizados. Usan sondas de ADN específicas, marcadas con moléculas quimioluminiscentes, que son complementarias de una secuencia específica del ARN ribosómico de *C. trachomatis*¹¹³. Su sensibilidad es del 65%, similar al cultivo e inferior a la de las TAAN, ya que detectan ARN ribosómico. El ARNr persiste sólo 16 días,

indicando microorganismos metabólicamente activos y se destruye cuando las bacterias no son viables.

Hoy día las TAAN se reconocen como método de referencia para diagnosticar la infección por *C. trachomatis* (grado de recomendación A)¹¹⁴. Se estima que tienen una sensibilidad de 85-98 % y una especificidad del 95-99,9%, dependiendo de la muestra utilizada (tabla 8).

Los CDC estadounidenses recomiendan las TAAN a partir de diversos estudios multicéntricos realizados en todo el mundo, al ser más sensibles y específicas tanto para estudios de cribado poblacional, sea cual sea la prevalencia, como para el diagnóstico de pacientes sintomáticos. Las ventajas con relación al cultivo radican en que son más sensibles, igual de específicas y además pueden utilizarse con muestras no invasivas como son la orina y el exudado vaginal^{115,116}, donde se obtienen sensibilidades del 80-90%^{106,107}.

Las pruebas de amplificación mediante transcripción (TMA), utilizan como diana el ARN ribosómico de la bacteria, son sistemas isotérmicos que se basan en amplificación, diana enzimática y detección quimioluminiscente en un solo tubo. Algunos pueden detectar simultáneamente *C. trachomatis* y *N. gonorrhoeae*, con escasos problemas de inhibidores de amplificación. Otra prueba es la SDA, una técnica de amplificación con desplazamiento de hebra homogéneo y detección mediante transferencia de energía fluorescente. Es un sistema automatizado, cerrado y de rápidos resultados. Cabe mencionar, que está en desarrollo una RT-PCR con amplificación en una sola reacción de 3 dianas: plásmido críptico, MOMP y un control interno. Detecta todas las genovariedades, incluidas las del LGV, sin reacción cruzada con bacterias de faringe o tracto vaginal. En estudios clínicos que han evaluado un método automático de PCR se recogen sensibilidades del 89,7% en muestras endocervicales, 89,2% en orinas de mujeres, 88,6% en exudados uretrales masculinos y 90,3% en muestras de orina en hombres. En estos mismos estudios las sensibilidades obtenidas para cada sitio anatómico fueron 99,4% (endocérvix), 99,0% (orina femenina), 98,7% (uretra masculina) y 98,4% (orina masculina)^{108, 117}.

Los sitios de elección para toma de muestras para TAAN son cérvix, uretra y orina (grado de recomendación A)¹¹⁰. La Food and Drug Administration (FDA) estadounidense no ha aprobado las tomas de faringe, recto y vagina para métodos de detección de ácidos nucleicos, pero varios estudios demuestran su validez¹¹⁸⁻¹²⁰ (grado de recomendación A).

El moco y los microbicidas presentes en geles vaginales pueden interferir en la detección de los ácidos nucleicos. En un reciente estudio multicéntrico, dirigido por los CDC, se observó que la sangre menstrual no afectaba a los resultados. Hay varias técnicas para eliminar las sustancias inhibitorias, como la utilización de torundas secas, la dilución de las muestras, el tratamiento por calor, una combinación de calor y dilución, congelación-descongelación, y el mantenimiento de las muestras a 4 °C.

En orinas de mujeres, se puede reducir la inhibición de la amplificación eliminando la orina residual del fondo del tubo. La FDA (Food and Drug Administration) no ha aprobado la mezcla de muestras para realizar estas pruebas, dado que si la prevalencia de *C. trachomatis* en la población estudiada es baja, aumentan los falsos negativos, debido a que la concentración de ADN en las mezclas es menor. Las actuales TAAN pueden detectar una sola copia genómica y no necesitan que el microorganismo sea viable. Detectan genes que están presentes en múltiples copias, como los genes del plásmido críptico que están presentes en 10 copias.

En diciembre del 2006 en el condado de Halland, sudeste de Suecia, coincidiendo con un descenso de un 25% en la incidencia de *C. trachomatis*, se identificó una nueva cepa mutante de *C. trachomatis* (nvCT). Esta variante contiene en su secuencia una delección de 377 pb en el plásmido críptico, la región diana para algunas TAAN diseñadas por Roche (Cobas Amplicor y Cobas Taqman 48) y por Abbot (Abbot m2000) Las técnicas que no usan únicamente el plásmido críptico, como diana de detección sí pueden detectar esta variante. A pesar de que prácticamente todos los casos se han restringido a Suecia, también se han detectado episodios, en Dinamarca, Noruega, Irlanda y Francia¹²¹⁻¹²⁷.

Por último, está aumentando la evidencia de que, además de *C. trachomatis*, otras *Chlamydia* spp. y nuevos microorganismos identificados como *Chlamydia-like*,

que son flora comensal vaginal, pueden estar implicados en enfermedad obstétrica en humanos, como pérdidas fetales y partos prematuros. Para establecer con claridad su patogenia, se están desarrollando nuevos métodos diagnósticos que permitirán en los próximos 10 años establecer nuevas estrategias preventivas¹²⁸.

TABLA 8: Métodos de detección de *C.trachomatis* en muestras clínicas.

MÉTODO	TIEMPO DE RESPUESTA	VENTAJAS	DESVENTAJAS
CULTIVO CELULAR	72h	Especificidad Aislamiento	Sensibilidad 80-85%
DETECCIÓN ANTIGÉNICA			
IFD	45'	Sencillez Pruebas individuales	Sensibilidad 75-80% Subjetiva
EIA	4h	Automatización	Sensibilidad 75-80%
EIA rápido	30'	Bajo coste Pruebas individuales	Baja especificidad Confirmación
MÉTODOS MOLECULARES			
Hibridación de ADN	4h	Sensibilidad 95% Especificidad 99%	Sólo muestras de cérvix
Amplificación de ADN	2-4h	Sensibilidad >95% Especificidad 99%	Contaminación

Tomado de Bébear y Barbeyrac, 2009¹⁹.

EIA: Enzaimunanoálisis, IFD: inmunofluorescencia directa.

1.14.-GENOTIPADO

El genotipado del gen *ompA* es una herramienta útil para entender mejor la patogenia y epidemiología de la infección por *C. trachomatis*. Puede ayudar a distinguir entre nueva infección o infección persistente, en sujetos con infecciones de repetición y aplicarse a los seguimientos de contacto. Esto es importante en poblaciones consideradas de alto riesgo para adquirir la infección, ya que se ha estudiado que los diferentes genotipos presentan diferencias en la susceptibilidad o resistencia a la respuesta inmune del hospedador^{129, 130}. Por otro lado, es muy importante distinguir los genotipos invasivos (cepas L) de aquellos que no lo son debido a las graves complicaciones que pueden ocasionar los primeros.

Se han descrito varios métodos, entre los que destacan la PCR convencional anidada seguida de secuenciación, la PCR en tiempo real, empleando sondas específicas y el análisis del polimorfismo de longitud de los fragmentos de restricción (RFLP). La técnica MLST (Multi Locus Sequencing Typing), permite una mayor discriminación genotípica ya que es capaz de distinguir si la infección está producida por varios clones simultáneamente o si éstos han cambiado con el tiempo. También puede demostrar variaciones en las secuencias, cuando se aplica a muestras clínicas con genotipos más comunes como es el E.

1.14.1.-Asociación entre genotipos de *Chlamydia trachomatis* y manifestaciones clínicas.

Las manifestaciones clínicas ocasionadas por *C. trachomatis* son debidas a dos factores fundamentales; la respuesta inmune del hospedador (mediada por células y por la respuesta humoral) y la virulencia del genotipo infectante. Esta respuesta, está principalmente dirigida a epítomos codificados por los segmentos variables del gen *ompA*.

Existen diversos estudios que hablan de la asociación entre serovares y las manifestaciones clínicas que provocan en el individuo infectado¹³¹⁻¹³³. Los datos que nos encontramos en la literatura, muestran resultados contradictorios. Esto puede ser debido a la utilización de una cantidad de muestras insuficiente, que no permite detectar asociaciones fiables y/o a que algunos no establecen la posible relación con otros factores como sexo, edad o raza. También puede ser importante tener en cuenta la presencia o no de la, recientemente descrita, cepa no fusionable de *C. trachomatis*. Estas cepas ocupan inclusiones no fusogénicas, carentes en su membrana de la proteína IncA. Estos genotipos mutantes, ocasionan tanto en hombres como en mujeres, menos signos clínicos. En estas últimas, además también se han relacionado con menos síntomas de infección^{134, 135}.

Por otra parte, se ha postulado que la variabilidad genética del gen *ompA* es llevada a cabo por la presión que ejerce la inmunidad de grupo, que tiene lugar cuando una cepa es abundante en la población^{136, 137}. Esto provoca cambios en la secuencia de nucleótidos del gen, y por tanto, en los aminoácidos de la MOMP. La variación antigénica es una de las estrategias que los patógenos implicados en infecciones de

transmisión sexual, han desarrollado para eludir la presión inmune. Ésta puede tener lugar en cepas pertenecientes a un grupo de individuos que se transmiten la infección a través del contacto sexual, como es el colectivo dedicado a la prostitución, donde se pueden crear altos grados de inmunidad.

La estabilidad en la secuencia *ompA* en los serovares F y E ha sido demostrada en varias publicaciones entre población afectada por ITS¹³⁸⁻¹⁴⁰. La variabilidad de este último ha demostrado ser más baja que la de otros serovares como el D, J y G¹⁴¹. Una explicación a esto podría ser que la MOMP, en los serovares E y F, es menos inmunogénica y por lo tanto menos sensible a la presión inmune. Se ha demostrado que en sujetos infectados con serovares E, un epítipo de linfocitos T, codificado en VD3, es reconocido significativamente menos a menudo que en individuos infectados con otros serovares¹⁴².

Existen variantes del serovar E con mutaciones en codones del gen *ompA*, que codifican para epítopos de linfocitos T. Esto daría lugar a un cambio en la respuesta de las células T, promoviendo la persistencia de la infección o facilitando su transmisión¹⁵¹. Es posible que el serovar E pueda llegar a un estado de equilibrio con su hospedador alcanzándose en él, una situación óptima en la que más mutaciones en los codones, no supondrían una ventaja para la transmisión¹⁴¹.

La relación entre el serovar infectante y la severidad de la infección que ocasiona presenta controversias ya que, ciertas cepas se han asociado con episodios tanto sintomáticos como asintomáticos. El serotipo E es el que está más ampliamente distribuido y el que se ha encontrado más relacionado con infecciones de tipo asintomático^{131, 143}. En el caso de los otros genotipos, diversos artículos apoyan la teoría de su relación con síntomas clínicos específicos. Hay autores que demuestran una correlación entre el serovar G y disuria en hombres, así como entre el serovar K y secreción vaginal en mujeres¹³⁰. Otros investigadores, encuentran una fuerte asociación entre los serovares G, I y D y el desarrollo de cáncer de cérvix¹⁴⁴. Algunos artículos revelan que mujeres que referían dolor abdominal y/o dispareunia presentan un mayor porcentaje de infección debida al serovar F¹⁴⁵. También se ha estudiado la correlación entre determinados serovares y el curso clínico de la infección del tracto genital

superior e inferior. Mientras un estudio, sugiere una posible correlación entre el serovar F y EPI¹³⁶, otro artículo no encuentra ninguna asociación aparente¹⁴⁶.

Por otro lado, en el caso del serovar L2, se han descrito diversas variantes genéticas; L2b, L2c y L2e están asociadas con el desarrollo de proctitis en hombres homosexuales mientras que L2f y L2g se relacionan con infecciones asintomáticas en hombres heterosexuales y mujeres^{147,148}. En éstas últimas, las mutaciones puntuales son más numerosas y pueden explicar por qué no producen síntoma, aunque no se sabe si son o no capaces de desarrollar EPI, enfermedad tubárica o embarazo ectópico.

Una mejor definición de la relación entre los serovares de *C. trachomatis* y las manifestaciones clínicas que producen, podría mejorar nuestro conocimiento acerca de la patogénesis y la epidemiología de las infecciones en las que está implicada esta bacteria.

1.15.- EPIDEMIOLOGÍA

Las infecciones causadas por *C. trachomatis* tienen una distribución universal siendo la prevalencia de éstas ampliamente variable en función de la población estudiada, la localización geográfica, la raza, la edad, los hábitos sexuales, las condiciones socioeconómicas y los métodos diagnósticos utilizados. Así, se ha demostrado que los datos aumentan si los pacientes están asociados con factores de riesgo conocidos: promiscuidad, edad joven (menos de 20 años), raza negra, presencia de síntomas, carencia del uso de anticonceptivos de barrera e infección concurrente por *N. gonorrhoeae*³.

La juventud es el factor que está más fuertemente asociado con la infección. El riesgo relativo entre mujeres menores de 25 años con respecto a mujeres que superan esta edad es 1,5 veces mayor¹⁴⁹⁻¹⁵¹. Esta asociación es atribuida a la mayor actividad sexual y también a que en la etapa adolescente es frecuente encontrar el epitelio columnar endocervical, más allá del endocérvix (ectopia cervical o metaplasma), favoreciendo el ascenso y las infecciones por esta bacteria. Se debe considerar que también existe un riesgo de infección de 2 a 3 veces mayor en grupos de población masculina con prácticas sexuales de riesgo^{152, 153}.

Anualmente en EEUU, ocurren 3 millones de casos de infecciones por *C. trachomatis*¹⁵⁴, es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente con un rango de prevalencia del 3 al 11% en mujeres entre 15 y 24 años. Además, se calcula que ocurran 4 millones de nuevas infecciones por *C. trachomatis* cada año¹⁵⁵. Según el CDC, en 2006, más de un millón de casos fueron declarados correspondientes a 347,8 casos por 100000 habitantes, lo que supone un incremento del 5,6% respecto a los datos de 2006¹⁵⁶.

En Europa, según los datos del ECDC (Centro europeo para la prevención y control de las enfermedades) más de 300000 casos son reportados anualmente. La tasa de incidencia presenta una tendencia ascendente en los últimos diez años, con cifras de 100 casos cada 100000 habitantes (510 por cada 100000 en el grupo de edad entre 15 y 24 años). Según estudios publicados entre 1980 y 2000, los rangos de prevalencia en mujeres asintomáticas (sin signos ni síntomas de infección en el momento de la recogida de muestra), oscilan entre el 1,7% y el 17% (tabla 9). Estas diferencias se deben al tipo de población estudiada, la técnica utilizada y el área geográfica.

Tabla 9: Resumen de estudios europeos sobre prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en mujeres

Referencia	Ciudad	Edad	Tamaño muestral	P (%)	Técnica
Paavonen '80	Finlandia	18-40	298	6	Cultivo
ChiNguyen <i>et al</i> '87	Francia	15-55	306	17	Cultivo
Meijer <i>et al</i> '84	Holanda	35-55	2470	4,4	ID
Person <i>et al</i> '90	Suecia	12-25	306	6	Cultivo
Smith <i>et al</i>	Reino Unido	15-58	197	12	Cultivo
MEGIC	Italia	33	95	3,9	IFD
Svenson <i>et al</i> '92	Suecia	18	751	2,1	EIA
Thomson <i>et al</i> '92	UK	15-40	287	1,7	ID
Nyari <i>et al</i> '95	Hungría	20-29	6161	5,9	
Tchoudomirova '95	Bulgaria	16-46	231	6,1	EIA
Hopwood <i>et al</i>	UK	16-25	698	3,9	EIA
Kirkwood <i>et al</i>	UK	18	97	6,2	PCR
Van den Hoek <i>et al</i> '97	Holanda	15-40	2403	4,9	RCL

En España hay pocos estudios que aporten datos sobre la prevalencia de esta infección en población general asintomática (tabla 10), sólo existen datos relativos a distintas regiones o centros. Además, algunos de ellos no se han obtenido con TAAN que

en la actualidad se consideran de elección para el diagnóstico, por ser las pruebas más sensibles y específicas. En la actualidad la prevalencia en nuestro país se sitúa entre el 4-6%, la tasa es de 5,1 casos por 100.000 habitantes. Uno de los últimos estudios realizados, recoge datos de jóvenes asintomáticos de Asturias en el cual se detectó una prevalencia del 4,1%¹⁵⁷.

Tabla 10: Resumen de estudios sobre prevalencia de *C. trachomatis*, realizados en España

Referencia	Ciudad	P (%)	Población	Técnica
Mariñas <i>et al</i> '93	La Coruña	5,1-1%	MS	PCR
Torres JM <i>et al</i> '92	Sevilla	14,8%	MS	PCR
Vázquez J <i>et al</i> '96	Madrid	9%	MP	EIA
		1,6%	MNP	
Alonso S <i>et al</i> '96	Madrid	15%	M IP	
Chávez <i>et al</i> '00	Sevilla	M:5,1%	CITS	EIA
		H:10%	CITS	
SMM (Helsinki '00)	Barcelona	0,9%	ME	PCR
		1,7%	MNE	
		1,06%	MCITS	
Andreu <i>et al</i> '02	Barcelona	0-1,48%	MS	PCR
L. Otero <i>et al</i> '02	Oviedo	M:5,9% H:5,9%	CITS	PCR
J. Reina <i>et al</i> '04	Mallorca	M:0,6-1% H:1,8-3,2%	CITS	ID
Juana C. <i>et al</i> '07	Madrid	M:1,6% H:11%	MA HS	PCR
C. Benítez <i>et al</i> '12	Oviedo	M:4% H:4,3%	PA	PCR

Población: MS: mujeres sintomáticas, MA: mujeres asintomáticas, MP: mujeres promiscuas, MNP: mujeres no promiscuas, ME: mujeres españolas, MNE: mujeres no españolas CITS: centro de infecciones de transmisión sexual, HS: hombres sintomáticos, PA: población asintomática, IP: instituciones penitenciarias

Respecto a los brotes de LGV, los primeros 13 casos del año 2003, diagnosticados entre febrero y octubre, fueron detectados en Rotterdam y las autoridades sanitarias los dieron a conocer en diciembre del mismo año. En 2004 ya

habían sido descritos 92 casos en Holanda⁸¹. Seguidamente se detectaron brotes, con afectación anorectal, en Bélgica, España y Reino Unido. Era previsible que también aparecieran pacientes infectados en otras ciudades europeas y en 2005, ya había LGV notificado en Francia. A finales de 2008 se habían comunicado cerca de 2000 casos en Europa occidental (tabla 11), en redes de hombres homosexuales, casi todos con presentación clínica de proctitis.

Tabla 11: Casos de LGV en diferentes ciudades europeas, 2004-2008

PAIS	AÑO	N CASOS	N HSH (%)	N VIH (%)	ITS CONCURRENTES (%)					EM
					Sífilis	Gonorrea	Hepatitis B	Hepatitis C	CT	
Bélgica	2004-2008	43	42* (97,7)	41 (95,3)	6 (14)	5 (11,6)	-	-	-	38
Dinamarca	2006-2008	43	42 (97)	15 (35)	3 (7)	2 (5)	NC	NC	NC	38
Francia	2002-2008	725	NC	280 (57)	-	-	-	-	-	37
Holanda	2004-2007	225	224 (99,5)	117 (52)	27 (12)	56 (24,9)	3 (1,3)	-	-	41
Portugal	2007-2008	5	3 (60)	3 (100)	2 (40)	-	-	-	3 (60)	42
España (Bilbao)	2006-2008	5	4* (80)	2 (40)	0	1 (20)	0	0	2 (40)	35
España (Cataluña)	2007-2008	17	17 (100)	16 (94)	-	-	-	-	-	
Reino Unido	2004-2008	848	756 (99,1)	566 (74)	49 (6)	135 (18)	1 (0,1)	112 (15)	-	38
Suecia	2007-2008	9	9 (100)	9 (100)	-	-	-	-	-	NC

* incluyendo un caso en paciente bisexual, EM: edad media, NC: dato no conocido

1.16.-TRATAMIENTO

La infección provocada por *C. trachomatis*, cursa en un porcentaje muy alto de casos, de forma asintomática. Por ello es de vital importancia el control de este tipo de pacientes, tratándolos no sólo a ellos, sino también a sus parejas sexuales que deben ser evaluadas. De este modo se podrán evitar las graves secuelas, la transmisión y las reinfecciones que puede ocasionar esta infección.

Los centros para el control y prevención de las enfermedades de transmisión sexual estadounidenses (CDC), recogen en sus guías, una serie de recomendaciones en cuanto al tratamiento antibiótico más adecuado para los distintos pacientes¹⁵⁶. En el caso de la infección no complicada en el adulto, los regímenes son los que se describen en las tablas 12 y 13.

Tabla 12: Tratamiento de elección en la infección no complicada en adultos.

Azitromicina

1g vo dosis única

Doxiciclina

100 mg vo/12h/ 7 días

*vo: vía oral

Tabla 13: Tratamiento alternativo en la infección no complicada en el adulto

Eritromicina base

500 mg vo/ 6h/7 días

Eritromicina etilsuccinato

800 mg vo/6h/ 7 días

Ofloxacino

300 mg vo/12h/ 7 días

Levofloxacino

500mg vo/24h/7días

*vo: vía oral

Diversos estudios aleatorios, han comparado la eficacia de azitromicina frente a doxiciclina para el tratamiento de infecciones genitales ocasionadas por *C. trachomatis*. Los resultados demuestran que ambos antibióticos, son equiparables en cuanto a eficacia, con tasas de curación del 97% y 98% respectivamente¹⁵⁸. Estos estudios fueron hechos en poblaciones en las que se realizó un seguimiento terapéutico y en las cuales se pudo completar el tratamiento semanal, con doxiciclina. En poblaciones en las que no es posible el seguimiento terapéutico y en las cuales la adhesión al tratamiento es cuestionable, el antibiótico de elección sería la azitromicina ya que puede ser más rentable al permitir tratar al paciente con una única dosis¹³³. La eritromicina podría ser menos eficaz que azitromicina o doxiciclina debido a los efectos adversos gastrointestinales que provoca y que pueden influir en el abandono del tratamiento. Ofloxacino y levofloxacino son otras alternativas antibióticas, más caras y que no presentan ventajas en cuanto a la pauta posológica.

Para las pacientes con EPI los regímenes antibióticos, tanto orales como parenterales han demostrado tener similares eficacias¹⁵⁹⁻¹⁶¹. Las recomendaciones son las que se recogen en las tablas 14 y 15.

Tabla 14: Regimen recomendado para pacientes con EPI por *C.trachomatis*

ORAL

Ofloxacino ó levofloxacino con o sin metronidazol

400mg /12h/14días ó 500mg /12h/14 días + 500mg/12h/14días

PARENTERAL

Cefotetan ó cefoxitina + doxiciclina

2g iv/12h ó 2g iv/6h + 100mg iv/12h

*iv: vía intravenosa

Tabla 15: Regimen alternativo para pacientes con EPI por *C. trachomatis*

Ceftriaxona ó cefoxitina + probenecid
250 mg IM /24h ó (Mefoxin) 2 g IM /24h + 1 g vo
Doxiciclina¹ con o sin metronidazol
100 mg vo/12h/14 días con o sin 500mg/12h/14días
Clindamicina + gentamicina
900 mg/iv/8h + 2mg iv/Kg/8h seguido dosis mantenimiento 1,5mg iv/8h
Ofloxacino ó levofloxaciono con o sin metronidazol
400mg iv/12h ó 500mg iv/8h/24h con o sin 500mg iv/8h
Ampicillin/sulbactam + doxiciclina¹
3g iv/6h + 100mg iv/12h

IM: intramuscular.

¹ Por vi puede provocar esclerosis y obliteración de la vía venosa.

En el embarazo, el tratamiento con quinolonas está contraindicado. Sin embargo, hay estudios que demuestran la seguridad y efectividad de la azitromicina^{162, 163}. Los antibióticos recomendados aparecen reflejados en las tablas 16 y 17. Estas mujeres deben repetir la prueba para *C.trachomatis* a las tres semanas tras completar el tratamiento antibiótico, preferiblemente mediante una TAAN. Así se podrán evitar las graves secuelas que se pueden producir tanto en la madre como en el neonato, si la infección persiste.

En el caso de mujeres embarazadas con nueva o más de una pareja sexual, deberán repetir la prueba en el tercer trimestre para prevenir complicaciones postnatales. Si el diagnóstico de la infección se realiza en el primer trimestre, no sólo será necesario repetir el test, que confirme la erradicación de la bacteria, sino que además deberán volver a ser testadas a los tres meses.

Los frecuentes efectos adversos relacionados con la eritromicina, pueden ser un inconveniente de la terapia alternativa, la eritromicina estolato a pesar de su toxicidad a nivel hepático puede ser utilizada, como alternativa, si se pauta en dosis bajas.

Tabla 16: Régimen recomendado por CDC para embarazadas:

Azitromicina
1g vo dosis única
Amoxicilina
500 mg vo/8h/ 7 días

*vo: vía oral

Tabla 17: Régimen alternativo para embarazadas

Eritromicina base oral	250 mg 6h/7 días
Eritromicina etilsuccinato	800 mg vo/6h/ 7 días
Eritromicina etilsuccinato	400 mg vo/6h/ 14 días
Eritromicina base	250mg vo/6h/14días

*vo: vía oral

Los neonatos o recién nacidos que presenten *oftalmia neonatorum* o neumonía por *C. trachomatis* deben ser tratados con la recomendación recogida en la tabla 18.

Tabla: 18 Regimen recomendado para neonatos

Eritromicina base o etilsuccinato	50mg vo /Kg/6h /14 días	*vo: vía oral
--	-------------------------	---------------

En el caso de los pacientes que presentan LGV, el tratamiento previene el daño tisular aunque la reacción tisular que provoca la bacteria da lugar a cicatrización. Si hay bubones estos deben ser aspirados o drenados mediante incisión para así evitar la formación de ulceraciones inguinales o femorales. El antibiótico recomendado es la doxicilina y como regimen alternativo eritromicina (tablas 19 y 20) .Estos pacientes deben ser controlados hasta que la infección se resuelva por completo. Asimismo todas aquellas parejas sexuales que hayan tenido contacto con estos pacientes en los 60 días previos al diagnóstico deben ser examinados, testados en uretra o cérvix y tratados con el régimen recomendado para adultos (tabla12)

Tabla 19: Regimen recomendado en el LGV

Doxicilina	100 mg vo/12h/ 21 días	*vo: vía oral
-------------------	------------------------	---------------

Tabla 20: Regimen alternativo en el LGV

Eritromicina	400 mg vo/6h/ 21 días	*vo: vía oral
---------------------	-----------------------	---------------

1.16.1.-Seguimiento de los pacientes

Por norma general, no se recomienda la repetición de la prueba para *C.trachomatis*, tras finalizar la terapia antibiótica. Existen determinadas excepciones, como es el caso de las mujeres embarazadas, pacientes con sintomatología persistente, complicaciones terapéuticas o sospechas de reinfección. Además, la repetición de la

prueba diagnóstica, en menos de tres semanas, después de completar el tratamiento puede dar lugar a resultados falsos negativos. Esto puede ser debido a la presencia de un número bajo de microorganismos persistentes o, si se llevan a cabo TAAN en < 3 semanas, por la amplificación del ADN de organismos muertos, lo que daría lugar a resultados falsos positivos¹⁶⁴.

La mayor parte de las reinfecciones en mujeres, ocurren porque sus parejas sexuales no son tratadas o por el hecho de tener una nueva pareja sexual infectada con la bacteria. El resultado de estas nuevas infecciones conlleva un mayor riesgo de EPI u otras complicaciones si se comparan con la primoinfección. Las recomendaciones hablan de que todas las mujeres deberían ser chequeadas aproximadamente 3 meses después de finalizar el tratamiento¹⁶⁴. Además, todas las parejas sexuales deberían ser evaluadas, testadas y tratadas si el contacto sexual se produce durante los 60 días antes de los síntomas o del diagnóstico.

Dada la contagiosidad de *C. trachomatis* y la frecuente existencia de infecciones oligosintomáticas e incluso completamente asintomáticas, es conveniente que sean evaluados y tratados contra la infección tanto los compañeros sexuales de los pacientes afectados, así como los padres de los recién nacidos con infecciones por dicho germen, incluso en ausencia de clínica.

1.17.-CRIBADO

En las mujeres, la mayoría de las infecciones por *C. trachomatis* cursan de manera totalmente asintomática, o a lo sumo con un cuadro anodino e inespecífico. Este comportamiento silente contrasta con la gran cantidad de complicaciones a las que pueden dar lugar. Así, representa la primera causa de EPI y por ello de esterilidad de origen tubárico, estimándose que hasta un 75% de las infertilidades de este tipo, tendrían su origen en una infección desapercibida en el pasado por *C. trachomatis*. Por encima de 2/3 de los casos de infertilidad de origen tubárico y 1/3 de los casos de embarazos ectópicos son atribuidos a esta infección¹⁶⁵⁻¹⁶⁹.

Desde el punto de vista de morbilidad materno-fetal, la infección redonda en una mayor incidencia embarazos extrauterinos, abortos de repetición, rotura

prematura de membranas, parto pretérmino, endometritis post-parto y conjuntivitis y neumonía en el recién nacido¹⁵⁴⁻¹⁵⁶.

La mayor parte de las publicaciones consultadas, sugieren la conveniencia de realizar programas de prevención mediante cribado poblacional, ya que en la actualidad se dispone de técnicas diagnósticas que permiten el procesado de gran cantidad de muestras en poco tiempo. El programa nacional de cribado en Inglaterra¹⁷⁰ recomienda el chequeo de la infección en mujeres sexualmente activas menores de 25 años, anualmente y después de un cambio de pareja sexual. Los CDC estadounidenses¹⁵⁶, en mujeres embarazadas menores de 24 años y más jóvenes. Anualmente, en mujeres sexualmente activas menores de 24 años así como las de más edad con factores de riesgo tales como: no uso de anticonceptivos de barrera, nueva pareja sexual, más de una pareja sexual, ectopia cervical e historia previa o coexistente de ITS.

Los USPSTF (Servicios preventivos de los estados unidos) recomiendan el chequeo en todas las mujeres de 25 años y menores¹⁷¹.

Existe la certeza de que el cribado poblacional de la infección por *C. trachomatis*, reduce la prevalencia de la infección y la incidencia de complicaciones y secuelas de ésta, fundamentalmente en la mujer. Estudios realizados en mujeres jóvenes y embarazadas desarrollados en USA, Dinamarca y Suecia¹⁷²⁻¹⁷⁶, respectivamente, muestran una reducción importante en el número de casos de EPI y de embarazos ectópicos después de la introducción del chequeo para *C. trachomatis*.

No hay suficientes trabajos que demuestren los beneficios de un cribado rutinario en hombres sexualmente activos¹⁷⁷. Sin embargo, estos controles deberían llevarse a cabo en áreas de alta prevalencia de infección, así como en hombres con conductas sexuales de riesgo que acuden a las clínicas de ITS. Hay que tener en cuenta que *C. trachomatis* es transmitida sexualmente, siendo también los hombres responsables de su expansión. El hecho de no identificar las infecciones asintomáticas en éstos, puede dar lugar a la creación de reservorios capaces de transmitir la bacteria a sus parejas sexuales¹⁷⁸.

Si no se trata, la infección puede persistir durante años¹⁷⁹, por ello, la duración de la capacidad infectiva, es uno de los factores clave para determinar cómo se produce la transmisión de la bacteria en la población. Los datos científicos existentes, no permiten establecer un periodo en el cual la infección no tratada continua siendo contagiosa. En un estudio se reportan datos sobre la transmisión entre parejas heterosexuales de un 68%, tanto de hombre a mujer como de mujer a hombre¹⁸⁰. A pesar de que, el 25% de las infecciones en mujeres aclaran espontáneamente pasados 1-3 meses^{181, 182}, hay artículos que sugieren que aproximadamente la mitad de las mujeres estudiadas, que no habían sido tratadas, repetían la infección al año. Esto es explicable debido a la inmunidad parcial que confiere la infección¹⁸³. Por todo lo anterior, aquellos individuos infectados que son tratados o los que en ausencia de terapia antibiótica, resuelven la infección espontáneamente pueden ser susceptibles de un nuevo contagio. Además, se cree que las reinfecciones en mujeres están relacionadas con un mayor riesgo de desarrollar EPI¹⁸⁴ y con cuadros más severos de esta enfermedad¹⁶⁷.

Los programas de cribado pueden ser clasificados en función del método de reclutamiento (oportunisto o sistemático) y de la población objeto del mismo (universal o selectiva). En la tabla 21 se describen varias formas de cribado.

Tabla 21: Tipos de métodos de cribado para *C. trachomatis*

RECLUTAMIENTO	POBLACIÓN IMPLICADA	
	Universal (dentro de un rango de edad)	Selectiva
Oportunista	Médico general	Centros de planificación familiar, unidades de ITS, escuelas, centros juveniles
Sistemática	Cribado poblacional organizado por agencias de salud pública o médicos generales si el registro es necesario.	Cribado poblacional con criterio de selección

La infección ocasionada por *C. trachomatis* continua siendo un problema de salud pública, a pesar de ser fácil de testar y tratar. Su naturaleza asintomática y persistente favorece el crecimiento de reservorios infecciosos, que pueden ser controlados mediante programas de cribado. Sin embargo, hay todavía algunas dudas respecto a la recomendación de un chequeo rutinario para el control de esta infección. Esto se atribuye a la falta de un acuerdo conciso entre los países que tienen programas de cribado, ya que en ocasiones los criterios de valoración no son rigurosamente

aplicados. Los principales errores son debidos a varios factores, relacionados con los intervalos de cribado, los casos de reinfecciones, la no detección mediante TAAN y los efectos del cribado en la prevalencia^{177,185}. Por otra parte, hay evidencia de que un cribado selectivo en mujeres reduce la incidencia de EPI¹⁸⁶.

Todos los países que pretendan implementar un programa de cribado deberían analizar el coste-efectividad del mismo, para lograr reducir la morbilidad de forma razonable.

2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

El interés epidemiológico de las infecciones producidas por *C. trachomatis* ha aumentado en los últimos años, convirtiéndose en el patógeno de transmisión sexual más prevalente a nivel mundial. El mayor desafío para el control de esta infección lo contribuye el hecho de que la mayoría de los sujetos afectados son asintomáticos (60-80% de las mujeres y hasta un 30-50% de los hombres). Si la infección no tratada persiste durante meses, puede desencadenar severos problemas. En la mujer, da lugar a graves complicaciones como EPI e importantes secuelas como son dolor pélvico crónico, embarazos ectópicos, infertilidad, infecciones puerperales, transmisión al neonato y perihepatitis. En los varones, epididimitis, uretritis, prostatitis e infertilidad. Además, puede dar lugar a un reservorio de pacientes infectados que son capaces de transmitir la infección a sus parejas sexuales. La detección precoz de la infección por *C. trachomatis*, permite controlar la transmisión y reducir la incidencia de complicaciones fundamentalmente relacionadas con la salud reproductiva de la mujer.

En España, hay pocos estudios sobre la prevalencia de esta bacteria tanto en población general como de riesgo y muchos de éstos no han sido realizados aplicando TAANs. Las técnicas de biología molecular, están consideradas el nuevo patrón de referencia para el diagnóstico de las infecciones producidas por *C. trachomatis*, debido a su alta sensibilidad y especificidad y a la posibilidad de realizarlas en muestras no invasivas. Por otra parte, el sistema de vigilancia de las infecciones por *C. trachomatis*, en nuestro país, se realiza a través de los centros centinelas y hasta la actualidad, no obliga a la declaración de casos, por lo que es posible que exista una subestimación de los casos reales de *C. trachomatis*, procedentes de nuestro entorno. Respecto al LGV, el número de pacientes con esta enfermedad venérea invasiva, ha experimentado un aumento en la última década en nuestro país y en los países de nuestro entorno, sin embargo, en el Noroeste de España han sido diagnosticados pocos casos.

Con relación al genotipado las cepas de *C. trachomatis*, resulta de gran interés, fundamentalmente, porque permite diferenciar las cepas invasivas de aquellas que no lo son. Los genotipos L, requieren un tratamiento antibiótico más prolongado y la infección no tratada puede dar lugar al desarrollo de un proceso granulomatoso crónico

(estadio terciario). Este proceso, que produce alargamiento hipertrófico y ulceración de los genitales externos, no es completamente reversible con terapia medicamentosa, siendo necesaria la resección quirúrgica. Por ello, es de vital importancia el diagnóstico del LGV, en un estadio temprano, para evitar el desarrollo de estas deformidades, que provocan angustia mental e incapacidad física en los pacientes que las padecen.

Además, conocer los genotipos circulantes en una determinada área geográfica nos permite determinar su relación con la localización anatómica de la infección, el sexo y la edad de los individuos afectados; facilitar el seguimiento terapéutico y de contactos así como aportar información útil para el desarrollo de futuras vacunas. Por otro lado, una mejor definición de la relación entre genotipos de *C. trachomatis* y las manifestaciones clínicas que producen podría mejorar nuestro conocimiento acerca de la patogénesis y la epidemiología de las infecciones en las que está implicada esta bacteria.

En 2006, una nueva variante de *C. trachomatis*, con una delección de 377pb en el plásmido críptico fue detectada en Suecia. Estas cepas, no eran reveladas por las TAANs que únicamente tenían a este plásmido como diana de amplificación. El resultado fue un gran número de individuos con diagnósticos falsos negativos, que favorecieron la expansión de la infección. Aunque la nvCT ha sido detectada también en Noruega, Finlandia y Dinamarca, sólo unos pocos casos han sido diagnosticados fuera de los países nórdicos y existen muy pocos datos de otros países, especialmente del Sur de Europa. A España viajan cada año más de un millón de personas provenientes de estas zonas. Además, aproximadamente 200.000 españoles visitan estos países anualmente. A pesar de este tránsito de pasajeros, en nuestro país, existen muy pocos datos que hablen de la presencia de esta cepa, sólo disponemos de datos relativos al País Vasco.

En base a lo expuesto, se planteó el presente estudio con el fin abordar los siguientes apartados.

1. Aplicar un método de PCR, basado en la amplificación del gen *ompA*, para la detección y posterior secuenciación de los genotipos circulantes de *C. trachomatis*.

2. Determinar la prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, en una serie de pacientes sintomáticos y asintomáticos.
3. Clarificar si la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* es similar en toda la población o existen subpoblaciones con prevalencias más elevadas, para las cuales tendría sentido establecer programas selectivos de detección y tratamiento.
4. Analizar el rendimiento diagnóstico de las diferentes muestras clínicas.
5. Establecer los genotipos circulantes y su relación con el sexo, el rango de edad, la localización anatómica así como, con las diferentes manifestaciones clínicas.
6. Analizar la presencia de genotipos invasivos.
7. Determinar la presencia de la nueva variante de *C. trachomatis* (nvCT).

3 PACIENTES Y MÉTODOS

3.1.- DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio epidemiológico retrospectivo de la infección por *C. trachomatis* en un grupo de sujetos, del área sanitaria IV y un grupo de jóvenes del área sanitaria VIII del Principado de Asturias. Las muestras fueron analizadas en el laboratorio de microbiología del Hospital Universitario Central de Asturias, centro diagnóstico de referencia de esta comunidad autónoma. El protocolo de investigación respetó los acuerdos éticos de la Declaración de Helsinki en su revisión del año 2004. La utilización de las muestras clínicas fue debidamente autorizada a través del documento de consentimiento emitido por el Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias, que se adjunta en el anexo 3.8.3 de esta tesis.

3.2.- POBLACIÓN ANALIZADA

Desde el 1 de enero de 2007 al 31 de diciembre de 2011, se analizó de forma consecutiva, una población de 7817 sujetos sexualmente activos repartidos en varios grupos según sus características clínico-epidemiológicas

a) GRUPO A. Pacientes sintomáticos: Se incluyeron en este grupo 4604 pacientes. Estos sujetos fueron definidos como aquellos que presentaban, en el momento de la recogida de la muestra, una de las siguientes manifestaciones clínicas genitourinarias (mujeres: EPI, displasia cervical, leucorrea, cervicitis, dolor abdominal bajo, vaginitis, uretritis, dispareunia, eritema vulvar, prurito vulvar, disuria, lesiones vesiculares vulvares y elefantiasis vulvar; hombres: balanitis, lesiones vesiculares, verrugas genitales, disuria y dolor, dolor abdominal inespecífico, escozor en perimeato, dolor inguinal, uretritis y dolor inespecífico en pene) o anales (dolor anal, sangrado rectal, fístula anal, úlcera anal, exudado anal y tenesmo, prurito anal y proctitis), éstas últimas presentes sólo en HSH. De ellos, 3039 provenían de la consulta de ITS del Hospital Monte Naranco y 1565 de las consultas de Ginecología y Urología del HUCA (tablas 22 y 23)

b) GRUPO B. Pacientes asintomáticos: Se incluyeron en este grupo, 2726 pacientes. Estos sujetos fueron definidos como aquellos que no acudieron a consulta por presentar manifestaciones clínicas genitourinarias o anales, sino que lo hicieron por otros motivos (control ginecológico rutinario, control del embarazo, control de esterilidad, control antes de la inserción de dispositivo intrauterino y control rutinario por tener conductas sexuales de riesgo). Dos mil ciento noventa y siete acudieron a la Unidad de ITS del Hospital Monte Naranco y 529 provenían de las consultas de Ginecología, Obstetricia y Esterilidad del HUCA (tablas 22 y 23)

Tabla 22: Mujeres testadas para la infección por *C.trachomatis*, según el tipo de consulta realizada

CARACTERÍSTICAS	MUJERES TESTADAS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i>		
	Sintomáticas N (%)	Asintomáticas N (%)	Total N (%)
Ginecología	1491(47,57)	368(17,51)	1859(35,51)
Esterilidad	0(0)	120(5,72)	120(2,29)
Obstetricia	0(0)	40(1,90)	40(0,76)
Unidad de ITS	1643(52,44)	1573(74,87)	3216(61,42)
Total	3134(59,86)	2101(40,14)	5235

Tabla 23: Hombres testados para la infección por *C.trachomatis*, según el tipo de consulta realizada

CARACTERÍSTICAS	HOMBRES TESTADOS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i>		
	Sintomáticos N (%)	Asintomáticos N (%)	Total N (%)
Urología	74(98,71)	1(1,28)	75(3,58)
Unidad de ITS	1396(69,11)	624(30,89)	2020(96,42)
Total	1470(70,17)	625(29,83)	2095

c) GRUPO C: Grupo de referencia.

Según diversos datos bibliográficos, la mayor tasa de prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, se encuentra en jóvenes menores de 25 años. Por este motivo, tomamos como valor de referencia los datos obtenidos en un estudio de prevalencia realizado en una muestra representativa de jóvenes sanos, de una localidad asturiana.

El grupo lo formaron un total de 487 individuos (277 mujeres y 210 hombres), de entre 15 y 24 años (ambos inclusive).

3.2.2.- Criterios de inclusión.

Se incluyeron todos los sujetos sexualmente activos y mayores de 15 años, a los que se recogió muestra para estudio de *C. trachomatis* en las consultas de Ginecología, Obstetricia, Esterilidad y Urología del HUCA así como en la unidad de ITS del Hospital Monte Naranco y en una consulta de atención primaria.

3.2.3.-Criterios de exclusión.

No se incluyeron en el estudio 79 sujetos (63 mujeres y 16 hombres) en los que la procedencia de las muestras era otra que urogenital, rectal o faríngea.

3.3.- MUESTRAS CLÍNICAS

Desde el 1 de enero de 2007 al 31 de diciembre de 2011, se analizaron 8282 muestras de diferentes localizaciones anatómicas. Se consideró que las muestras de un mismo paciente recibidas en seis meses correspondían a un mismo episodio.

La obtención de las muestras rectales, uretrales, vaginales, endocervicales, vulvares y faríngeas se realizó con hisopo de dacrón estéril y su transporte tuvo lugar en el medio "2-SP" (Roche Diagnostic System, Pleasanton, EEUU). Las muestras de orina fueron recogidas y transportadas mediante el sistema UTK-Versant® (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Germany) al laboratorio de Microbiología para su procesamiento. Si no eran analizadas inmediatamente, todas las muestras eran congeladas a -70°C hasta su posterior utilización.

3.3.1.- Criterios de selección de las muestras

Se incluyeron todas las muestras urogenitales, rectales y faríngeas de los pacientes que cumplían los criterios de inclusión.

Se excluyeron del estudio 163 muestras cuya localización anatómica era otra a la mencionada anteriormente (tabla 24).

Tabla 24: Muestras excluidas de procedencia no urogenital

LOCALIZACIÓN	N analizados
Exudados sin especificar localización anatómica	137
Conjuntiva	11
Saco de Douglas	3
Nasofarínge	4
Loquios	1
Biopsia	1
Absceso	2
Líquido peritoneal	2
Líquido intraocular	1
Ótico	1

a) Muestras de los pacientes del grupo A y B

Del total de las 7795 muestras analizadas en este grupo, se seleccionaron 7632, cuyo origen fue vagina, endocérvix, recto, uretra, orina, faringe y vulva. En las figuras 24 y 25 se muestra el porcentaje de muestras estudiadas en ambos sexos.

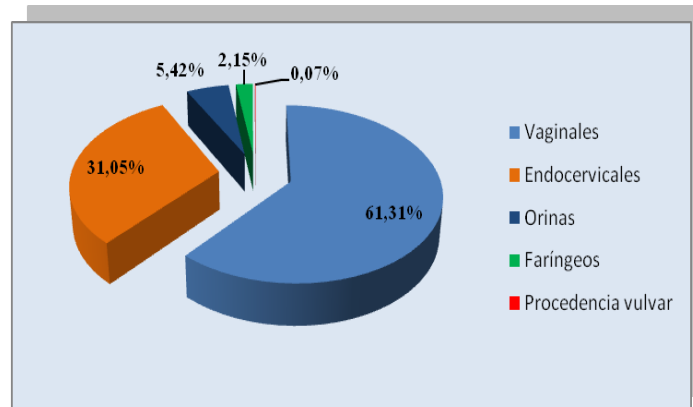


Figura 24: Distribución de las muestras estudiadas en mujeres

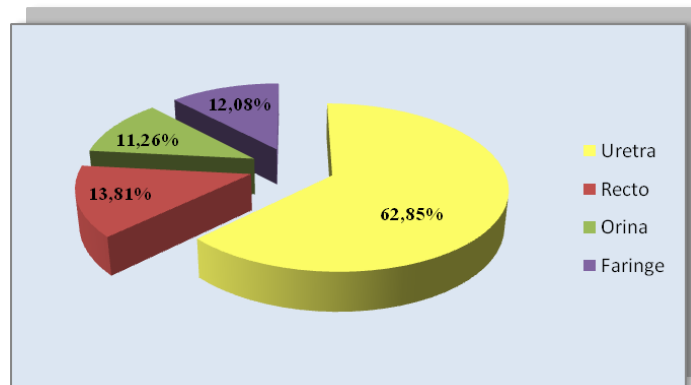


Figura 25: Distribución de las muestras estudiadas en hombres

b) Muestras de los pacientes del grupo C:

Se estudiaron 487 orinas de los hombres y mujeres contenidos en este grupo control

3.4.- DETECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis* EN LAS MUESTRAS CLÍNICAS.

Las muestras se procesaron de forma rutinaria utilizando el preparado comercial AMPLICOR® CT/NG Specimen Preparation Kit (Roche Diagnostic Systems). La detección de *C. trachomatis* en estas muestras extraídas, se realizó mediante el preparado comercial COBAS® TaqMan® CT Test (Roche Diagnostic Branchburg, NJ, USA), durante el año 2007, y que no era capaz de detectar las cepas de la nvCT. Desde Enero de 2008, la detección se efectuó con el nuevo COBAS Taqman CT Test 2.0 (Roche Diagnostics) que presenta una estrategia dual con dos dianas de amplificación, frente al ADN del plásmido críptico y al ADN cromosomal. Por ello es capaz de detectar tanto la presencia de la nvCT como las cepas salvajes de la bacteria y aquellas carentes de plásmido críptico. La amplificación y detección automática se llevó a cabo usando el equipo COBAS® TaqMan® Analyzer (Roche).

3.5.- GENOTIPADO DE *Chlamydia trachomatis*

3.5.1.- Amplificación de un fragmento del gen *ompA*

Todas las muestras que resultaron positivas para *C. trachomatis* se seleccionaron para amplificar un fragmento del gen *ompA* de aproximadamente 990pb mediante una PCR anidada usando los cebadores descritos por Lysén et al¹ (tabla 24). En el caso de no obtener amplificación en una muestra, ésta fue extraída mediante el sistema de extracción automática NucliSENS® EasyMAG® System (BioMerièux, Marcy l'Etoile, France) repitiendo nuevamente la PCR anidada.

Tabla 24: Cebadores utilizados para el genotipado de *Chlamydia trachomatis*.

PCR	CEBADOR	SECUENCIA NUCLEOTÍDICA (5'-3')	DIRECCIÓN	POSICIÓN
Externa	P1	ATG AAA AAA CTC TTG AAA TCG G	Sentido	1-22
	OMP2	ACT GTA ACT GCG TAT TTG TCT G	Antisentido	1103-1124
Interna	MOMP87	TGA ACC AAG CCT TAT GAT CGA CGG	Sentido	87-11
	RVS1059	GCA ATA CCG CAA GAT TTT CTA GAT TTC ATC	Antisentido	1050-1079

Para llevar a cabo las PCRs externa e interna de la PCR anidada, se prepararon mezclas de reacción de 20 μ l y 50 μ l, respectivamente. Cada mezcla contenía 0,5pmol de cebadores externos (P1 y OMP2) o internos (MOMP87 y RVS1059), 50 μ M de cada dNTP (Gibco BRL, Gaithersburg, EEUU) y 0,5 ó 1U de Taq ADN polimerasa (Gibco BRL) en el buffer recomendado por el fabricante (20mM Tris HCl, 25mM KCl, 2mM MgCl₂, 0,05% Tween 20 y 0,05% NP-40). Los volúmenes de cada reactivo en ambas reacciones se recogen en las tablas 25 y 26.

Tabla 25: Reactivos utilizados en la PCR externa.

REACTIVO	CANTIDAD	CONCENTRACIÓN FINAL
Tampón* (x10)	2,5 μ l	x1
MgCl ₂ (50mM)	1 μ l	2 mM
dNTPs (1 mM/cada uno)	1,25 μ l	50 μ M/cada uno
Cebadores externos P1 y OMP2 (12,5 μ M/cada uno)	1 μ l	0,5 μ M/cada uno
BioTaq ADN polimerasa (5UI/ μ l)	0,1 μ l	0,02UI/ μ l
Agua miliQ	14,15 μ l	

*200mM Tris HCl, 250mM KCl, 20mM MgCl₂, 0,5% Tween 20 y 0,5% NP-40

Como muestra se añadieron 5 μ l del ADN extraído a la PCR externa y 6 μ l del resultado de amplificación de ésta a la PCR interna. Las reacciones de amplificación se llevaron a cabo en el termociclador MyCycler thermal cycler (BioRad, Hercules, EEUU) aplicando el protocolo de amplificación mostrado en la figura 26.

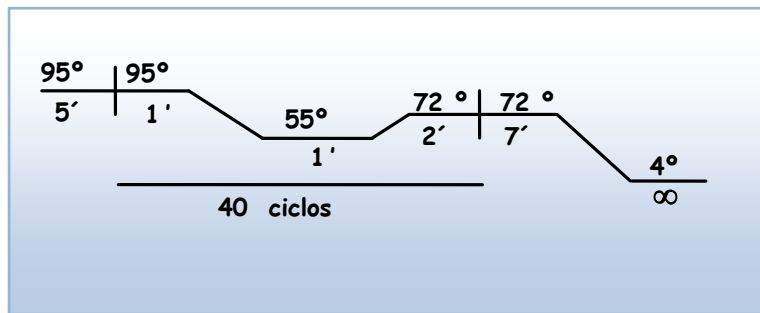


Figura 26: Perfil térmico usado en las reacciones de amplificaciones realizadas.

Tabla 26: Reactivos utilizados en la PCR interna

REACTIVO	CANTIDAD	CONCENTRACIÓN FINAL
Tampón* (x10)	5 µl	x1
MgCl ₂ (50mM)	2 µl	2mM
dNTPs (1 mM/cada uno)	2,5 µl	50 µM/cada uno
Cebadores internos MOMP87 y RV1059 (12,5 µM/cada uno)	2 µl	0,5 µM cada uno
BioTaq ADN polimerasa (5UI/µl)	0,2 µl	0,02UI/µl
Agua miliQ	32,3 µl	

*200mM Tris HCl, 250mM KCl, 20mM MgCl₂, 0,5% Tween 20 y 0.5% NP-40

Los productos finales de la PCR anidada se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (NuSieve®, Cambrex, EEUU) al 2% en tampón TAE (Tris-acetato 0,04 M y EDTA 0,002 M), según el procedimiento descrito por Sambrook *et al*¹⁸⁷. Tras someter la electroforesis a 110-120 mV durante 20-30 minutos, el ADN se visualizó por tinción con bromuro de etidio a una concentración final de 0,5 µg/ml y posterior iluminación con luz ultravioleta. Los productos amplificados se compararon con el marcador de pesos moleculares “100 bp ladder” (Life Technologies, Paisley, UK) para determinar su peso aproximado (figura 27).

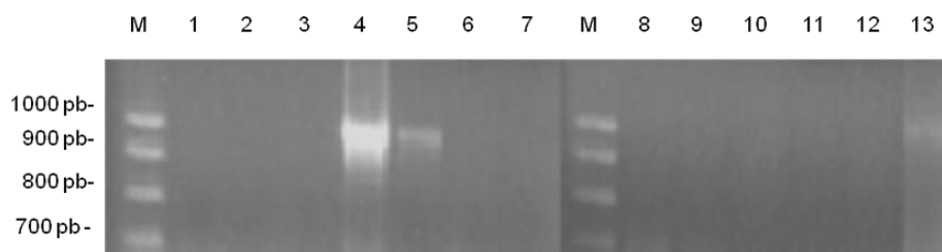


Figura 27: Análisis electroforético del resultado de la amplificación mediante la PCR anidada de muestras positivas (4, 5 y 13) y negativas (1-3, 6, 7, 8-12) para *C. trachomatis*. M, marcadores de pesos.

Todos los ensayos incluyeron una muestra control positivo para confirmar la validez de la mezcla de reacción y al menos un blanco para detectar posibles contaminaciones, aunque fueron realizados con las medidas habituales para evitarlas¹⁸⁸.

3.5.2.- Secuenciación del fragmento del gen *ompA*

Los fragmentos de ADN amplificado (amplicones) fueron purificados usando el preparado comercial Montage DNA Gel Extraction Kit (Millipore, Bedford, EEUU). Estos amplicones fueron secuenciados mediante el método enzimático de terminación de la cadena usando el preparado comercial BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, Foster City, EEUU) siguiendo las instrucciones del fabricante y utilizando como cebadores los internos (MOMP87 y RVS1059) a una concentración final de 0,25µM.

Las reacciones de secuenciación obtenidas se analizaron en el analizador genético ABI PRISM 310 (Applied Biosystems) obteniéndose electroferogramas similares al mostrado en la figura 28.

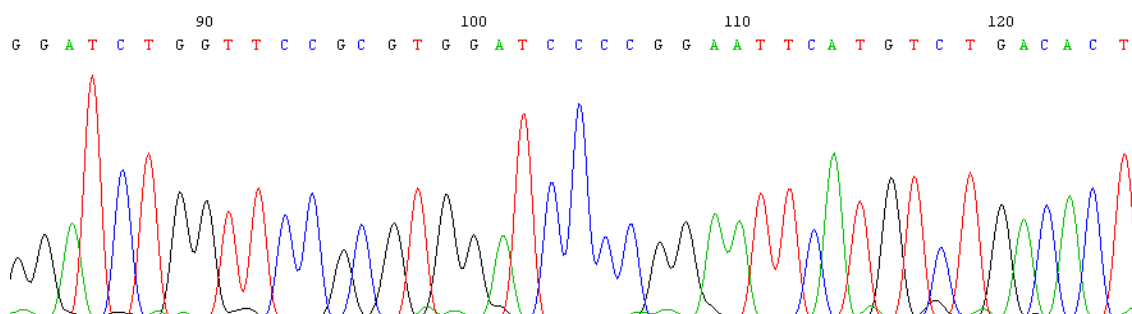


Figura 28: Electroferograma de una de las muestras positivas analizadas.

2.5.3.- Análisis filogenético

Las secuencias individuales de cada muestra se compararon con secuencias análogas de cepas representativas de los distintos genotipos descritos utilizando el programa Clustall-W2 (ebi.ac.uk) con los parámetros por defecto del mismo. Las secuencias de las cepas patrón fueron obtenidas de la base de datos GenBank que forma parte de la página del Nacional Center of Biotechnology Information

(www.ncbi.nlm.nih.gov). Como cepas patrón se utilizaron las que se describen a continuación: A/Sa1 (número de acceso M58938), B/TW-5 (M17342), B/IU-1226 (AF063208), C/TW3 (M17343), D/B-120 (X62918), D/IC-Cal8 (X62920), E/Bour (X52557), F/IC-Cal3 (X52080), G/UW57 (AF063199), H/UW4 (X16007), I/UW-12 (AF063200), Ia/IU-4168 (AF063201), J/UW36 (AF063202), Ja/IU-A795 (AF063203), K/UW31 (AF063204), L1/440 (M36533), L2/434 (M14738), L2b/144276 (DQ217607), L3/404 (X55700). La cepa *Chlamydia muridarum* MoPn^T (M64171), variante murina de *C. trachomatis*, se utilizó como exogrupo.

Los árboles filogenéticos se elaboraron mediante el programa Tree-View (Versión 1.6.6, <http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/rod.html>) a partir de los datos obtenidos del programa Clustall-W2.

3.6.- DETECCIÓN DE LA NUEVA VARIANTE DE *C. trachomatis* (nvCT)

Con el objeto de detectar posibles cepas de la nvCT, las 119 muestras positivas pertenecientes al genotipo E de *C. trachomatis* que se habían secuenciado desde el año 2008 se analizaron mediante PCR casera. Para ello, se utilizaron los cebadores descritos en la tabla 27. Éstos amplifican un fragmento de 580 pb del plásmido críptico en las wCT y de 203 pb en las cepas que pertenecen a la nvCT, debido a que estas últimas presentan una deleción de 377 pares de bases en el plásmido críptico de la bacteria.

Tabla 27: Cebadores utilizados en la PCR para la detección de la nvCT.

PCR	CEBADOR	SECUENCIA NUCLEOTÍDICA (5' - 3')	DIRECCIÓN	POSICIÓN
Externa	pCT-1	GCTCCGGATAGTGAATTA	Sentido	181-198
Interna	pCT-2	TTGAAGCGTTGTCTTCTCGA	Antisentido	364-383

Para llevar a cabo la PCR se prepararon mezclas de reacción y se aplicó el mismo perfil de amplificación descritos en la tabla 24 y en la figura 26, respectivamente.

Los productos finales de la PCR anidada se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (NuSieve®, Cambrex, EEUU) al 2% en tampón TAE (Tris-acetato 0,04 M y EDTA 0,002 M), según el procedimiento descrito por Sambrook *et al.* (1989).

Tras someter la electroforesis a 110-120 mV durante 20-30 minutos, el ADN se visualizó por tinción con bromuro de etidio a una concentración final de 0,5 µg/ml y posterior iluminación con luz ultravioleta. Los productos amplificados se compararon con el marcador de pesos moleculares “100 bp ladder” (Life Technologies, Paisley, UK) para determinar su peso aproximado.

Por otro lado, y con el fin de detectar posibles falsos negativos, se volvieron a analizar todas las muestras negativas pertenecientes al año 2007. Se utilizó el test COBAS Taqman CT Test 2.0 (Roche Diagnostics) para posteriormente realizar la amplificación y detección automática utilizando el equipo COBAS[®] TaqMan[®] Analyzer (Roche).

3.7.-ANÁLISIS DE LOS DATOS Y METODOLOGÍA ESTADÍSTICA

Dado que todas las variables son consideradas de forma categórica, se describen mediante frecuencias relativas y absolutas. Para los valores más relevantes se calcularon intervalos de confianza al 95%. Se realizaron tests exactos de la Chi-2 para contrastar la independencia entre pares de variables categóricas. Asimismo, se utilizó el índice Kappa para medir la concordancia en el rendimiento diagnóstico de las distintas muestras. P-valores inferiores a 0,05 fueron considerados estadísticamente significativos.

3.8.- ANEXO

3.8.1.- Reactivos utilizados en las técnicas de amplificación genómica (PCR)

Tampón de carga 6x

0.25 % de azul de bromofenol

40% (W/V) de sucrosa en agua

Tampón PCR 10x

200mM de Tris base, pH 8,3 (Biorad, USA)

250mM Cloruro potásico

20mM Cloruro magnésico

Bromuro de etidio 10mg/ml

1g de bromuro de etidio (C₂₁H₂₀BrN₃)

100 ml de agua destilada

Se guardó en frasco opaco a 4°C.

Tampón TBE (5X)

89 mM de Tris base.

89 mM de ácido bórico.

1 mM de EDTA.

PBS (phosphate buffered saline)

PO₄HK

PO₄HNa₂ 0.91 g.

ClNa 8.00 g

ClK 0.20 g

Agua destilada

STE

10mM de Tris-HCl (pH= 8).

0,1 M de NaCl.

1mM EDTA.

3.8.2.- Documento de consentimiento emitido por el Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias



SERVICIO DE SALUD
DEL PRINCIPADO DE ASTURIAS

HOSPITAL UNIVERSITARIO CENTRAL DE ASTURIAS

Comité Ético de Investigación Clínica
Regional del Principado de Asturias
C/ Celestino Villamil s/n
33006.-Oviedo
Tfno: 985.10.79.27/985.10.80.28
Fax: 985.10.87.11
e-mail: ceicr_asturias@hca.es

Área Sanitaria

Oviedo, 18 de Diciembre de 2012

El Comité Ético de Investigación Clínica Regional del Principado de Asturias ha evaluado el Estudio nº 128/2012, titulado: "ESTUDIO EPIDEMIOLÓGICO DE C. TRACHOMATIS BASADO EN LA GENOTIPIFICACIÓN Y EL ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE ESTA BACTERIA EN POBLACIÓN GENERAL Y DE RIESGO" Investigadora Principal Dra. Pilar Suárez Leiva del S. de Microbiología del HUCA.

El Comité ha tomado el acuerdo de considerar que el citado estudio reúne las condiciones éticas necesarias para poder realizarse y, en consecuencia, emite su autorización.

Le recuerdo que deberá guardar la máxima confidencialidad de los datos utilizados en este estudio.

Le saluda atentamente.

Fdo: Eduardo Arnáez Moral
Secretario del Comité Ético de Investigación
Clínica Regional del Principado de Asturias



4 RESULTADOS

4.1.- PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Chlamydia trachomatis* EN NUESTRA SERIE

De 7817 pacientes, que acudieron a diferentes consultas, se seleccionaron 7738 (98.99%) sujetos, que cumplían los criterios de inclusión.

La procedencia de los 7251 pacientes estudiados en los grupos A y B, con una media de edad de 30,60 años (rango de 16 a 55), aparece reflejada en la figura 29. La mayor parte de ellos (71,44%) pertenecen a la Unidad de ITS del Hospital Monte Naranco, un 56,32% de los cuáles presentan conductas sexuales de riesgo [prostitución (50,42%), heterosexuales con prácticas sexuales de riesgo(36,73%), homosexuales (10,28%) y bisexuales (2,57%)]. Los pacientes analizados en diversas consultas del HUCA, fueron un 28,56%.

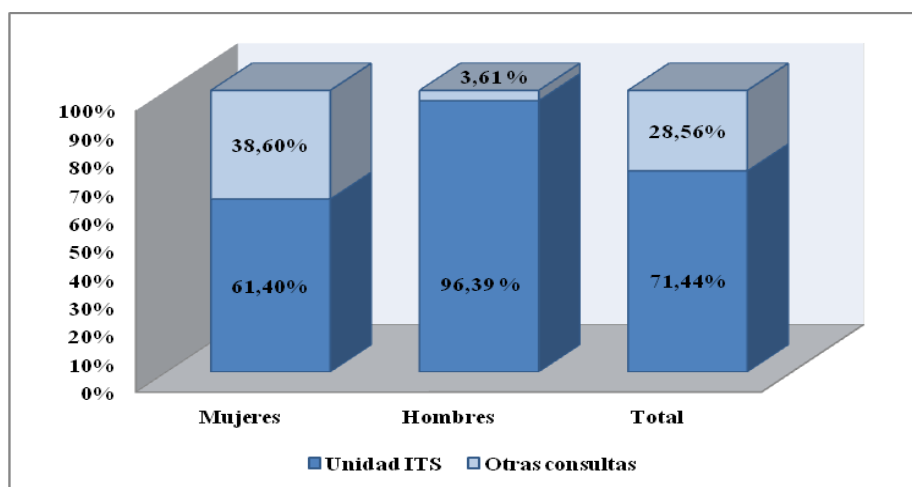


Figura 29: Procedencia de los pacientes estudiados en los grupos A y B

En los grupos A y B, se detectó *Chlamydia trachomatis* en 542 (7,47%) pacientes. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre mujeres y hombres, la prevalencia en ambos sexos fue del 7,37% y 7,74%, respectivamente.

En la tabla 28 se muestran las prevalencias observadas en los pacientes sintomáticos y asintomáticos estudiados en cada grupo de edad.

En mujeres, se apreció significación estadística en la prevalencia observada en menores de 25 años (11,17%), respecto a la encontrada en mayores de 25 años (p-valor 0,004). En hombres, la prevalencia del grupo de más de 25 años fue más elevada que en menores de 25 años (p-valor <0,001).

La prevalencia observada en mujeres menores de 25 años fue significativamente superior a la de los hombres de la misma edad (p< 0.001). En el grupo etario de 25-40 años, se observó una prevalencia significativamente mayor en los hombres que en las mujeres de la misma edad (p-valor <0,001).

En el grupo de referencia (grupo C), formado por jóvenes, con una edad media de 21,28 años (rango de 15-24 años) la prevalencia fue del 4,10% (4,00% en mujeres y 4,30% en hombres).

4.1.1. Resultados de los pacientes analizados en los grupos A y B

El porcentaje de pacientes sintomáticos estudiados fue del 62,80% vs 37,56% de pacientes que no presentaron síntomas o signos clínicos, de infección genitourinaria o anal, en el momento de la recogida de la muestra (p-valor < 0,001). La prevalencia encontrada en estos dos grupos fue respectivamente 7,84% vs 6,86%, sin diferencias estadísticamente significativas.

En el total de las 3099 mujeres sintomáticas, se pudo observar un porcentaje de positividad de 7,77% vs 6,75% encontrado en el total de las 2072 pacientes que no mostraron síntomas o signos clínicos de infección. Las cifras señalan que en las mujeres, no existe correlación significativa entre mostrar síntomas y ser positivo para la infección por *C. trachomatis*.

En los hombres la mayor prevalencia se observa en el grupo etario de 25 a 40 años, siendo estadísticamente significativo en los que presentan alguna manifestación clínica genitourinaria o anal (9,96%; p-valor 0,001). En los sujetos que acuden a consulta sin presentar manifestaciones clínicas genitourinarias o anales, la mayor prevalencia se presenta entre los sujetos mayores de 25 años (p-valor <0,001).

Respecto a los hombres, en los que tienen edades comprendidas entre los 25 y 40 años, la prevalencia es prácticamente similar en sintomáticos y asintomáticos, mientras que en los mayores de 40 años la prevalencia es más elevada en los que presentan algún síntoma o signo de infección genitourinaria o anal (p-valor: 0,012).

En el total de los hombres sintomáticos (1455 sujetos), encontramos un porcentaje de positividad del 7,97%, frente al 7,20% hallado en el total de los asintomáticos (p-valor 0,613). Los datos muestran que en los hombres tampoco hay una correlación significativa entre presentar síntomas y tener un resultado positivo para la infección por *C. trachomatis*.

En la tabla 29 se muestra la prevalencia hallada en cada consulta y la presencia o no de manifestaciones clínicas en las mujeres. En la consulta de Ginecología, las prevalencias observadas en las pacientes sintomáticas y las asintomáticas son de 6,87% y 3,81% respectivamente (p-valor 0,040), estas últimas acudieron a consulta para realizar un chequeo ginecológico rutinario. En las que acuden a la Unidad de ITS las prevalencias no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 29: Prevalencia de la infección por *C. trachomatis* según la consulta realizada por las mujeres.

CARACTERISTICAS	PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i> EN MUJERES				P-valor
	Sintomáticas (%)	IC 95%	Asintomáticas (%)	IC 95%	
Consulta de Ginecología	6,87	5,489-8,135	3,81	1,719-5,911	0,040
Unidad de ITS	8,58	7.198-9,980	7,50	5,568-8,154	0,292

En los hombres que acudieron a la Unidad de ITS, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los que presentan alguna manifestación clínica y los sujetos que no presentan ningún síntoma ni signo clínico de infección y que acuden a la unidad para realizar un chequeo rutinario por tener conductas sexuales de riesgo (p 0,504) (tabla 30). En la consulta de Urología, no se encontró ningún paciente asintomático positivo para la infección por *C. trachomatis*

Tabla 30: Prevalencia de la infección por *C. trachomatis* según la consulta realizada por los hombres

CARACTERÍSTICAS	PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR <i>C.trachomatis</i> EN HOMBRES				P-valor
	Sintomáticos (%)	IC 95%	Asintomáticos (%)	IC 95%	
Consulta de Urología	4,05	0,844-11,394	0	0	<0,0001
Unidad de ITS	8,18	6,352-9,337	7,21	4,971-9,155	0,504

4.1.2.- Resultados de los jóvenes incluidos en el grupo de referencia. Grupo C

La media de edad de este grupo fue de 21,28 años (rango de 15 a 24).

Encontramos una prevalencia global de infección por *C. trachomatis* del 4,10%. En las mujeres, se estimó una prevalencia de 4,10 % frente al 4,30 %, encontrado en los hombres. En la tabla 35, se puede observar la distribución de estos sujetos, todos <25 años.

Tabla 35: Pacientes analizados y prevalencia encontradas en el grupo de jóvenes pertenecientes al grupo C.

RANGO EDAD (AÑOS)	MUJERES ANALIZADAS N	MUJERES POSITIVAS N (%)	HOMBRES ANALIZADOS N	HOMBRES POSITIVOS N (%)	TOTAL ANALIZADOS N	TOTAL POSITIVOS N (%)
< 25	277	11 (4,10)	210	9(4,30)	487	20(4,10)

4.1.3 Pacientes sintomáticos: grupo A

Se incluyeron 4554 (62,80%) sujetos [3099 mujeres (59,92%) vs 1455 hombres (69,98%)] que presentaron manifestaciones clínicas genitourinarias o anales el momento de la recogida de la muestra

La prevalencia de la infección por *C. trachomatis*, en este grupo, fue del 7,84%. Comparando los resultados de mujeres y hombres, se observaron prevalencias muy similares 7,77% vs 7,97%, respectivamente, no se aprecian diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0,864). Los resultados obtenidos, en función del tipo de consulta realizada, muestran que existe una mayor prevalencia de la infección, en las mujeres sintomáticas atendidas en la Unidad de ITS 8,58% vs 6,87% de la consulta de Ginecología pero, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0,087) (tabla 31).

Tabla 31: Prevalencia de la infección por *C.trachomatis* y análisis del tipo de consulta realizada en las mujeres del grupo A.

CARACTERISTICAS	MUJERES SINTOMÁTICAS TESTADAS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C. trachomatis</i>	
	Sintomáticas N (%)	Positivas N (%)
Ginecología	1469(47,40)	101(6,87)
Esterilidad	0	0
Obstetricia	0	0
Unidad de ITS	1630(52,61)	140(8,58)
Total	3099	241(7,77)

En los hombres, los datos tampoco muestran diferencias estadísticamente significativas y reflejan prevalencias de la infección de 4,05% en la consulta de Urología frente a 8,18% de la Unidad de ITS (p-valor 0,290) (tabla 32)

Tabla 32: Prevalencia de la infección por *C.trachomatis* y análisis del tipo de consulta realizada en los hombres del grupo A

CARACTERISTICAS	HOMBRES SINTOMÁTICOS TESTADAS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C.TRACHOMATIS</i>	
	Sintomáticos N (%)	Positivos N (%)
Urología	74(5,28)	3(4,05)
Unidad de ITS	1381(94,91)	113(8,18)
Total	1455	116(7,97)

4.1.4.- Pacientes asintomáticos: grupo B

Se incluyeron 2697 (37,56%) sujetos [2072(40,08%) mujeres y 625(31,07%) hombres] que no presentaron manifestaciones clínicas genitourinarias ni anales, en el momento de la recogida de la muestra.

En este grupo, la prevalencia global de la infección fue del 6,86%. Analizando los datos por sexo, se observaron prevalencias de 6,75% en mujeres y 7,20% en hombres, sin encontrarse diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0,768).

Analizando los datos obtenidos en las distintas consultas, se observa una prevalencia del 3,81% en las mujeres asintomáticas de la consulta de Ginecología, que acuden para un chequeo ginecológico rutinario, frente al 7,50% de la Unidad de ITS (p-valor 0,010) (tabla 31). En cuanto a los hombres, debido al bajo número de sujetos

pertenecientes a la consulta de Urología no se pueden calcular diferencias estadísticas (tabla 33).

Tabla 33: Prevalencia de la infección por *C.trachomatis* y análisis del tipo de consulta realizada en las mujeres del grupo B.

CARACTERISTICAS	MUJERES ASINTOMÁTICAS TESTADAS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C.TRACHOMATIS</i>	
	Asintomáticas N (%)	Positivas N (%)
Ginecología*	367(17,71)	14(3,81)
Esterilidad	120(5,79)	6(5)
Obstetricia	40(1,93)	4(10)
Unidad de ITS	1545(74,56)	116(7,50)
Total	2072	140(6,75)

* Chequeo ginecológico rutinario

Tabla 34: Prevalencia de la infección por *C.trachomatis* y análisis del tipo de consulta realizada en los hombres del grupo B.

CARACTERISTICAS	HOMBRES ASINTOMÁTICOS TESTADAS PARA LA INFECCIÓN POR <i>C.TRACHOMATIS</i>	
	Asintomáticos N (%)	Positivos N (%)
Urología	1(0,16)	0
Unidad de ITS	624(99,83)	45(7,21)
Total	625	45 (7,20)

4.1.5 Comparación de los resultados de prevalencia de los grupo A y B respecto al grupo C

La prevalencia encontrada en los grupos A y B (7,47%) respecto a la hallada en el grupo de referencia (4,10%), muestra diferencias estadísticamente significativas (p-valor <0,001).

Si comparamos los datos en ambos grupos, se observan diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias encontradas en las mujeres <25 años de los grupos A y B (11,17%) vs las observadas en las mujeres < 25 años del grupo de referencia (4,00%) (p-valor 0,004). Analizando los datos encontrados en los hombres, en ese mismo rango de edad, entre la serie estudiada y el grupo control, hallamos prevalencias de 5,30% frente a 4,30% respectivamente (p-valor 0,959), sin diferencias estadísticamente significativas.

4.2.-RESULTADOS SEGÚN LA PROCEDENCIA ANATÓMICA DE LA MUESTRAS

a) Muestras de los pacientes sintomáticos y asintomáticos incluidos en los grupos A y B

Después de descartar los 163 especímenes por no ser de procedencia urogenital, rectal o faríngea se estudiaron 7632(97.88%) muestras, obteniéndose un resultado positivo en 542 (7.03%). En la figura 30 se puede observar la procedencia anatómica de las mismas.

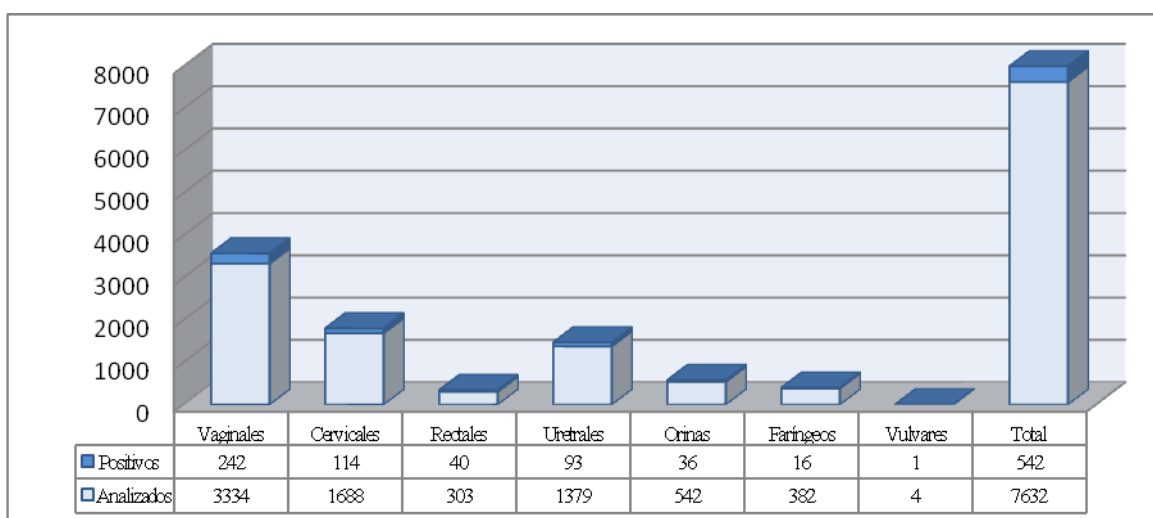


Figura 30: Muestras analizadas y positivas de los grupos A y B

a) Grupo C: Grupo de referencia

De las 487 muestras de orina estudiadas en este grupo, fueron positivas 20 (4,10%).

4.2.1.-Resultados en función de la localización anatómica de las muestras en mujeres sintomáticas y asintomáticas

En la tabla 36, aparecen reflejados los porcentajes de positividad encontrados en las distintas muestras de las mujeres estudiadas. El p-valor (0,686) calculado entre las prevalencias encontradas en los exudados vaginales, endocervicales y las muestras de orina muestra que no existen diferencias estadísticamente significativas. Se puede afirmar que en las tres muestras existe un porcentaje de positividad similar.

Tabla 36: Porcentajes de positividad encontrados en las muestras estudiadas en mujeres

ORIGEN	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)	IC 95%
Vagina	3334	242 (7,26)	6,36-8,15
Endocérvix	1688	114 (6,75)	5,52-7,98
Orina	295	19(6,44)	3,47-9,41
Faringe	117	5(4,27)	1,40-9,69
Procedencia vulvar	4	1(25)	
Total	5438	381(7,00)	6,51-7,93

a) Muestras vaginales

En la tabla 37, se observa como porcentaje de muestras vaginales positivas, es mayor en aquellas mujeres con edad <25 años. El p-valor calculado entre los diferentes rangos de edad (< 0,001), demuestra diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 37: Muestras vaginales analizadas y positivas de las mujeres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS VAGINALES	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	614	63(10,26)
25-40	1904	152(7,98)
>40	816	27(3,31)
TOTAL	3334	242(7,25)

b) Muestras endocervicales

Se puede afirmar que el porcentaje de positividad de los exudados endocervicales, en las mujeres con edad <25 años, es mayor que en los demás grupos etarios (tabla 38). El p-valor (<0,001), encontrado entre los diferentes grupos de edad, muestra diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 38: Muestras endocervicales analizadas y positivas de las mujeres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS ENDOCERVICALES	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	333	35(10,51)
25-40	1136	70(6,16)
>40	220	9(4,5)
TOTAL	1689	114 (6,75)

a) Orinas

En la tabla 39, observamos como a pesar de existir un mayor número de muestras de orina positivas en las mujeres con edad menor a 25 años, no existen diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0,780), con respecto a los demás grupos etarios. No podemos afirmar que en las orinas pertenecientes a pacientes menores de 25 años, exista un mayor porcentaje de positividad respecto a las mujeres pertenecientes a otros rangos de edad.

Tabla 39: Orinas analizadas y positivas en mujeres de los grupos A y B

RANGO EDAD	ORINAS	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	123	9(7,32)
25-40	172	10(5,81)
>40	0	0
TOTAL	295	19(6,44)

b) Muestras faríngeas

Debido al bajo número de muestras positivas obtenidas (tabla 4), no se puede calcular ninguna significación estadística.

Tabla 40: Muestras faríngeas analizadas y positivas en mujeres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS FARÍNGEAS	
	ANALIZADAS	POSITIVAS (%)
<25	1	0
25-40	116	5(4,31)
>40	0	0
TOTAL	117	5(4,27)

c) Muestras de procedencia vulvar

Se estudiaron cuatro muestras de procedencia vulvar (exudado, tejido, absceso, biopsia) de una misma paciente que presentaba un cuadro de elefantiasis. Encontramos únicamente 1 (25%) resultado positivo en el absceso vulvar.

4.2.2.-Resultados en función de la localización anatómica de las muestras en hombres sintomáticos y asintomáticos

En la tabla 41, aparecen los resultados de positividad encontrados en las muestras de los hombres de los grupos A y B. El p-valor calculado entre los porcentajes hallados en uretra, orina, recto y farínge es 0,003. Por tanto, se puede asumir que en los exudados rectales de los hombres, el porcentaje de positivos es mayor que en muestras con otra localización anatómica.

Tabla 41: Porcentajes de positividad encontrados en las muestras estudiadas en hombres

ORIGEN	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)	IC 95%
Uretra	1379	93(6,74)	5,48-8,25
Recto	303	40(13,20)	8,29-17,25
Orina	247	17(6,88)	3,52-10,24
Farínge	265	11(4,15)	1,56-6,74
Total	2194	161(7,34)	6,04-8,28

a) Muestras uretrales

En la tabla 42, se observa un mayor número de muestras uretrales positivas en los hombres con edades comprendidas entre los 25 y los 40 años. A pesar de este dato, el p-valor (0,151) calculado entre los diferentes porcentajes, demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los distintos rangos de edad.

Tabla 42: Muestras uretrales analizadas y positivas en hombres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS URETRALES	
	ANALIZADAS	POSITIVAS (%)
<25	282	12(4,25)
25-40	768	60(7,81)
>40	329	21(6,38)
TOTAL	1379	93(6,74)

Noventa y seis muestras uretrales pertenecían únicamente a HSH, de las que fueron positivas 6 (6,25%). Si analizamos sólo los 1283 exudados uretrales de pacientes heterosexuales, encontramos 87 (6,78%) muestras positivas.

b) Muestras rectales

Aunque existe un mayor número de muestras rectales positivas, en los hombres entre los 25 y 40 años (tabla 43), el p-valor (0,727) calculado entre los porcentajes encontrados en los diferentes rangos de edad no muestra diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 43: Muestras rectales analizadas y positivas en hombres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS RECTALES	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	85	10(11,76)
25-40	172	25(14,53)
>40	46	5(10,86)
TOTAL	303	40(12,39)

b) Orinas

En la tabla 44 se muestran el porcentaje de muestras de orina positivas encontrado en los diferentes grupos etarios. No existen diferencias estadísticamente significativas (p-valor 0,590), entre los resultados encontrados en los diferentes rangos de edad.

Tabla 44: Orinas analizadas y positivas en los hombres de los grupos A y B

RANGO EDAD	ORINAS	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	34	18(2,94)
25-40	139	11(7,91)
>40	74	5(6,76)
TOTAL	247	17(6,88)

d) Muestras faríngeas

En la tabla 45 se observa el número de muestras faríngeas positivas encontradas en los distintos rangos de edad. Las diferencias en el porcentaje de positividad, entre los diferentes grupos etarios no son estadísticamente significativas con un p-valor calculado de 0,330.

Tabla 45: Muestras faríngeas analizadas y positivas en hombres de los grupos A y B

RANGO EDAD	MUESTRAS FARÍNGEAS	
	ANALIZADAS N	POSITIVAS N (%)
<25	169	5(2,96)
25-40	96	6(6,25)
>40	0	0
TOTAL	265	11(4,45)

4.2.3.- Rendimiento diagnóstico de las diferentes muestras

Para determinar el rendimiento diagnóstico de las distintas muestras, se tomaron especímenes, de un mismo paciente, en varios sitios anatómicos.

En el caso de las mujeres se recogieron simultáneamente 129 exudados vaginales y endocervicales. Los resultados obtenidos para ambos sitios anatómicos aparecen reflejados en la tabla 46.

Tabla 46: Resultados de la PCR en muestras vaginales y endocervicales recogidas simultáneamente

MUESTRAS ENDOCERVICALES			
MUESTRAS VAGINALES	PCR (+)	PCR (-)	Total
PCR (+)	35 (27,13%)	3 (2,32%)	36 (27,91%)
PCR (-)	1(0,77%)	90 (69,76%)	93 (72,09%)
Total	36 (20,75%)	93 (79,24%)	129 (100%)

Indice Kappa=0,924

Existe una concordancia muy buena entre los exudados vaginales y los endocervicales, ya que sólo son discordantes 4 muestras (3,1%). *C. trachomatis* fue detectada a la vez en 35 (27,13%) de las pacientes mientras que el número de positivos sólo en vagina o en endocérvix fue 1(0,77%) vs 3(2,32%) respectivamente. Se puede asumir que ambas muestras tienen el mismo rendimiento diagnóstico.

En el caso de los hombres, se pudieron recoger simultáneamente muestras de diferentes muestras anatómicas solo en los HSH. En ellos, se recogieron de forma paralela 153 exudados rectales y faríngeos, así como 96 muestras rectales y uretrales. Los resultados aparecen reflejados en las tablas 47 y 48.

Tabla 47: Resultados de la PCR en muestras rectales y faríngeas recogidas simultáneamente

MUESTRAS FARÍNGEAS			
MUESTRAS RECTALES	PCR (+)	PCR (-)	Total
PCR (+)	10 (6,50%)	66 (43,13%)	76 (49,67%)
PCR (-)	3(1,96%)	74 (48,36%)	77 (50,33%)
Total	13 (8,49%)	140 (91,50%)	153 (100%)

Indice Kappa= 0,093

Tabla 48: Resultados de la PCR en muestras rectales y uretrales recogidas simultáneamente

MUESTRAS URETRALES			
MUESTRAS RECTALES	PCR (+)	PCR (-)	Total
PCR (+)	5 (5,20%)	35 (36,40%)	40 (41,70%)
PCR (-)	1(1,04%)	55 (57,30%)	56 (58,30%)
Total	6 (6,25%)	90 (93,75%)	96 (100%)

Indice Kappa=0,122

No existe buena concordancia entre las muestras rectales y faríngeas, ya que en 69 (45,09%) sujetos no se obtiene el mismo resultado en ambos sitios anatómicos. Respecto a los exudados rectales y uretrales, la concordancia también es baja, con resultados dispares, en las dos localizaciones anatómicas, en 36 (37,5%) muestras. *C. trachomatis* fue detectada simultáneamente en 10(6,5%) exudados faríngeos y en 5 (5,2%), exudados uretrales e identificada en muestras rectales y no en otro sitio anatómico en 25 (43,13%) y 35(36,4%) respectivamente.

4.3.- GENOTIPOS CIRCULANTES

Establecimos el genotipo en 315 (56,09%) de las 562 muestras que fueron positivas para la infección por *C. trachomatis*. Con este número se consiguen intervalos de confianza al 95% con una precisión del 20% en proporciones superiores al 14%, lo que permite obtener datos con una significación estadística buena. La figura 31 muestra el árbol filogenético elaborado con las cepas conocidas de *C. trachomatis* y algunas de las obtenidas en el presente trabajo, *C. muridarum* (MoPnT) fue utilizada como grupo aparte.

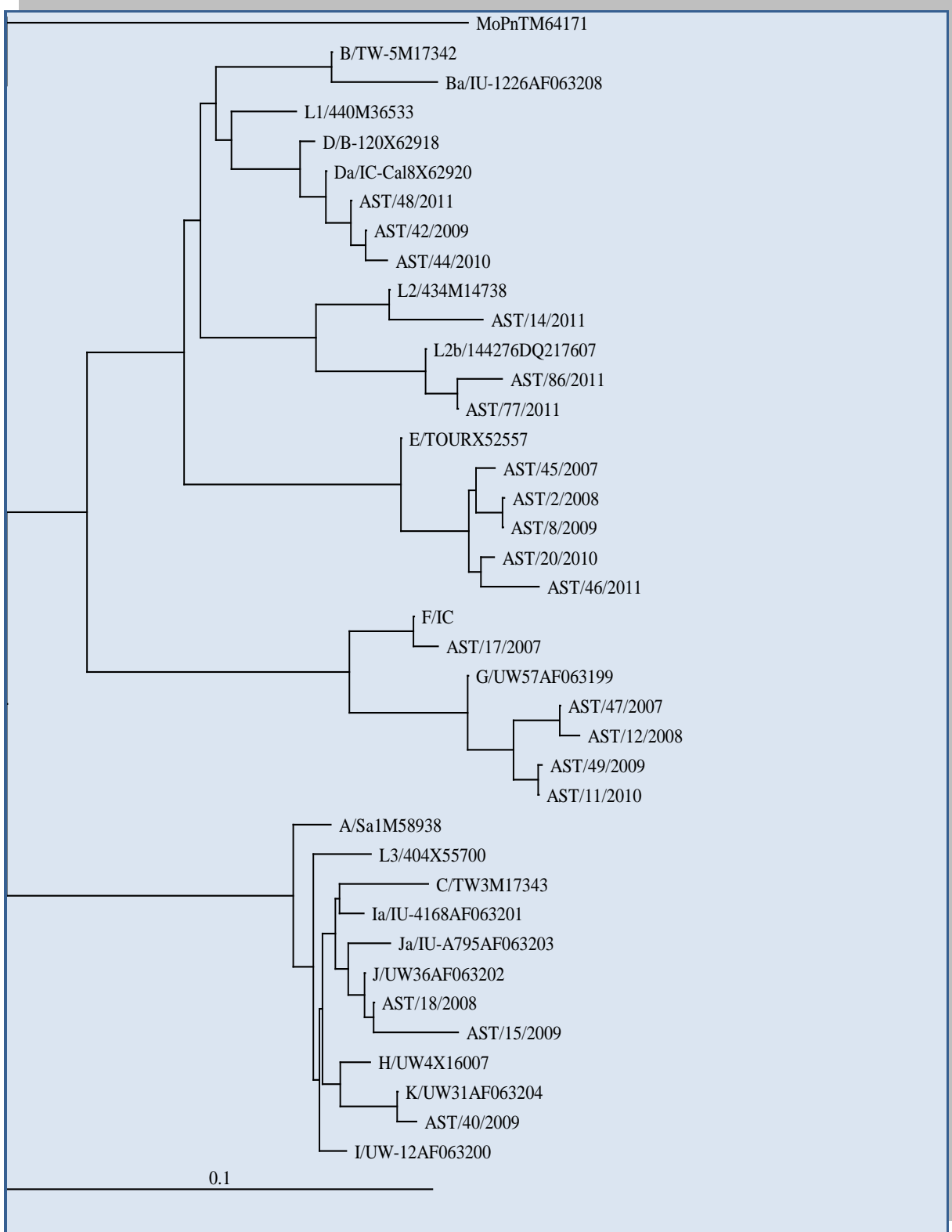


Figura 31: Análisis filogenético de las cepas representativas de los distintos genotipos de *C. trachomatis* y algunas de las obtenidas en el presente estudio. *C. muridarum* (MoPnT) fue usado como grupo aparte. La nomenclatura de la cepa representativa es genotipo/nombre de la cepa y la de las cepas obtenidas en este estudio AST/número de referencia/año.

4.3.1.- Distribución de genotipos según sexo

a) Pacientes de los grupos A y B

Se obtuvo un resultado positivo en 542 pacientes, pertenecientes a la serie formada por los grupos A y B. Se genotiparon 298 (54,98%) episodios [200 (67,11%) en mujeres y 98(32,88%) en hombres]. Los genotipos E, G y D comprenden el 84,56% de las cepas genotipadas, en ambos sexos. En la tabla 49, se puede apreciar como el genotipo E (121, 40,60%) es el más prevalente tanto en mujeres como en hombres, encontrándose prevalencias de 38,69% vs 44,90%, respectivamente. Por orden de frecuencia le siguen G (74, 24,83%), D (57, 19,12%), F (25, 8,39%), J (15, 5,03%) y K (3, 1,00%), L2b (2, 0,67%) y L2 (1, 0,50%).

Tabla 49: Distribución de los genotipos encontrados en hombres y mujeres de los grupos A, B

	MUJERES N=200			HOMBRES N=98			p-valor
	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	
E	77	38,50	31,67-45,71	44	44,90	36,72-58,73	0,192
G	52	26,00	20,71-33,56	19	22,45	11,46-29,45	0,291
D	37	18,50	12,05-23,13	22	20,41	12,43-30,76	0,458
F	20	10,00	5,62-14,48	5	5,10	1,87-12,76	0,326
J	10	5,00	1,74-8,31	6	5,10	1,25-11,23	0,902
K	3	1,50	0,31-4,34	0	0		
L2	1	0,50		0	0		
L2b	0	0		2	2,04		

b) Grupo C: Grupo de referencia

De los 20 (4,1%) sujetos positivos en el grupo control [11(%) mujeres y 9(%) hombres], se estableció el genotipo en 17 (85%) episodios correspondientes a 9 mujeres y 8 hombres, siendo el genotipo E el único encontrado (n=18, 100%).

4.3.2.- Distribución de los genotipos según sexo y rango de edad

4.3.2.1.- Distribución de genotipos en mujeres

La tabla 50 muestra como en el rango de edad comprendido entre los 25 y 40 años, se encuentra una mayor variedad de genotipos, mientras que en las mujeres <25 años y las > 40 años, se aíslan principalmente genotipos E y G (< 0,001).

Tabla 50: Distribución de genotipos en las mujeres de los grupos A y B

RANGO DE EDAD	POSITIVAS N	GENOTIPADAS N (%)	GENOTIPOS N (%)						
			E	G	D	F	J	K	L2
<25	109	52(47,71)	31(59,62)	16(30,77)	3(5,77)	1(1,92)	1(1,92)	0	
25-40	236	139(58,72)	40(28,99)	33(23,91)	34(24,64)	19(13,77)	9(6,52)	3(2,17)	1(0,71)
>40	36	9(25)	6(66,66)	3(33,34)	0	0	0	0	
Total	381	200(52,36)	77(38,70)	52(26,13)	37(18,60)	20(10,05)	10(5,02)	3(1,50)	1(0,50)

4.3.2.2.-Distribución de los genotipos en hombres

Como refleja la tabla 51, la tendencia en cuanto a la distribución de genotipos, es la misma que la encontrada en las mujeres. Existe una mayor variedad de genotipos en el grupo etario entre los 25 y 40 años, mientras que en los hombres <25 años y en los >40 años se aíslan principalmente genotipos E y G. Estas diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas (p-valor 0,104).

Tabla 51: Distribución de genotipos en los hombres de los grupos A y B

RANGO DE EDAD	POSITIVOS N	GENOTIPADOS N (%)	GENOTIPOS N (%)						
			E	G	D	F	J	L2b	
<25	30	19(63,33)	13(68,42)	6(26,67)	-	-	-		
25-40	99	61(61,61)	25(40,98)	9(14,75)	18(29,50)	4(6,55)	3(4,91)	2(3,28)	
>40	32	18(56,25)	6(33,33)	4(22,22)	4(22,22)	1(5,55)	3(16,66)		
Total	161	98(60,86)	44(44,89)	19(19,39)	22(22,44)	5(5,10)	6(6,12)	2(2,04)	

4.3.3. Distribución de los genotipos según la localización anatómica

4.3.3.1.-Distribución de los genotipos las mujeres de los grupos A y B

La tabla 52 describe los genotipos encontrados en las distintas muestras recogidas en las mujeres. Se puede observar como el genotipo D se aísla con mayor frecuencia en la orina (50%) vs exudados vaginales (18,68%) y exudados endocervicales (10,22%), encontrándose entre estas muestras, diferencias estadísticamente significativas (p-valor <0,001). Respecto a los otros genotipos, no existen diferencias destacables

Tabla 52: Resultados del genotipado de las muestras de las mujeres de los grupos A y B.

	Exudados uretrales N=40			Exudados rectales N=36			Orinas N= 16			Exudados faríngeos N=6			p-valor
	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	N	%	IC95%	N	%	IC95%	
E	21	52.50	35.77-69.22	15	41,66	27.45-68.85	6	37,50	15.20-64.56	2	33.33	4.33-77.72	0,622
G	4	10.00	2.79-23.66	10	27,77	13.70-52.96	2	12.50	1.55-38.35	3	50	11.81-88.19	0,047
D	10	25.00	10.33-39.67	5	5,55	0.91-24.29	6	31.25	15.20-64.57	1	16.66	0.42-64.12	0,277
F	3	7.50	1.57-20.39	0	0		2	12.5	1.55-38.35				0,617
J	2	5.00	0.61-16.92	4	11,54	0.91-24.29							0,414
L2b				2	5,55								

También se estableció el genotipo en una única muestra positiva de procedencia vulvar (absceso vulvar), en la que encontró una cepa L2.

4.3.3.2.- Distribución de los genotipos en hombres de los grupos A y B

En la tabla 53 se recoge la distribución de los episodios genotipados en las diferentes muestras pertenecientes a los hombres. Se puede observar que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 53: Resultados del genotipado en las muestras de hombres de los grupos A y B

	Exudados endocervicales N=88			Exudados vaginales N=91			Orinas N= 18			Exudados faríngeos N=2			pvalor
	N	%	IC 95%	N	%	IC 95%	N	%	IC95%	N	%	IC95%	
E	38	43,18	31,26-53,45	34	38,46	27,92-49	3	16,66	3.58-41.42	2	40	15,81-100	0,063
G	28	31,81	21,28-42,25	23	26,37	16,77-35,98	1	5,55	0.14-27.29				0,074
D	9	10,22	3,46-17,72	19	18,68	10,12-27,24	9	50	26.02-73.98				<0,001
F	7	8,23	1,80-14,67	10	10,98	4,01-17,96	3	16,66	3.58-41.42				0,543
J	5	5,88	1,94-13,20	4	4,39	1,21-10,87	1	5,55	0.14-27.29				0,903
K	1	1,17	0,03-6,38	1	1,09	0,03-5,97	1	5,55	0.14-27.29				0,352

4.3.4.- Genotipos y manifestaciones clínicas

Se estableció el genotipo en 298 episodios; 177(59.19%) de pacientes sintomáticos y 121 (42.16%) asintomáticos.

El genotipo G fue el mas prevalente entre los que presentaban alguna manifestación clínica (n=65, 36,72%), seguido de D (n=45, 25,42%) y E (n= 25, 14,12 %) (p<0.001). En los pacientes asintomáticos, se aisló fundamentalmente el genotipo E

(n=92, 76,03 %), seguido en mucho menor porcentaje por los genotipos D (n=14, 11,57 %) y J (n=9, 7,37%) (p<0.001). En la tabla 54 se muestran los resultados de los episodios genotipados.

Tabla 54: Episodios genotipados en mujeres y hombres de los grupos A y B

GENOTIPOS	MUJERES N=200		HOMBRES=98	
	Sintomáticas N (%)	Asintomáticas N (%)	Sintomáticos N (%)	Asintomáticos N (%)
E	16 (14,54)	61 (67,77)	13 (19.30)	31 (100)
G	46 (41,81)	6 (6,66)	19 (26.31)	0
D	23 (20,90)	14 (15,15)	22 (36.84)	0
F	20 (18,18)	0	5 (8.77)	0
J	1 (0,90)	9 (10,00)	6 (8.77)	0
K	3 (2,72)	0	0	0
L2	1(0,90%)	0	0	0
L2b	0	0	2(2,04)	0
TOTAL (298)	110 (36,91)	90 (30,20)	67 (22,48)	31 (10,40)

El genotipo E fue aislado con más frecuencia en pacientes sin síntomas o signos clínicos de infección en el momento de la recogida de muestra (n=92, 76,03%) frente a los pacientes con sintomatología clínica (n= 29, 16,38%) (p-valor <0.001). Por el contrario, el genotipo G se identificó en 65 pacientes (36,72%) vs 6 (4.96%) asintomáticos (p<0.001). El genotipo D, también fue más frecuente en sujetos con sintomatología clínica (n=45, 25,42%) vs los asintomáticos (n=14, 11,57%) (p-valor <0.001).

El genotipo F, se presentó exclusivamente en los pacientes sintomáticos (n=25, 14,12%) (p-valor <0.001).

Los genotipo distintos al E se aíslan más en las mujeres con manifestaciones clínicas (n=94, 85,45%) que en las asintomáticas (n=29, 32,22%) (p<0.001) (tabla 55). Los genotipos G, D y F son los que ocasionan manifestaciones clínicas con más frecuencia (89 casos, 80,90%) frente a los E, K, J y L2 (21 casos, 19,09%) (p valor <0.001). Por el contrario, el genotipo E se encontró más habitualmente, en las mujeres que no presentaban manifestaciones clínicas (n=61, 67,77%) vs las mujeres sintomáticas (n=16, 14,54%) (p<0.001).

a) Asociación de genotipos y manifestaciones clínicas en mujeres

Las manifestaciones clínicas de las mujeres, en las que se determinó el genotipo de *C. trachomatis*, se muestran en la tabla 55. La manifestación clínica más habitual en éstas fue leucorrea (37 casos, 18,50%) IC 95% [12,87-24,13]. Se asoció a infección concurrente por *C. albicans* en 17 mujeres (45,94 %). En 20 (54,05%), la única infección demostrada fue por *C. trachomatis*, observándose el genotipo D en 13 casos (65,00 %) y siendo este dato estadísticamente significativo comparado con el número de episodios (n=7, 35,00 %) originados por otros genotipos (p-valor <0,001).

En la mujeres genotipadas con diagnóstico de EPI o que presentaban una manifestación clínica sugestiva de ésta (dolor abdominal bajo), sólo se encontraron genotipos F y G (p valor <0,001), sin observarse relación con otra infección concurrente.

De las 15 mujeres genotipadas que presentaron cervicitis, 10 (53,33%) presentaban displasia cervical [SIL bajo grado, n=6; SIL alto grado, n=4] diagnosticándose infección concomitante por VPH.

En la tabla 56 se muestran las infecciones concurrentes en las mujeres infectadas por *C. trachomatis*. En 32 (16,00 %) [IC 95%: 10,67-21,33] se presentaron episodios que pudieron estar ocasionados por otros patógenos, como *Candida spp* (17 casos, 8,5%), VPH (11, 5,5%), VHS-2 (2, 1,00%), *G. vaginalis* (1, 0,50%) y *T. vaginalis* (1, 0,50%)

Tabla 55: Asociación de manifestaciones clínicas y genotipos en las mujeres

MUJERES SINTOMÁTICAS	N	GENOTIPO N (%)
EPI Leucorrea Cervicitis Dolor abdominal bajo Vaginitis Uretritis	7 12 15 7 3 2	G 46 (41,81)
Leucorrea	23	D 23 (20,90)
EPI Dolor abdominal bajo	8 12	F 20 (18,18)
Dispareunia Eritema vulvar Prurito vulvar Disuria	4 6 4 2	E 16 (14,54)
Leucorrea Lesiones vesiculares vulvares	2 1	K 3 (2,72)
Prurito vulvar	1	J 1 (0,90)
Elefantiasis vulvar	1	L2 1 (0,90)
Total		110 (54,77)
MUJERES ASINTOMÁTICAS	90	E 61 (67,77%) D 14 (15, 55%) J 9 (10%) Ga 6 (6,66%)
TOTAL		90(45.23)

Tabla 56: Infecciones concurrentes en las mujeres infectadas por *C. trachomatis*

GENOTIPO	INFECCIONES CONCOMITANTES (%)				
	VPH	<i>Candida spp</i>	VHS-2	<i>G. vaginalis</i>	<i>T. vaginalis</i>
E			1(0,50)	1(0,50)	1(0,50)
G	10(5)	5(2,5)			
D	1(0,50)	10(5,0)			
J		1(0,5)			
K		1(0,5)	1(0,50)		
Total	11(5,5)	17(8,5)	2(1,00)	1(0,50)	1(0,50)

b) Asociación de genotipos y manifestaciones clínicas en hombres

En la tabla 57 se muestran las manifestaciones clínicas encontradas en los 98 hombres, genotipados. Al igual que sucede en las mujeres, se aprecia un mayor porcentaje de genotipos diferentes al E en los que muestran algún síntoma o signo clínico de infección genitourinaria o anal (n= 54, 78,57%), frente a los asintomáticos, en los que sólo se aíslan cepas E (p valor <0.001). Al igual que en las mujeres, los genotipos G y D (41 casos, 80,70%) son los que ocasionan más manifestaciones clínicas frente a las cepas E, F, J y L2b (26 casos, 38,80%) (p valor <0.001).

La manifestación clínica más habitual fue la balanitis 15 casos (15,30%) [IC 95%: 7,67-22,94], observándose exclusivamente asociada a infección por el genotipo D de *C. trachomatis* (p-valor <0,001), sin evidenciarse coinfección por otro patógeno.

En la tabla 58 se muestran las infecciones concurrentes en los hombres infectados por *C. trachomatis*. En 41 sujetos (41,83%) [IC95%: 31,56-52,11] se evidenció la presencia, de forma simultánea, de otros patógenos como *T. pallidum* (10 casos, 10,20%) VPH (9, 9,18%), VIH-1 (5, 5,10%), VHS-2 (4, 4,08%) *U. urealyticum* (4 casos, 4,08%), *Candida spp* (3, 3,06%), *M. contagiosum* (2, 2,04%), *N. gonorrhoeae* (2, 2,04%), *M. genitalium* (1, 1,02%) y VHB (1, 1,02%).

Tabla 58: Infecciones concurrentes en los hombres infectados por *C. trachomatis*

GENOTIPO	INFECCIONES CONCOMITANTES (%)									
	<i>Candida spp</i>	VPH	VHS-2	<i>M. genitalium</i>	<i>U. urealyticum</i>	<i>M. contagiosum</i>	Gonorrea	VIH	Sífilis	VHB
E	2(2,04)	3(3,06)			1(1,02)			3(3,06)	6(6,12)	
G		3(3,06)			3(3,06)		1(1,02)	1(1,02)	2(2,04)	
D		2(2,04)	4(4,08)			1(1,02)		1(1,02)	1(1,02)	
F				1(1,02)			1(1,02)		1(1,02)	
J	1(1,02)					1(1,02)				
L2b		1(1,02)								
No tipable										1(1,02)
Total	3(3,06)	9(9,18)	4(4,08)	1(1,02)	4(4,08%)	2(2,04)	2(2,04)	5(5,10)	10(10,20)	1(1,02)

Tabla 57: Manifestaciones clínicas y genotipos en los hombres

HOMBRES SINTOMÁTICOS	N	GENOTIPO N (%)
Sangrado rectal Balanitis Lesiones en pene Verrugas genitales Fístula anal	1 15 3 1 2	D 22 (32,83)
Eritema perianal Ulcera anal Exudado anal y tenesmo Disuria y dolor	2 7 1 9	G: 19 (28,35)
Dolor anal Dolor abdominal inespecífico Escozor en perimeato	2 3 8	E 13 (19,40)
Uretritis	5	F 5 (7,46)
Dolor inespecífico en pene Disuria y dolor Dolor inguinal	3 2 1	J 6 (8,95)
Prurito anal Proctitis	1 1	L2b 2 (2,98)
Total		67 (68,36)
HOMBRES ASINTOMÁTICOS	31	E 31(31,63)
TOTAL		31

Por ser un colectivo con conductas sexuales diferentes, y con el fin de valorar posibles diferencias, respecto a los hombres heterosexuales, en los genotipos infectantes y las manifestaciones clínicas producidas por éstos, decidimos hacer un análisis separado de un grupo de hombres que refirieron ser homosexuales. En la tabla 59, se muestran los datos obtenidos analizando separadamente los 40 pacientes HSH, 25 (62,5%) [IC 95%:46,2-78,7] pacientes mostraron alguno de los síntomas descritos,

mientras que 15 (37,5%) [IC 95%:21,25-53,75] sujetos no presentaron ningún síntoma.

Tabla 59: Manifestaciones clínicas y genotipos en los hombres homosexuales

HSH SINTOMÁTICOS	N	GENOTIPOS N (%)
Fistula anal	2	D 5 (12,5)
Sangrado rectal	1	
Balanitis	2	
Dolor anal	2	E 4 (10)
Dolor abdominal inespecífico	2	
Eritema perianal	2	G 10 (25)
Úlcera anal	7	
Exudado anal y tenesmo	1	
Dolor inespecífico pene	1	J 4 (10)
Disuria y dolor	2	
Dolor inguinal	1	
Prurito anal	1	L2b 2 (5)
Proctitis	1	
Total	25	
HSH ASINTOMÁTICOS	15	E 11 (27,5)
		No tipables 4 (10)
Total	40	

El síntoma clínico más frecuente en estos sujetos fue la úlcera anal (7 casos, 17,5%) [IC 95%: 4,47-30,52]. Ningún genotipo E fue detectado en 21 (84%) [IC 95%: 63,9-95,5] de los 25 pacientes con síntomas clínicos. Por otro lado, los hombres asintomáticos presentaron exclusivamente el genotipo E ($p < 0.001$).

El estudio de la relación entre genotipos y presencia de otra ITS concomitante, en estos pacientes, mostró que 27 (67,5%) [IC 95%:51,7-83,2] sujetos tuvieron episodios ocasionados por otros patógenos, como sífilis (10 casos, 25%), VPH (7,

17,5%), VIH-1 (5, 12,5%), VHS-2 (3, 7,5%), gonorrea (1, 2,5%) y VHB (1, 2,5%) (tabla 60).

Tabla 60: ITS concurrentes en los HSH infectados por *C. trachomatis*

GENOTIPO	ITS CONCOMITANTES (%)					
	SÍFILIS	VIH-1	CONDILOMAS	VHS-2	GONORREA	VHB
E	6(15,0%)	3(7,5%)	2(5,0%)			
G	2(5,0%)	1(2,5%)	3(7,5%)	3(7,5%)	1(2,5%)	
D	1(2,5%)	1(2,5%)	1(2,5%)			
J	1(2,5%)					
L2b			1(2,5%)			
No tipable						1(2,5%)
Total	10(25,0%)	5(12,5%)	7(17,5%)	3(7,5%)	1(2,5%)	1(2,5%)

4.3.5. Genotipos invasivos.

Con el fin de encontrar genotipos de tipo L, en nuestra serie, se genotiparon retrospectivamente un total de 37(12.54%) episodios [36 (97.29%) exudados rectales pertenecientes a 303 hombres homosexuales con conductas sexuales de riesgo y 1 (2.7%) absceso vulvar de una mujer con elefantiasis genital]. Fueron detectados 3(8.1%) casos (2 genotipos L2b en HSH y 1 genotipo L2 en la mujer testada). Los tres genotipos invasivos fueron descubiertos en 2011, en pacientes españoles, sin antecedentes previos de viajes al extranjero y VIH negativos en el momento del diagnóstico. Los dos HSH, refirieron múltiples contactos sexuales anónimos sin protección. Mientras que uno de ellos no evidenciaba claros síntomas de LGV (sólo prurito anal). El otro sujeto si refería síntomas anorectales, con dolor, sangrado y exudado mucopurulento a nivel rectal, compatible con un diagnóstico de proctitis. Además, este paciente presentaba verrugas genitales de forma concomitante. En ninguno de ellos se apreciaron nódulos linfáticos inflamados a nivel inguinal.

Respecto a la mujer, ésta no tenía antecedentes previos de riesgo para la adquisición de la infección, refiriendo pareja estable durante seis años y no habiendo viajado al extranjero. Presentaba un absceso vulvar con linfedema y afectación del pubis, labios mayores y menores, con múltiples fístulas abiertas y conectadas unas con otras. El tercio inferior de la vagina, mostraba fibrosis con apariencia adoquinada.

En la tabla 61 se recogen los datos relativos a estos tres pacientes.

Tabla 61: Descripción de los pacientes con genotipos L

Caso	Paciente (edad)	Sexo	Muestra	Factores de riesgo*	VIIH	Genotipo	Presentación clínica	Otras ITS	Tratamiento
1	26	M	Exudado rectal	HSH	-	L2b	Exudado rectal con pus y sangre Dolor rectal	Verrugas genitales	Doxiciclina Imiquimod
2	36	M	Exudado rectal	HSH	-	L2b	Prurito anal	-	Doxiciclina
3	30	F	Acceso vulvar	Ninguno	-	L2	Estiomene	-	Doxiciclina

Tras finalizar el tratamiento, los dos hombres homosexuales fueron testados nuevamente para la infección por esta bacteria, obteniéndose un resultado negativo en ambos. Respecto a la mujer, y por presentar un estadio tan avanzado de la infección, a la finalización del tratamiento, el cuadro clínico no revistió mejoría siendo necesaria la resección quirúrgica.

4.5 RESULTADOS DE LA DETECCIÓN DE LA NUEVA VARIANTE DE *C. trachomatis* (nvCT)

Tras testar, mediante PCR anidada, el total de las 119 muestras positivas, pertenecientes al genotipo E, no fue detectada ninguna cepa con delección de 377pb en el plásmido críptico de la bacteria.

Los productos amplificados se compararon con el marcador de pesos moleculares “100pb ladder” (Life Technologies, Paisley, UK), para determinar su peso aproximado. Como se puede observar en la figura sólo se obtuvieron bandas de 580 pb presentes en las wCT y ninguna banda de 203pb característica de las cepas que pertenecen a la nvCT.

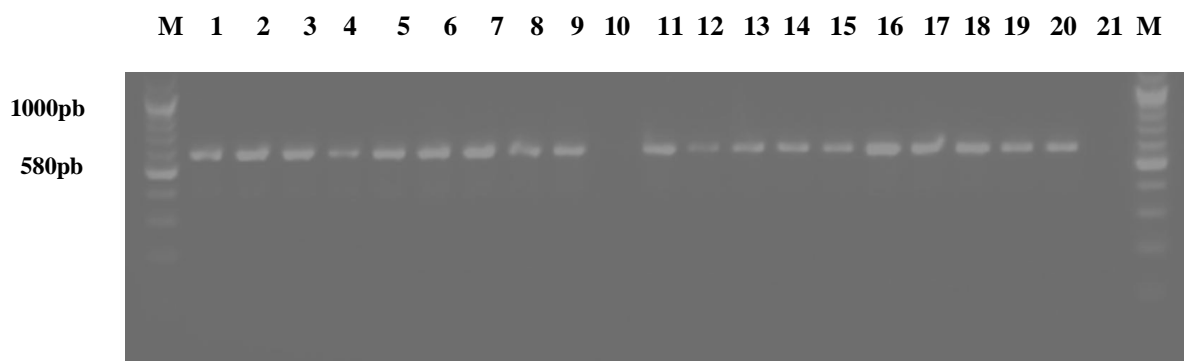


Figura 32: Análisis electroforético del resultado de la amplificación mediante la PCR anidada de las cepas wCT (1-9) y (11-20). Control negativo (10 y 21), M, marcadores de pesos.

Asimismo, todas las muestras negativas, anteriores al año 2008, fueron nuevamente analizadas confirmándose su negatividad para esta variante.

5 DISCUSIÓN

La aplicación de las TAAN, en el diagnóstico de las infecciones ocasionadas por *C. trachomatis*, ha puesto de manifiesto el aumento progresivo de esta ITS en Europa. En España, la prevalencia se sitúa entre el 4-6% y en Europa, oscila entre el 2-17%, dependiendo del ámbito, la población y el país objeto de estudio^{189,190}.

En nuestra serie, en función de la población analizada, hemos encontrado tasas de prevalencia de la infección por *C. trachomatis* que oscilan entre el 4,10 % y el 13,20%. En los pacientes de la consulta de la Unidad de ITS, un 71,44% de los sujetos estudiados, encontramos una prevalencia del 7,99%, esta cifra es mayor a la reflejada por otros autores que utilizan las mismas técnicas de detección¹⁹¹⁻¹⁹³. Si nos referimos únicamente a los HSH la cifra aumenta hasta 13,20%, debido a las conductas sexuales de riesgo de este colectivo. En el caso del grupo formado por jóvenes <25 años, la prevalencia es del 4,10%, algo inferior a la encontrada en un estudio realizado en jóvenes catalanes, donde la prevalencia obtenida fue del 5,8%¹⁹⁴. En mujeres, los datos recogidos en la literatura hablan de prevalencias menores a las reflejadas en esta tesis, en torno al 2%. Cacho *et al*¹⁹⁵⁵ encontraba prevalencias del 1,6%, Reina *et al*¹⁹⁶ del 2,2% y Franceschi *et al* del 0,2%¹⁹⁷.

Comprando los diferentes grupos etarios, las mujeres menores de 25 años presentan mayor prevalencia de la infección, mientras que en los hombres la prevalencia más alta se encuentra entre los 25 y los 40 años. Además, si tenemos en cuenta el grupo etario y la presencia o no de manifestaciones clínicas observamos que en las mujeres la mayor tasa de prevalencia se da entre aquellas menores de 25 años sin signos o síntomas clínicos sugestivos de infección. En los hombres con edades comprendidas entre los 25 y los 40 años no hay diferencias de prevalencia entre los que presentan manifestaciones clínicas genitourinarias o anales y los que no refieren sintomatología. Se ha postulado que en las mujeres jóvenes, existe una mayor predisposición a la infección debido a diferencias anatómicas dadas por una mayor exposición del epitelio escamo-columnar de la región endocervical¹⁹⁸. Esto unido al hecho de que muchas infecciones son silentes, aumenta el riesgo de complicaciones fácilmente evitables con un diagnóstico temprano. En la población masculina, existe un riesgo de infección elevado en el grupo de edad comprendido entre los 25 y 40 años, por lo que sería necesario evaluar

sistemáticamente otros factores de riesgo potencialmente relacionados con el comportamiento sexual y factores demográficos adicionales que expliquen la mayor predisposición de los hombres sintomáticos y asintomáticos pertenecientes a este rango de edad.

Si analizamos los datos de los pacientes estudiados, por sexos, podemos afirmar que existe un mayor porcentaje (69,98%) de hombres sintomáticos testados para la infección vs 59,93% de mujeres con síntomas clínicos. Asimismo, es mayor el porcentaje de mujeres asintomáticas testadas (40,08%) vs 31,07% de hombres asintomáticos, a los que se les realizó la prueba para *C. trachomatis*. Esto puede ser debido a una mayor conciencia de las mujeres frente a la infección, mientras que los hombres acuden más frecuentemente a la consulta, ante la presencia de síntomas o signos clínicos de infección.

A pesar de que cabría esperar una mayor prevalencia de la infección en los sujetos sintomáticos, este trabajo señala que la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* es muy similar en ambos grupos de pacientes (7,84% en los pacientes sintomáticos y 6,49% en los asintomáticos), sin diferencias estadísticamente significativas. Esto corrobora los datos bibliográficos que hablan de un porcentaje elevado de pacientes en los que la infección cursa de forma asintomática³. Por ello es de suma importancia, no valorar únicamente los síntomas o signos de infección para establecer un diagnóstico de la infección certero. Los clínicos no se deben olvidar del carácter silente de esta infección y valorar los factores de riesgo de los pacientes que están evaluando. En esto juega un papel fundamental el laboratorio de microbiología que utilizando técnicas sensibles, es capaz de confirmar un diagnóstico con rapidez.

El mayor porcentaje de positivos, se encuentra entre los pacientes sintomáticos y asintomáticos que acuden a la consulta de ITS. Las cifras más elevadas de este grupo podrían deberse a un mayor porcentaje (56,32%) de pacientes con conductas sexuales de riesgo (homosexuales, prostitución, bisexuales y heterosexuales con conductas de riesgo) que conlleva una mayor predisposición para la adquisición de la infección.

En las mujeres de la unidad de ITS, no observamos una prevalencia más alta en las sintomáticas (8,58%) respecto a las que no presentan síntomas clínicos en el

momento de la recogida de la muestra (7,50%). En la consulta de Ginecología, se encuentra una mayor prevalencia entre aquellas con sintomatología (6,87%) respecto a las que acuden a la consulta de Ginecología para un chequeo rutinario (3,81%). En estas últimas, con edad media de 28.83 años, la prevalencia de la infección es equivalente a la encontrada en el grupo de mujeres jóvenes asintomáticas con edad < 25 años (4,00%).

De las 40 mujeres testadas para la infección por *C. trachomatis*, en la consulta de Obstetricia 4 (10%) fueron positivas para esta bacteria. Debido al bajo número de gestantes analizadas, no podemos hablar de resultados concluyentes, pero estos datos sugieren la necesidad de ampliar el estudio. Estas mujeres presentan un mayor riesgo de partos prematuros, si contraen la infección antes de la semana 32 de gestación, además de otras graves complicaciones que pueden acontecer durante su embarazo^{70,71}. Por otro lado, en la Consulta de esterilidad, después de testar a 120 pacientes, encontramos una prevalencia de esta infección del 5%. Hay suficientes publicaciones que confirman la relación entre infertilidades de origen tubárico e infección por *C. trachomatis*. Los autores hablan de que un 75% de éstas, tendrían su origen en una infección acontecida en el pasado y de carácter silente¹⁶⁵⁻¹⁶⁹. Por todo lo anteriormente expuesto, sería recomendable realizar más estudios de cribado de la infección por *C. trachomatis* en estas mujeres, para reducir la incidencia de complicaciones y secuelas de la infección.

En hombres, la mayor prevalencia se observa entre los que presentan sintomatología y acuden a la Unidad de ITS (8,18%) sin diferir prácticamente de la encontrada en los asintomáticos atendidos en esa misma consulta (7,21%). Comparando las prevalencias en población masculina de los grupos A y B con el grupo de varones jóvenes < de 25 años asintomáticos, observamos que se obtienen prevalencias muy similares en ambos grupos poblacionales (5,30% y 4,3% respectivamente).

Analizando todos los datos obtenidos en ambos sexos y considerando que muchas infecciones son asintomáticas o con clínica escasa y poco específica, habría que valorar la realización de programas de prevención, mediante el cribado poblacional de forma sistemática. Esto sería importante, en las revisiones ginecológicas anuales y en las unidades de ITS, dónde no sólo se evalúan pacientes con conductas sexuales de riesgo con y sin síntomas clínicos, sino también jóvenes de ambos sexos derivados de otras consultas. Además, se ha demostrado que el cribado es coste efectivo, en las

mujeres, incluso con prevalencias inferiores al 1,1%, siempre y cuando se seleccione a las pacientes por edad y se utilicen TAAN para el diagnóstico de la infección. Estos estudios demuestran una reducción importante del número de casos de EPI y de embarazos ectópicos después de la introducción del chequeo de *C. trachomatis*¹⁷²⁻¹⁷⁶.

En relación a la procedencia anatómica de las muestras, en nuestro medio *C. trachomatis*, se detecta con mayor frecuencia en muestras rectales de hombres homosexuales (12,39%) con respecto a otras localizaciones. En otros estudios realizados en España, mediante TAAN, Nogales *et al*¹⁹⁹, obtienen una prevalencia más alta (16,9%). En diferentes estudios europeos; Koedijk *et al*²⁰⁰, van der Helm *et al*²⁰¹ y Annan *et al*²⁰² encuentran porcentajes de positividad también elevados, (10,1%, 11% y 8,2%, respectivamente) aunque algo menores que los nuestros. Por este motivo, hay que prestar atención a este colectivo y a otros con alto riesgo de infección, como son las prostitutas y personas heterosexuales con conductas sexuales de riesgo y que son atendidos en las unidades especializadas. De esta manera, se podría controlar la transmisión de esta bacteria así como instaurar con premura el tratamiento necesario. Es de suma importancia la realización de programas de prevención dirigidos a toda la población de riesgo así como la repetición del test para *C. trachomatis* en aquellos pacientes que hayan tenido la infección por dicho microorganismo, debido a la mayor predisposición de las reinfecciones que se producen en estos grupos.

Respecto a la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en hombres no homosexuales, el mayor porcentaje de positividad se encuentra en uretra (6,78%). Proporciones similares han sido halladas en estudios previos realizados en nuestra área geográfica por Otero *et al*¹⁹² encontrando una prevalencia del 5,9% entre los años 1995 y 2000. Otros autores como Nogales *et al*¹⁹⁹ y Cacho *et al*¹⁹⁵ demuestran prevalencias menores y mayores, 4,9% y 11% respectivamente.

Diversos autores apuntan a que en las mujeres, la infección por *C. trachomatis* se encuentra simultáneamente en uretra y endocérvix en un 73-76%, sólo en endocérvix en un 15-16% y únicamente en uretra en un 10-11%^{203,204}. En las mujeres, de nuestra serie, el mayor porcentaje de positividad se encuentra en vagina (7,26%), seguido de endocérvix (6,75%) y orina (6,44%), sin diferencias estadísticamente significativas). Estos datos son mayores a los recogidos en la bibliografía y que también utilizan TAAN

para testar muestras endocervicales. En nuestra región, Otero *et al*¹⁹², en el año 2000 en mujeres profesionales de la prostitución, demuestran una prevalencia del 4,7%, indicando un descenso de la misma desde 1986. Similares datos obtienen Nogales *et al*¹⁹⁹ con un 4% de prevalencia. Cacho *et al*¹⁹⁵ señalan una prevalencia del 1,6% en mujeres provenientes de una consulta de esterilidad. En los estudios realizados por Andreu *et al*²⁰⁵, se obtiene una prevalencia del 0,98% en este caso testando orinas. Estas diferencias se podrían deber al tipo de población estudiada y a la fecha de realización de los estudios, que demuestra que en nuestro medio la prevalencia ha vuelto a aumentar.

El estudio de muestras pareadas vaginales y endocervicales en 129 mujeres, nos permitió establecer que existe una concordancia muy buena entre ambas muestras. Encontramos únicamente resultados discordantes en 4 especímenes (3,1%) y detectamos simultáneamente la infección en 35 pacientes (27,13%). Se puede afirmar que ambos especímenes son igual de eficaces para diagnosticar la infección por *C. trachomatis* mediante una TAAN, ya que tienen el mismo rendimiento diagnóstico. Estos resultados demuestran que el exudado vaginal es una alternativa a la muestra invasiva de cérvix, pudiendo ser recogida cómodamente por la propia paciente, facilitando así el cribado en mujeres asintomáticas que no requieren examen médico. Existen publicaciones que defienden la mayor sensibilidad de los especímenes endocervicales^{206,207}, sugiriendo la recogida de éstos en pacientes sintomáticas que deben ser examinadas, debido a que si existe baja carga bacteriana puede ser detectada, evitando el ascenso de la infección. Otros autores²⁰⁸⁻²¹⁰ señalan que las muestras vaginales tienen mejor sensibilidad, probablemente porque en su recogida se arrastra más ADN de los dos sitios potenciales para la infección en la mujer, la uretra y el endocérvix. Estas publicaciones recomiendan recoger el exudado vaginal, tanto en las pacientes asintomáticas como en las que muestran síntomas clínicos. En este trabajo, podemos afirmar que ambas muestras son equiparables en cuanto a su capacidad diagnóstica, siendo la muestra vaginal una alternativa a valorar.

Respecto a los HSH analizados, fue posible estudiar, en éstos de forma paralela, 153 exudados rectales y faríngeos. Se pudo evidenciar como la correspondencia entre ambas muestras no es buena, detectándose la infección de forma concurrente sólo en 10 muestras (6,5%) y resultados opuestos en 69 casos (45,09%). En el caso de las muestras

recogidas a la vez en recto y uretra en 96 HSH, observamos también una baja concordancia, con resultados dispares en (37,5%) pacientes, siendo posible detectar la infección en ambas localizaciones anatómicas en un bajo porcentaje de pacientes (5,2%). Porcentajes similares han sido publicados por otros autores Lister *et al*²¹¹ y Manavi *et al*²¹² los cuales obtienen prevalencias del 5,9 % y % 7,2 %, respectivamente. Algunos estudios señalan que el recto es a menudo el único sitio en el que se detecta la infección en HSH, sin otra infección concomitante en el tracto urogenital. La causa de esta afectación anorectal predominante, no está del todo clara y podría ser atribuida a determinadas prácticas sexuales como son el uso de juguetes sexuales o “fisting”. Desafortunadamente, no fue posible disponer de datos acerca de las conductas sexuales de estos pacientes. Otra hipótesis defiende que la causa puede ser una uretritis transitoria que espontáneamente se resuelve provocando el desplazamiento de la bacteria desde el epitelio al tejido perirectal linfático, desencadenando una reacción inflamatoria en la región anorectal²¹³.

En la actualidad, existen diferentes métodos de genotipado que facilitan la identificación de las cepas de *C. trachomatis*, en las muestras clínicas. La PCR múltiple a tiempo real, detecta y diferencia simultáneamente, en menos de 3 horas, cepas con genotipo L. Sin embargo, hasta el momento, no se ha desarrollado ni comercializado ningún método que distinga los genotipos no LGV entre sí, ni las variaciones que se pueden producir en éstos. Con la secuenciación directa, es posible determinar un gran número de genotipos, además de permitir el seguimiento de los pacientes infectados. Con esta técnica, podemos averiguar si las reinfecciones, que se suelen producir principalmente en los sujetos de riesgo, son ocasionadas por el mismo genotipo que los infectó anteriormente u otro diferente. Este es el mayor y más reciente estudio que analiza la distribución de los genotipos circulantes de *C. trachomatis* en un área geográfica del Norte de España. Nuestros resultados demuestran que los genotipos E, G y D comprenden el 84,56% del total de las cepas aisladas. Los genotipos D, E y F son los más comunes en Europa²¹⁴⁻²¹⁷, igual que en España, donde los más frecuentes son también el E, D, G y F²¹⁸. El genotipo E es el más prevalente en todos los grupos del presente estudio. La distribución de los genotipos aislados en grupos etarios demuestra que existe mayor variedad de éstos, en las mujeres entre 25 y 40 años, siendo los más frecuentes el genotipo E y G. En los hombres se observa la misma tendencia pero, sin

significación estadística. Esto podría ser debido a una probabilidad elevada de exposición a la infección, ya que en esta franja de edad son testados más sujetos.

En relación a los genotipos aislados en las muestras clínicas, en las orinas de las mujeres se encuentra con mayor frecuencia el genotipo D, respecto a los porcentajes hallados en exudados vaginales y endocervicales.

El genotipo E fue aislado con mayor frecuencia en los pacientes que no mostraron síntomas clínicos de infección (76,03%), haciendo de estos un reservorio capaz de transmitir la infección, frente a un 16,38% en los sujetos con manifestaciones clínicas. Además, fue el único genotipo aislado en hombres asintomáticos. En pacientes sintomáticos, hay una mayor proporción de otros genotipos distintos al E, fundamentalmente G y D. Al igual que en los pacientes HSH en los cuales se ha demostrado que estos genotipos podrían tener determinadas propiedades biológicas que les harían más invasivos a nivel de la mucosa rectal²¹³. Por otro lado, el genotipo F fue encontrado sólo en mujeres que presentaban clínica, al igual que en los hombres. Si analizamos el tipo de manifestación clínica, en éstas observamos que la más frecuente fue la leucorrea (37 casos, 18,50%) mostrándose únicamente asociada al genotipo D de la bacteria en un mayor número de episodios (61,90%) que los ocasionados por otros genotipos. En los hombres, el síntoma clínico más frecuente fue la balanitis (15 casos, 15,30%). El estudio de la relación entre genotipos y la presencia de otra ITS concurrente mostró que, en los hombres hubo un mayor número de episodios (n=41, 41,83%) que pudieron estar ocasionados por otros patógenos frente a los 32 casos (16 %) encontrados en las mujeres genotipadas. Esto pone de manifiesto una menor percepción del riesgo de contagio y transmisión de la infección, en el colectivo masculino. Por ello, es fundamental recordar a los individuos en mayor riesgo las modalidades de transmisión de la infección y los recursos que tienen a su disposición para reducir el contagio. En las unidades de ITS se debe incidir en que la prevención de las ITS, se basa principalmente en el cambio de las conductas sexuales que exponen a las personas a la infección y en el uso de medidas preventivas tan eficaces como los preservativos.

En esta tesis recogemos los tres primeros casos de LGV acontecidos en nuestra comunidad autónoma, dos cepas idénticas L2b pertenecientes a HSH VIH negativos y una cepa L2 de mujer con elefantiasis vulvar. Ninguna cepa L fue descrita antes de

junio de 2011. El diagnóstico del LGV a menudo basado en la presentación clínica, puede ser difícil ya que los síntomas y signos clínicos son similares a los encontrados en otras ITS como el chancroide, herpes, sífilis y granuloma inguinal²¹⁹. Por ello, es altamente recomendable la diferenciación de los genotipos L de *C. trachomatis*, ya que estas cepas invasivas requieren más tiempo de tratamiento, 3 semanas con doxiciclina, a diferencia de otras, donde es necesaria sólo una semana con este antibiótico o una única dosis de azitromicina. Si estas infecciones no son tratadas, pueden dar lugar a un proceso inflamatorio granulomatoso crónico (estadío terciario) con fibrosis, que favorece la formación de fístulas, estrechamientos y malformaciones como son la elefantiasis genital y el estiomene. Aunque la afectación anorectal está considerada como la principal presentación clínica en los HSH de los países occidentales, en nuestra serie de pacientes sólo uno exhibió síntomas rectales y gastrointestinales. La proctitis es la principal manifestación clínica en los brotes de LGV acontecidos en Europa y es un problema frecuente en los HSH²²⁰. Los clínicos deben sospechar LGV, en aquellos sujetos con síndrome anorectal que presente inflamación del colon y recto y proliferación excesiva de tejido linfático perirectal o intestinal, similar al acontecido en la enfermedad de Crohn²²¹. Ninguno de los sujetos con LGV presentaron linfadenopatías, típicas en este tipo de infección. Curiosamente, el otro individuo afectado mostró síntomas banales atípicos exponiendo únicamente prurito anal. En los países bajos, han sido descritos muchos casos asintomáticos de LGV anorectal²²², a diferencia de los hallazgos reportados en Australia y otros países²²³⁻²²⁶, donde la mayor parte de los hombres diagnosticados eran sintomáticos. En el cribado de los HSH, puede aparecer una clínica escasa o ningún signo o síntoma de infección debido a la toma de muestra durante la fase presintomática, favoreciendo una pérdida en el número de casos diagnosticados. Por otro lado, todos los HSH estudiados en esta tesis tuvieron conductas sexuales de riesgo manifestando haber tenido varias parejas sexuales anónimas antes de la infección. Las relaciones sexuales sin protección y el hecho de tener múltiples parejas sexuales han demostrado ser los principales factores de riesgo en los últimos brotes acontecidos en Europa y Estados Unidos. Además, fueron documentados 27 HSH (67,5%) coinfectados con otras ITS lo que podría suponer una menor conciencia, entre este colectivo, acerca del riesgo de la transmisión de las ITS. En estos pacientes, la infección concurrente más frecuente fue la sífilis, seguida de condiloma acuminado, VIH-1, herpes genital, gonorrea y VHB, a diferencia de otros estudios en los cuales la infección concomitante más común fue la gonorrea^{227,211}.

La detección de los tres primeros casos confirmados de LGV en nuestro medio, podría indicar un incremento actual de esta infección en nuestra región y evidenciar la existencia de reservorios de LGV.

En España, el sistema de vigilancia de las infecciones por *C. trachomatis* se realiza a través de los centros centinela (red de laboratorios repartidos en varias comunidades autónomas) y en la actualidad, no obliga a la declaración de casos. Esto hace posible que exista una subestimación de los casos reales, procedentes de nuestro entorno. A finales de 2013, el Ministerio de Sanidad, anunció que se actualizará el listado de enfermedades transmisibles consideradas de declaración obligatoria en España, vigente y no modificado desde 1995. En este nuevo listado se incluirán las infecciones originadas por todos los genotipos de *C. trachomatis*. Sin embargo, el mayor problema son los pacientes con LGV que están siendo diagnosticados en toda Europa y por primera vez en población autóctona, de nuestra región. No nos podemos olvidar de que la evaluación de una sintomatología atípica o escasa podría favorecer la rápida confirmación diagnóstica, por parte del laboratorio de microbiología. Esto permitiría la implementación precoz de la terapia adecuada y contribuiría a la eliminación de los reservorios de esta infección, sobre todo de los sujetos con cepas L. Por lo anteriormente expuesto, es necesario crear programas de vigilancia que comprendan estrategias preventivas con el fin de controlar la transmisión de las infecciones ocasionadas por *C. trachomatis*.

Por otro lado, a finales de 2006, una nueva variante de *C. trachomatis*, con una delección de 377pb en el plásmido críptico, fue detectada en Suecia. Estas cepas, todas genotipos E, no podían ser mostradas por las TAANs convencionales que únicamente utilizaban el plásmido de la bacteria, como diana de amplificación. La nvCT se difundió rápidamente ocasionando miles de diagnósticos falsos negativos. Esta nueva cepa denominada Sweden2, muy similar en términos de distribución epidemiológica se expandió tan rápidamente, por la ventaja selectiva adquirida debido a los diagnósticos fallidos y a su implantación en poblaciones en las cuales existe una alta frecuencia de transmisión.

En la actualidad el movimiento de personas de unos países a otros es continuo (comercio, turismo, migraciones, etc). El control de la evolución molecular y la epidemiología de los microorganismos patógenos es esencial para poder registrar la aparición y difusión de cepas con variaciones en su genoma. Éstas pueden cambiar su comportamiento a nivel de su virulencia, su resistencia antimicrobiana o su detección mediante distintos métodos diagnósticos, por lo que es muy importante adoptar medidas preventivas, diagnósticas y terapéuticas efectivas.

A nuestro país, llegan cada año más de un millón de individuos provenientes de los países nórdicos y desde nuestro país viajan, anualmente, unos 200.000 pasajeros con destino a estos lugares. Sin embargo, en España prácticamente no disponemos de datos acerca de la distribución de la nvCT, al igual que en otros países del Sur de Europa, con excepción de Francia. En nuestra región, desde 2007, no ha sido detectada ninguna cepa perteneciente a la nvCT. Quizás sería interesante realizar este mismo estudio en otras comunidades del Sur de nuestro país (zona mediterránea e islas Canarias), principales destinos turísticos de los países nórdicos.

La difusión de las cepas nvCT en algunos países europeos, tuvo un importante impacto en la identificación de *C. trachomatis* así como en su salud pública. La lección aprendida de esta experiencia, incluye la importancia investigar la infección en detalle y diseñar con cuidado los métodos de detección de la misma. De esta forma aumentaría nuestro conocimiento acerca de la epidemiología y transmisión de las infecciones ocasionadas por esta bacteria.

6 CONCLUSIONES

- b) En la serie estudiada, la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* oscila entre el 4,10% y el 13,20%, en función del grupo poblacional analizado.
- c) La mayor prevalencia de la infección por *C. trachomatis* se da en mujeres menores de 25 años en mujeres y en hombres con edades comprendidas entre 25-40 años.
- d) La prevalencia global de infección por *C. trachomatis* es similar en pacientes sintomáticos y asintomáticos.
- e) En mujeres, las muestras vaginales son igual de eficaces que las muestras endocervicales para diagnosticar la infección por *C. trachomatis* por lo que suponen una alternativa a la muestras invasivas de cérvix.
- f) La secuenciación proporciona importante información epidemiológica acerca de las cepas circulantes en nuestra área geográfica. Es de suma importancia distinguir los genotipos invasivos de aquellos que no lo son para establecer con premura el tratamiento antibiótico adecuado y prevenir la diseminación de las cepas L.

- g)** Los genotipos más frecuentes en la población estudiada fueron E, G y D. Observándose asociación entre el genotipo E y la infección asintomática así como el genotipo F e infección sintomática.
- h)** A pesar de su rápida expansión en otros países europeos, en nuestra región no encontramos ninguna cepa perteneciente a la nvCT.

7 BIBLIOGRAFÍA

1. WHO/CDS/EDC/2001. Global prevalence and incidence of selected curable Sexually Transmitted Infections. http://www.who.int/hiv/pub/sti/who_hiv_aids_2001.02.pdf
2. Fenton KA, Lowndes CM, the European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI). Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. *Sex Transm Infect* 2004;80:255-63
3. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted Diseases Surveillance 2005. Supplement: Chlamydia Prevalence Monitoring Project Division of STD Prevention September 2005. National Center for HIV, STD and TB Prevention. Atlanta, Georgia. 2005 6.18.p.
4. Cates W Jr, Wasserheit JN. Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1771-1781.
5. Ausina Ruiz V & Sabrià Leal M: Infecciones causadas por clamidias, en Ferreras Valentí P & Rozman C: *Medicina Interna*, (2)303:2694-2699, 14ª Harcourt, Madrid, 2000.
6. Halberstaedter L, Prowazek S. Zur aetiologie des trachoms. *Deutsche. Medizinische Wochenschrift* 1907;33:1285-1287
7. Baehr W, Zhang Y, Joseph T *et al*: Mapping antigenic domains expressed by *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85: 4000-4004.
8. Bavoil P. Invasion and Intracellular Growth of Chlamydia Species . En : Iglewski BH , Clark VI (Eds) : *Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis* . Academic Press. 1990
9. T'ang F *et al*. Studies on the etiology of trachoma with special reference to isolation of the virus in chick embryo, *Chin Med J* 1957;75:429.
10. Jones BR , Collier LH, and Smith CH. (1959) *Lancet*, X, 902
11. Durand NJ, Nicolas J, Favre M. "Lymphogranulomatose inguinale subaiguë d'origine génitale probable, peut-être vénérienne". *Bulletin de la Société des Médecins des Hôpitaux de Paris*. 1913;35: 274-2882.
12. Gordon FB, Quan AL. Isolation of the trachoma agent in cell culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1965;118:354-359.
13. Wang SP. A microimmunofluorescence method. Study of antibody response to TRIC organism in mice. In: R.L. Nicholsted. *Trachoma and related disorders by Chlamydia agents* p. 237-288, *Experta Medica*, New York 1971.

14. Jones H , Rake G, Stearns B. Studies on lymphogranuloma venerum. The action of the sulfonamides on the agent of lymphogranuloma venereum . J. Inf. Dis 1945;2: 55 - 69.
15. Storz J, Page LA: Taxonomy of the Chlamydiae. Reasons for classifying organisms of the genus Chlamydia, family Chlamydiaceae, in a separate order Chlamydiales. Syst Bacteriol 1971;21: 332-224
16. Everett KDE, Bush RM & Andersen AA: *Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms.* International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (2) 49:415-440, 1999.
17. Stephens RS, G Myers, M Eppinger *et al.* Divergence without difference: Phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved. FEMS Immunol Med 2009. Microbiol II: 1-5.
18. Hammerschlag MR. The intracellular life of chlamydiae. Semin Pediatr Infect Dis 2002;13:239-48.
19. Bébear C, de Barbeyrac B. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. Clin Microbiol Infect 2009;15:4-10
20. Hatch TP. Developmental biology. In: Stephens RS, ed. Chlamydia. Washington, DC: ASM Press, 1999; 29–67.
21. Chen J, Stephens RS. *Chlamydia trachomatis* glycosaminoglycan dependent and independent attachment to eukaryotic cells. Microb Pathogenesis 1997;22:23-30
22. Hybiske K, Stephens RS. Entry mechanism of *Chlamydia trachomatis* into non-phagocytic cells. Infect Immun 2007;75:3925-34
23. Moulder JW. Interaction of chlamydiae and host cell in vitro. Microbiol Rev 1991; 55:143-90.
24. Bavoil P. Invasion and intracellular growth of Chlamydia Species. Chapter 13. En: Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis. Academic Press INC, 1990.p.273-296.
25. Stephens R, Kalman S, Lamel C, *et al.* Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. Science 1998; 282:754-75
26. Raulton J. Chlamydial envelope components and pathogen-host cell interaction. Mol Microb 1995;15(4):607-16.
27. Koneman EW, *et al.* Diagnóstico Microbiológico. 3ª ed. Editorial Médica Panamericana S.A.; 2000

28. Raulton J, *et al.* Localization of *Chlamydia trachomatis* heat shock proteins 60 and 70 during infection of a human endometrial epithelial cell line in vitro. *Inf and Immunity* 1998; 66(5):2323-2329
29. Zhang JP, Stephens S. Mechanisms of *Chlamydia trachomatis* attachment to eukaryotic cells. *Cell* 1992; 69: 861-86
30. Thomas NS, Lusher M, Storey CC *et al.* Plasmid diversity in Chlamydia. *Microbiology* 1997;143:1847-1853.
31. Palmer L, Falkow S. A common plasmid of *Chlamydia trachomatis*. *Plasmid* 1986; 16:56-62.
32. Brunham RC, Kuo CC, Cles L, *et al.* Correlation of host immune response with quantitative recovery of *Chlamydia trachomatis* from human endocervix. *Infect Immun* 1983;39:1491-4
33. Rank R. Role of the immune response. In: *Microbiology of Chlamydia*. Boca Raton, Florida: Barron AL (Eds). CRC Press; 1988, p. 218-34.
34. Cerrone MC, Jeffrey JMA, Stephens RS. Cloning and sequence of the gene for heat shock protein 60 from *Chlamydia trachomatis* and immunological reactivity of the protein. *Infect Immun* 1991;69:79-90.
35. Pickert M.A, Everson JS, Pead PJ *et al.* The plasmid of *Chlamydia trachomatis* (N16): accurate determination of copy number and the paradoxical effect of plasmid during agents. *Microbiology* 2005;151:893-903.
36. Manhony JB, Luinstra KE, Sellors JW *et al.* Comparison of plasmid and chromosome based polymerase chain reaction assay for detecting *Chlamydia trachomatis* nucleid acids. *J. Clin Microbiol* 1993;31:1753-1758.
37. Peterson E, Markoff BA, Schachter J *et al.* The 7,5 Kb plasmid present in *Chlamydia trachomatis* is not esential for the growth of this microorganism. *Plasmid* 1990;23:144-145
38. Farencena A, Comanducci M. Characterization of a new isolate of *Chlamdia trachomatis* which lacks the common plasmid and has properties of biovar trachoma. *Infect Inmun* 1997;65:2965-2969
39. Stothard DR, Williams JA, Van Der Pol B *et al.* Identification of a *Chlamydia trachomatis* serovar E urogenital isolate which lacks the cryptic plasmid. *Infect Inmun* 1998;66:6010-6013
40. Carlson JH, Whitmire WM, Crane DD *et al.* The *Chlamydia trachomatis* plasmid is a transcriptional regulator of chromosomal genes and a virulence factor. *Infect Inmun* 2008;76:2273-2283

41. Comanducci M, Ricci S, Cevenini R *et al.* Diversity of the *Chlamydia trachomatis* common plasmid in biovars with different pathogenicity. *Plasmid*. 1990; 23:149-154.
42. Ripa T, Nilsson PA. A *Chlamydia trachomatis* strain with a 377-bp deletion in the cryptic plasmid causing false negative nucleic amplification tests. *Sex Transm Dis* 2007;34:255–256.
43. Herrmann B, Torner A, Low N, Klint M, Nilsson A, Velicko I, Soderblom T, Blaxhult A: Emergence and spread of *Chlamydia trachomatis* variant, Sweden. *Emerg Infect Dis* 2008;14:1462-1465.
44. Amato-Gauci A, Ammon A. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. Report on the status of communicable diseases in the EU and EEA/EFTA countries. European Centre for Disease Prevention and Control. June 2007 . http://www.ecdc.europa.eu/pdf/Epi_report_2007.pdf.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR Recomm Rep*. 2006; 55:1-94. Erratum in *MMWR Recomm Rep*. 2006;15:55-67.
46. Johnson L, Lewis DA. The effect of genital tract infections on HIV-1 shedding in the genital tract: a systematic review and metaanalysis. *Sex Transm Dis* 2008;35:946.
47. Laga M, Manoka A, Kivuvu M, *et al.* Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. *AIDS*.
48. Anttila T, Saikku P, Koskela P, *et al.* Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001;285:47–51.
49. Smith J, Muñoz N, Herrero R *et al.* Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a Human Papillomavirus Cofactor in the Etiology of Invasive Cervical Cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002;185:324–31
50. Giuliano A, Denman C, Guernsey de Zapien J *et al.* Design and results of the USA-Mexico border human papillomavirus (HPV), cervical dysplasia, and *Chlamydia trachomatis* study. *Rev Panam Salud Pública* 2001; 9:172-181.
51. Cates W Jr, Wasserheit JN. Genital chlamydial infections: epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1771-81.
52. Peipert JF. Genital Chlamydial Infections. *N Engl J Med* 2003;349:2424-30.
53. Machado ACS, Gulmarães EMB, Sakurai E *et al.* High titers of *Chlamydia trachomatis* antibodies in Brazilian women with tubal occlusion or previous ectopic pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 200;24816-
54. Ross J, Judlin P, Nilas L. European guideline for the management of pelvic inflammatory disease. *International Journal of STD and AIDS* 2007;18(10):662–666.

55. Sweet RL. Microbiology. In: Sweet RL, Wiesenfeld HC, editors. *Pelvic Inflammatory Disease*. London, UK: Taylor & Francis; 2006. pp. 19–48.
56. Haggerty CL, Ness RB. Epidemiology, pathogenesis and treatment of pelvic inflammatory disease. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*. 2006;4(2):235–247.
57. Van Bergen JE, Spaargaren J, Götz HM *et al*. Pilot CT Stuy Group. Population prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in the Netherlands.
58. Workowski KA, Berman S. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Morbidity and Mortality Weekly Report*. 2010;59 (12 RR):63–67.
59. Haggerty CL, Schulz R, Ness RB. Lower quality of life among women with chronic pelvic pain after pelvic inflammatory disease. *Obstetrics and Gynecology*. 2003; 102(5):934–939.
60. Westrom L. Effect of acute pelvic inflammatory disease on fertility. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 1975;121(5):707–713.
61. Westrom L, Joesoef R, Reynolds G *et al*. Pelvic inflammatory disease and fertility: a cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results. *Sex Transm Dis* 1992;19(4):185–192.
62. Goldenberg *et al*. Intrauterine infection and preterm delivery. *N England J Med* 2000;342(20):1500
63. Thurman AR, Soper DE. Sequelae. In: Sweet RL, Wiesenfeld HC, editors. *Pelvic Inflammatory Disease*. London, UK: Taylor & Francis; 2006. pp. 69–84.
64. Holmes KK, Stamm WE. Lower genital tract infection in women: urethral, cervical and vaginal infections. In: Holmes KK, Sparling PF, Mårdh P-A, Lemon SM, Stamm WE, Wasserheit JW, editors. *Sexually transmitted diseases*, 3rd ed. New York: McGraw-Hill Book Co; 1999.
65. Haré MJ, Thin RN. Chlamydia infection of the lower genital tract of women. *Br. Med. Bull*. 1983;39:138-144
66. Mardh PA. Influence of infection with *Chlamydia trachomatis* on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002;16(6):847-64.
67. Gencay M, Koskiniemi M, Ammala P, *et al*. *Chlamydia trachomatis* seropositivity is associated both with stillbirth and preterm delivery. *Apmis* 2000;108(9):584-8.

68. Gencay M, Koskiniemi M, Fellman V, *et al.* *Chlamydia trachomatis* infection in mothers with preterm delivery and in their newborn infants. *Apmis* 2001;109(9):636-40.
69. Andrews WW, Goldenberg RL, Mercer B, *et al.* The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:662-8.
70. Ingrid G, Rours JG, Duijts L *et al.* *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy associated with preterm delivery: a population-based prospective cohort study. *Eur J Epidemiol* 2011;26:493–502
71. Thorp JM Jr, Katz VL, Fowler LJ *et al.*: Fetal dead from Chlamydia infection across intact amniotic membranes. *Am J Obstet Gynecol* 1989;161:1245-6.
72. Hammerschlag MR. *Chlamydia trachomatis* in children. *Pediatr Ann* 1994; 23: 349–353.
73. Gabriel MAM, Ibarra SH, Sendín EB *et al.* Infección respiratoria por *Chlamydia trachomatis* en lactantes. Presentación clínica y evolución de 18 casos. *An Pediatr (Barc)* 2004;60:349-53.
74. Zar HJ. Neonatal chlamydial infections: Prevention and treatment. *Paediatr Drugs* 2005;7:103-10.
75. La Montagne DS, Fine DN, Marrazzo JM. *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic men. *Am J Prev Med* 2003;24:36-42.
76. Simpson T. Urethritis and cervicitis in adolescents. *Adolesc Med Clin* 2004;15:253-71.
77. Drury NE, Dyer JP, Breitenfeldt N *et al.* Management of acute epididymitis: Are European guidelines being followed? *Eur Urol* 2004;46:522-4.
78. Hamill M, Benn P, Carder C, Copas A, Ward H, Ison C, *et al.* The clinical manifestations of anorectal infection with lymphogranuloma venereum (LGV) versus non-LGV strains of *Chlamydia trachomatis*: a case-control study in homosexual men. *Int J STD AIDS*. 2007;18:472-5.
79. Weir E. Lymphogranuloma venereum in the differential diagnosis of proctitis. *CMAJ* 2005;172: 185.
80. Collins L, White JA, Bradbeer C. Lymphogranuloma venereum. *BMJ* 2006 Jan 14;332(7533):66.
81. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Lymphogranuloma venereum among men who have sex with men--Netherlands, 2003-2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2004 Oct 29;53(42):985-8.

82. Schachter J, Osoba AO. Lymphogranuloma venereum. Br Med Bull. 1983 Apr; 39(2):151-4.
83. Ravens AF. Inflammatory bowel disease be aware of the mimics. Diagnosis: lymphogranuloma venereum. Gut 2006 Mar;55(3):333,341
84. Papagrigoriadis S, Rennie JA. Lymphogranuloma venereum as a cause of rectal strictures. Postgrad Med J. 1998;74(869):168-9.
85. Williams D, Churchill D. Ulcerative proctitis in men who have sex with men: an emerging outbreak. BMJ 2006; 295(22):2592
86. Lynch CM, Felder TL, Schwandt RA, *et al.* Lymphogranuloma venereum presenting as a rectovaginal fistula. Infect Dis Obstet Gynecol. 1999; 7(4):199-201.
87. Nelson RA, Alberts GL, King Jr LE. Penile and scrotal elephantiasis caused by indolent *Chlamydia trachomatis* infection. Urology 2003;61:224
88. Mariotti SP. New steps toward eliminating blinding trachoma (editorial). N Engl J Med 2004;351:2004-7.
89. Chidambaram JD, Chandler RD, Lietman TM. Pathogenesis and control of blinding trachoma. In: Tasman W, Jaeger EA, eds. *Duane's Ophthalmology*. 15th ed. Philadelphia, Pa: Lippincott Williams & Wilkins; 2009: chap 60
90. Clarke J. Predicting bacterial cause in infectious conjunctivitis: *Chlamydia* needs to be taken into account. BMJ 2004;329:625.
91. Reactive arthritis. A clinical approach. Orthop Nurs 2004;23:274-280.
92. Takeshita T, Shima H, Oishi S. *et al.* Fitz-Hugh-Curtis syndrome: Hepatic capsular enhancement and diffuse gallbladder wall thickening on contrast-enhanced CT. Intern Med 2004;43:632-3.
93. Jones S, Barker S, Athan E, *et al.* The tip of the iceberg: opportunistic screening for *Chlamydia trachomatis* in asymptomatic patients attending a young people's health clinic reveals a high prevalence--a pilot study. Sex Health 2004; 1(2):115-9.
94. Sheffield JS, Andrews WW, Klebanoff MA *et al.* National Institute for Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. Spontaneous resolution of asymptomatic *Chlamydia trachomatis* in pregnancy. Obstet Gynecol 2005;105(3):557-62.
95. Zhang YX, Stewart S, Joseph T *et al.* Protective monoclonal antibodies recognize epitopes located on the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. J Immunol 1987;138: 575-81
96. Stothard DR, Toth GA, Batteiger BE. Polymorphic membrane protein H has evolved in parallel with the three disease-causing groups of *Chlamydia trachomatis*. Infect Immun.2003;71(3):1200-8.

97. Gomes JP, Nunes A, Bruno WJ *et al.* Polymorphisms in the nine polymorphic membrane proteins of *Chlamydia trachomatis* across all serovars: evidence for serovar Da recombination and correlation with tissue tropism. *J Bacteriol.* 2006;188(1):275-86.
98. Caldwell HD, Wood H, Crane D, *et al.* Polymorphisms in *Chlamydia trachomatis* tryptophan synthase genes differentiate between genital and ocular isolates. *J Clin Invest.* 2003; 111(11):1757-69.
99. Fehlner-Gardiner C, Roshick C, Carlson JH, Hughes *et al.* Molecular basis defining human *Chlamydia trachomatis* tissue tropism. A possible role for tryptophan synthase. *J Biol Chem.* 2002; 277(30):26893-903.
100. Silins I, Ryd W, Strand A *et al.* *Chlamydia trachomatis* infection and persistence of human papillomavirus. *Int J Cancer.* 2005;116(1):110-5.
101. Ohman H, Tiitinen A, Halttunen M *et al.* IL-10 polymorphism and cell-mediated immune response to *Chlamydia trachomatis*. *Genes Immun.* 2006. (Epub ahead of print)
102. Miller KE. Diagnosis and treatment of *Chlamydia trachomatis* infection. *Am Fam Physician.* 2006;73:1411-1416
103. Martínez MA. Diagnóstico microbiológico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. *Rev Chil Infectol.* 2001;18(4):1-14.
104. Schepetiuk S, Tuckweng K, Martin L *et al.* Detection of *Chlamydia trachomatis* in urine samples by nucleic acid test: Comparison with culture and enzyme Immunoassay of genital swabs specimens. *J Clin Microbiol.* 1997;35:3355-3357.
105. Mahony JB, Chernesky MA. Effect of swab type and storage temperature on the isolation of *Chlamydia trachomatis* from clinical specimens. *J Clin Microbiol* 1985;22:865-7.
106. Sturm PD, Connolly C, Khan N *et al.* Vaginal tampons as specimen collection device for the molecular diagnosis of non-ulcerative sexually transmitted infections in antenatal clinic attendees. *Int J STD AIDS* 2004;15(2):94-8.
107. Knox J, Tabrizi SN, Miller P *et al.* Evaluation of self-collected samples in contrast to practitioner-collected samples for detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* by polymerase chain reaction among women living in remote areas. *Sex Transm Dis* 2002;29(11):647-54.
108. Van Der Pol B, Quinn TC, Gaydos CA *et al.* Multicenter evaluation of the AMPLICOR and automated COBAS AMPLICOR CT/NG tests for detection of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Microbiol* 2000; 38(3):1105-12.
109. Hartley JC. PCR detection and molecular identification of Chlamydiaceae species. *J Clin Microbiol* 2001; 39:3072-2079.

110. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections 1997; 10:160-84
111. Arráiz N, Ginestre M, Castellano M *et al.* Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de hisopado endocervical por inmunofluorescencia directa y reacción en cadena de la polimerasa. Rev Soc Venez Microb. 2006;26:14-18.
112. Machado ACS., Gulmarães EMB., Sakurai E., *et al.* High titers of *Chlamydia trachomatis* antibodies in Brazilian women with tubal occlusion or previous ectopic pregnancy. Infect Dis Obstet Gynecol. 2007; 2007:24816-24820.
113. Kluytmans JA, Niesters HG, Mouton JW *et al.* Performance of a noisotopic DNA probe for detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital specimens. J Clin Microbiol 1991; 29: 2685-9.
114. Jespersen DJ, Flatten KS, Jones MF *et al.* Prospective comparison of cell cultures and nucleic acid amplification tests for laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. J Clin Microbiol. 2005; 43:5324-6.
115. George JA, Panchatcharam TS, Paramasivam R *et al.* Evaluation of diagnosis efficacy of PCR methods for *Chlamydia trachomatis* infection in genital and urine specimen of symptomatic men and women India. Jpn J Infect Dis. 2003; 56:88-92.
116. Tan HH, Chan R. Use of polymerase chain reaction on pooled cervical swabs to detect *Chlamydia trachomatis* infections in female sex workers in Singapore. Singapore Med J 2005; 46: 215-8.
117. Gaydos CA, Quinn TC. Urine nucleic acid amplification tests for the diagnosis of sexually transmitted infections in clinical practice. Curr Opin Infect Dis 2005; 18(1):55-66.
118. Cosentino LA, Landers DV, Hillier SL. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by strand displacement amplification and relevance of the amplification control for use with vaginal swab specimens. J Clin Microbiol. 2003; 41:3592-6.
119. Shafer MA, Moncada J, Boyer CB *et al.* Comparing first-void urine specimens, self-collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by a nucleic acid amplification test. J Clin Microbiol. 2003; 41:4395-9.
120. Schachter J, McCormack WM, Chernesky MA, *et al.* Vaginal swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol. 2003;41:3784-9.
121. Unemo M, Clarke IN. The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*. Curr Opin Infect Dis 2011; 24: 62–69.

122. Unemo M, Seth-Smith HM, Cutcliffe LT *et al.* The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis*: genome sequence, morphology, cell tropism and phenotypic characterization. *Microbiology* 2010; 156: 1394–1404.
123. Clarke IN, Hammas B, Beerens AMJ *et al.* Detection and spread of new variant *Chlamydia trachomatis* in northern European countries. Proceedings of the Twelfth International Symposium on Human Chlamydial Infections. Hof bei Salzburg, Austria. June 20–25, 2010.
124. Klint M, Hadad R, Christerson L *et al.* Prevalence trends in Sweden for the new variant of *Chlamydia trachomatis*. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17: 683–689.
125. Reischl U, Straube E, Unemo M. The Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis* (nvCT) remains undetected by many European laboratories as revealed in the recent PCR/NAT ring trial organised by INSTAND e.V., Germany. *Euro Surveill* 2009; 14: pii: 19302.
126. Unemo M, Rossouw A, James V *et al.* Can the Swedish new variant of *Chlamydia trachomatis* (nvCT) be detected by UK NEQAS participants from seventeen European countries and five additional countries/regions in 2009? *Euro Surveill* 2009; 14: pii:19206.
127. Results of a Europe-wide investigation to assess the presence of a new variant of *Chlamydia trachomatis*. *Euro Surveill* 2007;12(10).
128. Baud D., Regan L., Greub G. Emerging role of *Chlamydia* and *Chlamydia*-like organism in adverse pregnancy outcomes. *Current Opinion Infect Dis.* 2008; 21:70-6.
129. Ito JI Jr, Lyons JM, Airo-Brown LP. Variation in virulence among oculo- serovars of *Chlamydia trachomatis* in experimental genital tract. *Infect Immun* 1990; 58:2021–3
130. Morr  SA, Rozendaal L, van Valkengoed IG *et al.* Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? *J Clin Microbiol.* 2000;38(6):2292–6.
131. Dean D, Oudens E, Bolan G *et al.* Major outer membrane protein variants of *Chlamydia trachomatis* are associated with severe upper genital tract infections and histopathology in San Francisco. *J Infect Dis* 1995; 172:1013–1022.
132. Workowski KA, Stevens CE., Suchland RJ., *et al.* Clinical manifestations of genital infection due to *Chlamydia trachomatis* in women: differences related to serovar. *Clin Infect Dis* 1994; 19:756 –760.
133. Van Duynhoven Y, Ossewaarde JM, Derksen-Nawrocki RP *et al.* *Chlamydia trachomatis* genotypes: correlation with clinical manifestations of infection and patients' characteristics. *Clin Infect Dis* 1998; 26:314–322.

134. Suchland RJ, Rockey DD, Bannantine JP *et al.* Isolates of *Chlamydia trachomatis* that occupy nonfusogenic inclusions lack IncA, a protein localized to the inclusion membrane. *Infect Immun* 2000; 68:360–367.
135. Geisler WM., Suchland RJ., Rockey DD., *et al.* Epidemiology and clinical manifestations of unique *Chlamydia trachomatis* isolates that occupy nonfusogenic inclusions. *J Infect Dis* 2001; 184:879–884
136. Brunham RC, Kimani J, Bwayo J, *et al.* The epidemiology of *Chlamydia trachomatis* within a sexually transmitted diseases core group. *J Infect Dis* 1996; 173:950–956.
137. Brunham RC, Peeling RW. *Chlamydia trachomatis* antigens: role in immunity and pathogenesis. *Infect Agents Dis* 1994; 3:218 –233.
138. Lampe MF, Suchland RJ, Stamm WE. Nucleotide sequence of the variable domains within the major outer membrane protein gene from serovariants of *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun* 1993; 61:213–219.
139. Yang CL, Maclean I, Brunham RC. DNA sequence polymorphism of the *Chlamydia trachomatis omp1* gene. *J Infect Dis* 1993; 168:1225–1230.
140. Gaydos CA, Bobo L, Welsh L *et al.* Gene typing of *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction and restriction endonuclease digestion. *Sex Transm Dis* 1992; 19:303–308.
141. Dean D, Millman K. Molecular and mutation trends analysis of *omp1* alleles for serovar E of *Chlamydia trachomatis*. *J Clin Invest* 1997; 99:475–483.
142. Arno JN, Xie C, Jones RB *et al.* Identification of T cells that respond to serovar-specific regions of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein in persons with serovar E infection. *J Infect Dis* 1998; 178:1713–1718.
143. Sturm-Ramirez K, Brumblay H, Diop K *et al.* Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in high-risk women in Senegal, West Africa. *J Clin Microbiol.* 2000;38(1):138-45
144. Anttila T, Saikku P, Koskela P *et al.* Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA.* 2001; 285(1):47-51.
145. Geisler WM, Suchland RJ, Whittington WL *et al.* The relationship of serovar to clinical manifestations of urogenital *Chlamydia trachomatis* infection. *Sex Transm Dis.* 2003;30(2):160-5.
146. Workowski KA, Stevens CE, Suchland RJ *et al.* Clinical manifestations of genital infection due to *Chlamydia trachomatis* in women: differences related to serovar. *Clin Infect Dis.* 1994; 19(4):756-60.

147. Spaargaren J, Fennema HS, Morré SA *et al.* New lymphogranuloma venereum *Chlamydia trachomatis* variant, Amsterdam. *Emerg Infect Dis.* 2005; 11:1090-2.
148. Gomes JP, Nunes A, Florindo C *et al.* Lymphogranuloma venereum in Portugal. Unusual events and new variants during 2007. *Sex Transm Dis.* 2009; 36:88-91
149. Morr SA, Ossewaarde JM, Lan J *et al.* Serotyping and genotyping of genital *Chlamydia trachomatis* isolates reveals variants and serovars Ba, G, J as confirmed by *omp1* nucleotide sequence analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1998; 36:345-351.
150. Gaydos CA., Howell R., Pare B., *et al.* *Chlamydia trachomatis* infections in female military recruits. *N. England J Med* 1998; 339:739-44
151. Gaydos CA., Howell MR., Quinn TC., *et al.* Sustained high prevalence of *Chlamydia trachomatis* infections in female Army recruits. *Sex Transm Dis* 2003; 30: 539-44
152. Cheng KT., Chen SC., Chiang CC., *et al.* Chlamydial infection among patients attending STD and genitourinary clinics in Taiwan. *BMC Public Health.* 2007;7:120-124.
153. Schwebke JR., Aira T., Jordan N., *et al.* Sexually transmitted diseases in Ulaanbaatar, Mongolia. *Int J STD & AIDS;* 1998;38:354-358.
154. Sexually transmitted disease surveillance 2003 supplement. Chlamydia prevalence monitoring. Project annual report 2003. Division STD Prevention 2004
155. Sexually transmitted disease treatment guidelines 2002. *MMWR Recomm Rep* 2002; 51(RR-6): 30-6.
156. CDC. Sexually transmitted disease surveillance, 2009. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC; 2010. Available at <http://www.cdc.gov/std/stats09/default.htm>. Accessed March 25, 2011.
157. Benítez C., Mejuto P., Otero L. *et al.* *BMC Infectious Diseases* 2013,13:388.
158. Lau CY., Qureshi AK. Azithromycin versus doxycycline for genital chlamydial infections: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Sex Transm Dis* 2002;29:497–502.
159. Ness RB., Soper DE., Holley RL., *et al.* Effectiveness of inpatient and outpatient treatment strategies for women with pelvic inflammatory disease: results from the Pelvic Inflammatory Disease Evaluation and Clinical Health (PEACH) Randomized Trial. *Am J Obstet Gynecol* 2002;186:929–37.
160. Ness RB., Hillier SL., Kip KE *et al.* Bacterial vaginosis and risk of pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol* 2004;44 (Supp 3):S111–22.

161. Walker CK., Wiesenfeld H. Antibiotic Therapy for Acute Pelvic Inflammatory Disease: The 2006 Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *Clin Infect Dis* 2007;28(Supp 1):S29–S36.
162. Jacobson GF., Autry AM., Kirby RS, *et al.* A randomized controlled trial comparing amoxicillin and azithromycin for the treatment of *Chlamydia trachomatis* in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184:1352–4.
163. Rahangdale L., Guerry S., Bauer HM., *et al.* An observational cohort study of *Chlamydia trachomatis* treatment in pregnancy. *Sex Transm Dis* 2006;33:106–110.
164. CDC. Guidelines for the laboratory diagnosis of gonorrhea, chlamydia and syphilis. Available at <http://www.cdc.gov/od/oc/ohrt/STDS/STDSguidelines.htm>
165. Weström L. Effect of pelvic inflammatory disease on fertility. *Venereology* 1995; 8:219-22.
166. Paavonen J., Eggert-Kruse W. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Hum Reprod Update* 1999;5:433-47.
167. Westrom L., Joesoef R., Reynolds G, Hagdu A., Thompson SE. Pelvic inflammatory disease and fertility: a cohort study of 1,844 women with laparoscopically verified disease and 657 control women with normal laparoscopic results. *Sex Transm Dis* 1992; 19:185-92.
168. Mardh PA. Influence of infection with *Chlamydia trachomatis* on pregnancy outcome, infant health and life-long sequelae in infected offspring. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2002;16:847-64.
169. Andrews WW., Goldenberg RL., Mercer B., *et al.* The Preterm Prediction Study: association of second-trimester genitourinary chlamydia infection with subsequent spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183:662-8.
170. UK National Screening Committee. UK screening portal. Programme appraisal criteria. 2011. www.screening.nhs.uk/cms.php?folder=2431.
171. U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Chlamydia infection. 2001. Accessed online October 27, 2005, at: <http://www.ahrq.gov/clinic/uspstf/uspstfchl.htm>.
172. Scholes D., Stergachis A., Heidrich FE., Andrilla H., Holmes KK., Stamm WE. Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection. *N Engl J Med* 1996;334(21):1362-6.
173. Ostergaard L., Andersen B., Moller JK., *et al.* Home sampling versus conventional swab sampling for screening of *Chlamydia trachomatis* in women: a cluster-randomized 1-year follow-up study. *Clin Infect Dis* 2000;31(4):951-7.

174. Egger M., Low N., Smith GD., *et al.* Screening for chlamydial infections and the risk of ectopic pregnancy in a county in Sweden: ecological analysis. *Bmj* 1998;316(7147):1776-80.
175. Kamwendo F., Forslin L., Bodin L., *et al.* Decreasing incidences of gonorrhoea- and Chlamydia associated acute pelvic inflammatory disease. A 25-year study from an urban area of central Sweden. *Sex Transm Dis* 1996;23(5):384-91.
176. Oakeshott P., Kerry S., Aghaizu A., *et al.* Randomised controlled trial of screening for *Chlamydia trachomatis* to prevent pelvic inflammatory disease: the POPI (prevention of pelvic infection) trial. *BMJ* 2010;340:c1642
177. Nelson HD., Helfand M. Screening for chlamydial infection. *Am J Prev Med* 2001;20(3 Suppl):95-107.
178. LaMontagne DS., Fine DN., Marrazzo JM. *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic men. *Am J Prev Med* 2003;24(1):36-42.
179. Golden MR., Schillinger JA., Markowitz L., *et al.* Duration of untreated genital infections with *Chlamydia trachomatis*: a review of the literature. *Sex Transm Dis* 2000;27(6):329-37.79.
180. Quinn TC., Gaydos C., Shepherd M., Bobo *et al.* Epidemiologic and microbiologic correlates of *Chlamydia trachomatis* infection in sexual partnerships. *Jama* 1996;276(21):1737-42.
181. Rahm VA., Belsheim J., Gleeruup A. Asymptomatic carriage of *Chlamydia trachomatis* - a study of 109 teenage girls. *Eur J Sex Trans Dis* 1986;3:91-4.
182. Parks KS., Dixon PB., Richey CM., *et al.* Spontaneous clearance of *Chlamydia trachomatis* infection in untreated patients. *Sex Transm Dis* 1997;24(4):229-35.
183. Murray, Infecciones por clamidia. Pag 449
184. Hillis SD., Owens LM., Marchbanks PA., *et al.* Recurrent chlamydial infections increase the risks of hospitalization for ectopic pregnancy and pelvic inflammatory disease. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176(1 Pt 1):103-7.
185. Kissin DM., Holman S., Minkoff HL., *et al.* Epidemiology and natural history of ligase chain reaction detected chlamydial and gonococcal infections. *Sex Transm Infect* 2002;78:208-9.
186. Scholes D., Stergachis A., Heidrich FE., *et al.* Prevention of pelvic inflammatory disease by screening for cervical chlamydial infection. *N Engl J Med* 1996;334:1362-6.
187. Sambrook J., Fritsch E.F. and Maniatis T. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. N.Y., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 1659 p. ISBN 0-87969-309-6

188. Kitchin PA., Szotyori Z., Fromholc C., *et al.* Avoidance of false positives. *Nature* 1990; 344:201.
189. European Centre for Disease Prevention and Control. Review of Chlamydia control activities in EU countries. Technical report. Project SCREEn, Final Report. Stockholm, May 2008.
190. Fenton KA., Lowndes CM. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. *Sex Transm Infect.* 2004;80:255–63.
191. Folch C., Esteve A., Sanclemente C., *et al.* Prevalence of HIV, *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*, and risk factors for Sexually Transmitted Infections among immigrant female sex workers in Catalonia, Spain. *Sex Transm Dis.* 2008;35:178–83.
192. Otero L, García MJ, Varela JA. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en población de riesgo de Asturias. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2002;20:368–9.
193. Vall-Mayans M., Villa M., Saravanya M., *et al.* Sexually transmitted *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and HIV-1 infections in two at-risk populations in Barcelona: female street prostitutes and STI clinic attendees. *Int J Infect Dis.* 2007;11:115–22. Epub 2006 Jun 23
194. Corbeto EL., Lugo R., Martró E., *et al.* Prevalence and determining factors of acquiring *C. trachomatis* infection among adolescents and young adults in Catalonia. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 2011; 29:96–101.
195. Cacho J., Díez-Ferrero P., Martínez-Zapico R., *et al.* Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in the population of Madrid, detected by a nucleic acid amplification technique. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2005;23:47.
196. Reina J., Gutiérrez O., González-Cárdenas M. Prevalencia de infección genital por *Chlamydia trachomatis* en la población general y en un grupo de prostitutas de Palma de Mallorca. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2004;22:439–41.
197. Franceschi S., Smith JS., van den Brule A. *et al.* Cervical infection with *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in women from ten areas in four continents. A cross-sectional study. *Sex Transm Dis.* 2007;34:563–9
198. Morré SA, Ossewaarde JM, Lan J, *et al.* Serotyping and genotyping of genital *Chlamydia trachomatis* isolates reveals variants and serovars Ba, G y J as confirmed by *omp1* nucleotide sequence analysis. *J Clin Microbiol.* 1998;36:345–351.
199. Nogales MC., Castro C., Ramírez M., *et al.* Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in a clinic for sexually transmitted disease: evaluation of cervical, urethral and rectal swab samples by polymerase chain reaction. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007;25:11–15.

200. Koedijk FD., van Bergen J., Dukers N. *et al.* The value of testing multiple anatomic sites for gonorrhoea and chlamydia in sexually transmitted infection centers in the Netherlands, 2006-2010. In J STD.2012;23:626
201. Annan NT, Sullivan AK, Nori A. *et al.* Rectal chlamydia, a reservoir of undiagnosed infection in men who have sex with men. Sex Transm Infect 2009;85:176
202. Van der Helm J, Hoebe C, van Rooijen M. *et al.* High performance and acceptability of self-collected rectal swabs for diagnosis of *C. trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in MSM and women. Sex Transm Dis.2009;36:493-497
203. Buimer M., van Doornum GJJ., Ching S., *et al.* Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by ligase chain reaction-based assays with clinical specimens from various sites: implications for diagnostic testing and screening. J Clin Microbiol 1996;34:2395-400
204. Hay PE., Thomas BJ., Horner PJ., *et al.* *Chlamydia trachomatis* in women: the more you look, the more you find. Genitourin Med 1994; 70:97-100.
205. A. Domingo, A. Pumarola, Suñé T., *et al.* Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* determinada mediante métodos de biología molecular. Enferm Infecc Microbiol Clin 2002; 20:205-7.
206. O'Neil D., Doseeva V., Rothmann T., *et al.* Evaluation of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* detection in urine, endocervical, and vaginal specimens by a multiplexed isothermal thermophilic helicase-dependent amplification (tHDA) assay. J Clin Microbiol 2011;49:4121-5.
207. Falk L., Coble B-I., Mjornberg P-A., *et al.* Sampling for *Chlamydia trachomatis* infection—a comparison of vaginal, first-catch urine, combined vaginal and first-catch urine and endocervical sampling. Int J STD AIDS 2010;21:283-7.
208. Schachter J., Chernesky MA., Willis DE., *et al.* Vaginal swabs are the specimens of choice when screening for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: results from a multicenter evaluation of the APTIMA assays for both infections. Sex Transm Dis 2005;32:725-8
209. Schachter J, Mc Cormack WM., Chernesky MA., *et al.* Vaginal swabs are appropriate specimens for diagnosis of genital tract infection with *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol 2003;41:3784-9.
210. Shafer MA., Moncada J., Boyer CB., *et al.* Comparing first-void urine specimens, self collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by a nucleic acid amplification test. J Clin Microbiol 2003;41:4395-9.
211. Lister NA., Smith A., Tabrizi S., *et al.* Screening for *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in men who have sex with men at male-only saunas. Sex Transm Dis 2003;30:886–9.

212. Manavi K., McMillan A., Young H. The prevalence of rectal Chlamydial infection amongst men who have sex with men attending the genitourinary medicine clinic in Edinburg. *Int J STD AIDS* 2004;15:162–4.
213. Sary G., Meyer T., Bangert C, *et al.* New *Chlamydia trachomatis* L2 strains identified in a recent outbreak of lymphogranuloma venereum in Vienna, Austria. *Sex Transm Dis* 2008;35:377–82.
214. Van de Laar M. J. W., J. Lan, Y. T. H. P. van Duynhoven *et al.* Differences in clinical manifestations of genital chlamydial infections related to serovars. *Genitourin Med* 1996;72:261–265.
215. Van Duynhoven Y. J. M. Ossewaarde, R. P. Derksen-Nawrocki *et al.* *Chlamydia trachomatis* genotypes: correlation with clinical manifestations and patients' characteristics. *Clin Infect Dis* 1988;26:314–322
216. Wagenvoort, J. H. T., R. J. Suchland, and W. E. Stamm.. Serovar distribution of urogenital *Chlamydia trachomatis* strains in The Netherlands *Genitouri Med* 1988;64:159–161.
217. R Waalboer, E M van der Snoek, W I van der Meijden, *et al.* Analysis of rectal *Chlamydia trachomatis* serovar distribution including L2 (lymphogranuloma venereum) at the Erasmus MC STI clinic, Rotterdam. *Sex Transm Infect* 2006;82:207–211.
218. Pineiro L. *et al.* Genotyping of *Chlamydia trachomatis* in an area of Northern Spain. *Enferm. Infec Microbiol Clin* 2009;27:462–464.
219. Mabey D., Peeling RW. Lymphogranuloma venereum. *Sex Transm Infect* 2002;78:90–2.
220. Macdonald N., Ison C., Martin I, *et al.* Initial results of enhanced surveillance for lymphogranuloma venereum (LGV) in England. *Eurosurveillance Weekly* 2005; 10:20. Available at: <http://www.eurosurveillance.org/ew/2005/050127.asp#5>.
221. Forrester B., J. Pawade, and P. Horner. 2006. The potential role of serology in diagnosing chronic lymphogranuloma venereum (LGV): a case of LGV mimicking Crohn's disease. *Sex. Transm. Infect.* 82:139–140.
222. Van der Bij AK., Spaargaren J., Morr  SA., *et al.* Diagnostic and clinical implications of anorectal lymphogranuloma venereum in men who have sex with men. *Clin Infect Dis* 2006;42:186–94.
223. Stark D., Van Hal S., Hillman R., *et al.* Lymphogranuloma venereum in Australia: anorectal *Chlamydia trachomatis* serovar L2b in men who have sex with men. *J Clin Microbiol* 2007;45:1029–31.
224. Lee DM., Fairley CK., Owen L., *et al.* Lymphogranuloma venereum becomes an established infection among men who have sex with men in Melbourne. *Aust N Z J Public Health* 2009;33:94.

225. Ward H., Alexander S., Carder C., *et al.* The prevalence of lymphogranuloma venereum (LGV) infection in men who have sex with men: results of a multi-centre case finding study. *Sex Transm Infect* 2009;85:173–5.
226. Tinmouth J., Gilmour MW., Kovacs C., *et al.* Is there a reservoir of sub-clinical lymphogranuloma venereum and non-LGV *Chlamydia trachomatis* infection in men who have sex with men? *Int J STD AIDS* 2008;19:805–9.
227. Rietmeijer CA., Patnail JL., Judson FN., *et al.* Increases in gonorrhoea and sexual risk behaviours among men who have sex with men: a 12 year trend analysis at the Denver Health Clinic. *Sex Transm Dis* 2003;30:562–7.