



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA**

**REVISIÓN ACTUALIZADA DE GENERALIDADES Y DIAGNÓSTICO DE
*CHLAMYDIA TRACHOMATIS***

**MEMORIA PARA OPTAR
AL GRADO DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA**

**AUTOR: CAMILA OLGUÍN MAGAÑA
PROFESOR GUÍA: TM.MGS.PAULINA ABACA CASTILLO**

**TALCA-CHLE
2020**

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



Talca, 2021

1. ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
1. Índice de contenido	2
2. Índice de tablas y figuras	4
3. Resumen	5
4. Introducción	6
5. Objetivos	7
5.1 Objetivo General	7
5.2 Objetivos Específicos	7
6. Metodología	8
7. Marco Teórico	9
7.1 Taxonomía de <i>Chlamydia Trachomatis</i>	9
7.2 Ciclo Biológico.....	11
7.3 Factores de virulencia.....	15
7.3.1 Lipopolisacárido	15
7.3.2 Sistema de secreción tipo III (T3SS).....	16
7.3.3 Proteínas del complejo de membrana.....	16
7.3.4 Proteínas de shock térmico.....	18
7.3.5 Proyecciones de superficie	20
7.4 Manifestaciones Clínicas de <i>Chlamydia trachomatis</i>	22
7.4.1 Tracoma.....	22
7.4.3 Infecciones óculo-genitales	29
7.4.5 Enfermedad Inflamatoria Pelvica (EIP)	33
7.4.6 Asociación entre <i>Chlamydia trachomatis</i> y cáncer de ovario	38
7.5 Vías de transmisión	42
7.6 Epidemiología	43
7.7 Recogida, transporte y conservación de las muestras	47

7.8 Métodos de diagnóstico.....	51
7.8.1 Técnicas de Amplificación de Ácidos Nucleicos (TAAN).....	54
7.8.2 Hibridación de ácidos nucleicos.....	57
7.8.3 Técnicas de detección antigénica.....	58
7.8.4 Cultivo en línea celular.....	61
8. Conclusiones.....	64
9. Referencias Bibliográficas.....	65

2. ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

	Pág.
Figura N°1 Ciclo biológico de <i>Chlamydia trachomatis</i>	14
Figura N°2 Factores de virulencia <i>Chlamydia trachomatis</i>	21
Tabla N°1 Clasificación de tracoma por la OMS.....	24
Figura N°4 Flujograma para diagnóstico de <i>Chlamydia trachomatis</i>	28
Figura N°5 Flujograma de diagnóstico de conjuntivitis neonatal.....	30
Tabla N°2 Generalidades de manifestaciones clínicas.....	33
Tabla N° 3 Tratamiento de la Enfermedad inflamatoria pélvica.....	38
Figura N°6 Tasas de casos notificados por grupo de edad y sexo en EE.UU.....	44
Figura N°7 Métodos diagnósticos de <i>Chlamydia trachomatis</i>	52
Figura N°8 Evolución de técnicas diagnósticas para <i>Chlamydia trachomatis</i>	53
Tabla N°4 Especificaciones de técnicas diagnósticas.....	64

3. RESUMEN

Chlamydia trachomatis, pertenece al género *Chlamydia*, familia *Chlamydiaceae*, orden *Chlamydiales*. Es una bacteria con forma esférica o piriforme, intracelular obligada que infecta sólo a humanos; causa tracoma y ceguera, infecciones oculogenitales y neumonías. Este microorganismo es capaz de infectar a distintas poblaciones; neonatos, mujeres embarazadas, jóvenes y adultos. Tomando gran importancia clínica en embarazadas debido a que una infección persistente puede provocar casos complejos como rotura prematura de membrana y embarazos ectópicos. Además, se ha comprobado que una infección persistente de *Chlamydia trachomatis* conlleva al riesgo de padecer cáncer de ovario.

El objetivo de este trabajo es realizar un estudio sistemático actualizado de la información respecto a los aspectos generales y diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, debido a que en Chile y el mundo la infección por este microorganismo constituye un importante problema de salud pública. Por lo tanto, resulta de gran importancia conocer los métodos diagnósticos que proporcionen resultados confiables, y que a su vez fortalezcan el diagnóstico microbiológico de la infección por *Chlamydia trachomatis* en Chile.

Palabras claves: “*Chlamydia trachomatis*”, “Hsp60”, “ITS”, “TAAN”, “Cultivo celular”.

4.INTRODUCCIÓN

Dentro de los sitios anatómicos del cuerpo humano que son colonizados por microorganismos se encuentra el aparato genital. La microbiota de éste se conforma por un conjunto de bacterias que conviven con el huésped en un estado normal, sin causarle enfermedad. Sin embargo, un desequilibrio en este microambiente puede desencadenar diversas patologías como lo son las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS), las cuales corresponden a un grupo heterogéneo de enfermedades transmisibles, que afectan a hombres y mujeres, cuyo elemento en común es la transmisión por vía sexual. (1)

Las ITS son una de las principales causas de enfermedad aguda, infertilidad, discapacidad a largo plazo y muerte en el mundo. Su principal forma de transmisión es por el contacto sexual no protegido y ocasionalmente por transmisión de tipo vertical de madre a hijo (2). A nivel mundial la OMS estima que cada día más de un millón de personas contraen una infección de transmisión sexual y a su vez indica que hasta al año 2016 unos 376 millones de personas contraen infecciones por algún agente etiológico de infecciones de transmisión sexual (ITS), dentro de los que se encuentran: *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis* y *Trichomonas vaginalis*. (3)

La infección por *Chlamydia trachomatis* constituye la segunda ITS más frecuente en el mundo y la más común en mujeres jóvenes. Algunos estudios epidemiológicos señalan que en la actualidad la incidencia y prevalencia depende de cada región del mundo. Es por esto que el diagnóstico de este microorganismo ha tomado una alta relevancia clínica en la población, correlacionado a la sintomatología clínica y consecuencias que se presentan. Debido a esto, es que se debe tener un conocimiento actualizado sobre los métodos diagnósticos utilizados en el laboratorio y a su vez conocer una estimación de la prevalencia epidemiológica a nivel país. (4)

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Revisar documentación científica actualizada respecto a la especie *Chlamydia trachomatis*.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1.- Estudiar documentos científicos referidos a la taxonomía y patogenia de *Chlamydia trachomatis*.

2.- Analizar documentos bibliográficos referentes a la vía de transmisión de la especie *Chlamydia trachomatis*

3.-. Recopilar información sobre la epidemiología de las distintas infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis*.

4.- Actualizar la información acerca de los métodos diagnósticos de *Chlamydia trachomatis*.

6. METODOLOGÍA

El presente estudio corresponde a una revisión bibliográfica sistemática, que trata de una investigación secundaria revisando la información científica actualizada sobre el diagnóstico y aspectos generales de *Chlamydia trachomatis*, se analizó y sintetizó la información realizando una búsqueda estructurada y explícita.

Para esto se utilizó principalmente la base científica PubMed, además de los documentos oficiales del Ministerio de Salud en Chile, la página de Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), entre artículos originales encontrados en la web y algunas revisiones. Se busca información en todo el repertorio del conocimiento científico actual. Se utiliza términos de búsqueda como “*Chlamydia trachomatis*”, “*Diagnóstico de Chlamydia trachomatis*”, “*Taxonomía de Chlamydia trachomatis*”, entre otros. Esto con el propósito de revisar trabajos publicados relacionados con al tema investigado, se revisaron estudios de los cuales se limitó a los últimos 10 años, sin embargo, se utilizó algunos estudios de años anteriores.

7. MARCO TEÓRICO

La importancia de estas infecciones se basa en el diagnóstico precoz de la patología, debido a que pueden llevar a consecuencias que se limitan a por ejemplo; a triplicar el riesgo de contraer VIH, padecer cáncer cérvico uterino en mujeres, enfermedades inflamatorias de la pelvis, infertilidad y riesgos en el embarazo. Si bien en general la mayoría de los casos, de estas infecciones por *Chlamydia trachomatis*, y en general las ITS son asintomáticas o solo presentan una leve sintomatología, que a veces impiden un diagnóstico certero y al ser autolimitadas no se consultan con los especialistas lo que conlleva a un subdiagnóstico de la patología, es por esto la importancia de conocer características clínicas y generalidades de *Chlamydia trachomatis*. (5)

7.1 TAXONOMÍA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Chlamydia trachomatis es perteneciente al orden *Chlamydiales* sus miembros son bacterias Gram negativo intracelulares obligatorias eucariotas, a su vez corresponde a la familia *Chlamydiaceae*. Dentro de esta familia todos sus miembros expresan un epítipo lipopolisacárido, designado como epítipo género-específico. (6)

Hasta el año 2000 la clasificación de Everett proponía la subdivisión de la orden de *Chlamydiales* que se basaba principalmente en las características fenotípicas y genotípicas de las especies. El único miembro de esta orden fue la familia *Chlamydiaceae* y dos géneros: *Chlamydia/Chlamydophila*. El género *Chlamydia* a su vez se separó en cuatro especies diferentes, *Chlamydia pecorum*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia trachomatis*. En 2001 se introdujo un nuevo sistema de clasificación, basado en las secuencias del 16S rRNA y 23S rRNA. (6,7)

Este cambio continuo en la taxonomía bacteriana se debe a la facilidad con la que se obtuvieron nuevas secuencias génicas a través de biología molecular, por lo que la familia *Chlamydiaceae* se dividió en base al análisis de rRNA. (7)

Actualmente la familia *Chlamydiaceae* se divide en dos géneros, *Chlamydia* y *Chlamydophila*. El género *Chlamydia* incluye el patógeno humano *Chlamydia trachomatis*, el patógeno del ratón *Chlamydia muridarum* y el patógeno porcino *Chlamydia suis*. El género *Chlamydophila* es más diverso con seis especies, incluyendo importantes patógenos humanos y patógenos animales tales como *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia caviae*. Por otra parte basado en la relación 16S de secuencia de ARNr, tres nuevas familias, *Parachlamydiaceae*, *Simkaniaceae* y *Waddliacea* también se incluyeron en la Taxonomía del orden *Chlamydiales*. Si bien estos organismos se denominan "clamidias ambientales", autores sugieren que también pueden estar asociados con enfermedades clínicas en humanos y animales. (8)

7.2 CICLO BIOLÓGICO

Esta familia posee un ciclo de replicación biológico bifásico único, en el que su morfología se alterna entre el cuerpo elemental (CE) que es la forma infectante, y la forma metabólicamente activa con capacidad de multiplicarse intracelularmente denominada cuerpo reticular (CR). Ambas formas poseen una membrana interna o citoplasmática y una membrana externa que contiene en su parte más externa el lipopolisacárido (LPS), como las bacterias Gram negativo. (9)

El cuerpo elemental (CE) son las formas infectivas diminutas. Su membrana externa rígida presenta extensivamente enlaces cruzados por enlace disulfuro. Debido a la rigidez de la membrana externa el CE es resistente a condiciones difíciles del medio ambiente como lo es el estrés osmótico y estrés físico, condiciones a las cuales se enfrentan las distintas especies cuando ésta se encuentra fuera de las células huésped eucarióticas. Los cuerpos elementales se unen a receptores en la célula huésped e inician la infección. La mayoría de las *Chlamydias* infectan las células del epitelio columnar y también infectan a los macrófagos (10). Sin embargo, algunos estudios consideraron metabólicamente inactivos, a este estadio de *Chlamydia trachomatis*, los estudios que utilizan un sistema sin huésped (axénico) indican que los cuerpos elementales tienen altas actividades metabólicas y biosintéticas y dependen de la d -glucosa-6-fosfato como fuente de energía. (10,11)

La proteína más abundante es MOMP (del término inglés major outer membrane protein), codificada por el gen ompA, que forman numerosos puentes disulfuro y son las responsables de la rigidez y escasa permeabilidad de CE. Sin embargo, el CE es incapaz de replicarse por división, requiriendo la penetración al interior de la célula eucariota para continuar su ciclo biológico. La adhesión de las bacterias a la célula hospedadora es necesaria como un paso previo a la fagocitosis. (12)

El cuerpo reticular (CR) en cambio es la forma intracelular no infecciosa metabólicamente replicativas de *Chlamydia*. Poseen una frágil membrana que carece de los extensivos enlaces disulfuro característicos del cuerpo elemental. Los cuerpos reticulados se especializan en la adquisición y replicación de nutrientes; ellos expresan altamente proteínas que están involucradas en la generación de ATP, síntesis de proteínas y transporte de nutrientes, como las ATP sintasas tipo V, proteínas ribosómicas y transportadores de nucleótidos. Depende del ATP eliminado por el huésped como fuente de energía, lo que indica que las dos formas de desarrollo tienen requisitos metabólicos distintos. (11)

El ciclo de *Chlamydia* comienza con la unión de los cuerpos elementales a las células huésped se inicia mediante la formación de un puente trimolecular entre las adhesinas bacterianas, los receptores del huésped y los proteoglicanos del heparán sulfato del huésped (HSPG). A continuación, los efectores del sistema de secreción de tipo III (T3SS) previamente sintetizados se inyectan en la célula huésped, algunos de los cuales inician reordenamientos del citoesqueleto para facilitar la internalización y/o iniciar la señalización mitogénica para establecer un estado antiapoptótico. (14)

El cuerpo elemental se endocita en un compartimento unido a la membrana, conocido como la inclusión, que se disocia rápidamente de la vía endolisosómica canónica. Comienza la síntesis de proteínas bacterianas. Los cuerpos elementales se convierten en cuerpos reticulados y las proteínas de membrana de inclusión recientemente secretadas (Incs) promueven la adquisición de nutrientes al redirigir las vesículas exocíticas que están en tránsito desde el aparato de Golgi a la membrana plasmática. (14)

La inclusión naciente es transportada, probablemente por un Incs, a lo largo de los microtúbulos al centro organizador de microtúbulos (MTOC). Durante la mitad del ciclo, los cuerpos reticulados se replican exponencialmente y secretan efectores adicionales que modulan los procesos en la célula huésped. En condiciones de estrés, los cuerpos reticulados entran en un estado persistente y pasan a cuerpos aberrantes. (14)

La transición de CE a CR ocurre a través del ciclo biológico que dura alrededor de 48 a 72 horas, y se explica en tres fases (Fig.Nº1). El CE está perfectamente adaptado al medio extracelular ya que su membrana externa contiene una gran cantidad de proteínas muy ricas en aminoácidos azufrados, como cisteína. (11,12)

En esta segunda etapa se produce la multiplicación del CR mediante fisión binaria. Una vez en el interior del fagosoma, comienza un proceso de reorganización o diferenciación del CE a CR. Los primeros cambios tras la formación del fagosoma son el inicio de la síntesis proteica y la transformación de la MOMP de su forma trimérica a monomérica, con lo que aparecen poros de un tamaño adecuado para el paso de ATP y nutrientes. (14)

Tras estos sucesos iniciales, a las 12 horas después de la infección, todas las bacterias intracelulares están en forma de CR. Los CR se dividen por fisión binaria sin una aparente septación. Durante esta etapa se produce un crecimiento exponencial dentro del fagosoma entre 100 a 1000 bacterias. A la conclusión de este ciclo de crecimiento, comienza una nueva reorganización de los CR a CE para formar una inclusión madura. La reorganización no es un proceso sincrónico, es decir que coexisten CR en reproducción junto a CE maduros. (13)

Finalmente ocurre la liberación de los CE de la célula hospedadora. El mecanismo de liberación se produce por exocitosis o lisis celular en donde los CE son detectados en el medio extracelular tras la lisis de la célula hospedadora que se produce como consecuencia de la liberación tardía de enzimas lisosomales, así como por la acción de una proteasa de origen clamidial. (14). Sin embargo, luego de la última etapa del ciclo biológico la bacteria es capaz de persistir en el huésped gracias a la producción de interferón- γ , que mediante la inducción de la enzima indolamina triptófano degradantes de 2,3-dioxigenasa, reduce los niveles intracelulares de triptófano y frena la replicación de cuerpo reticular (CR). Estos CR no son infecciosos, pero permanecen viables denominándose cuerpos aberrantes. (15)

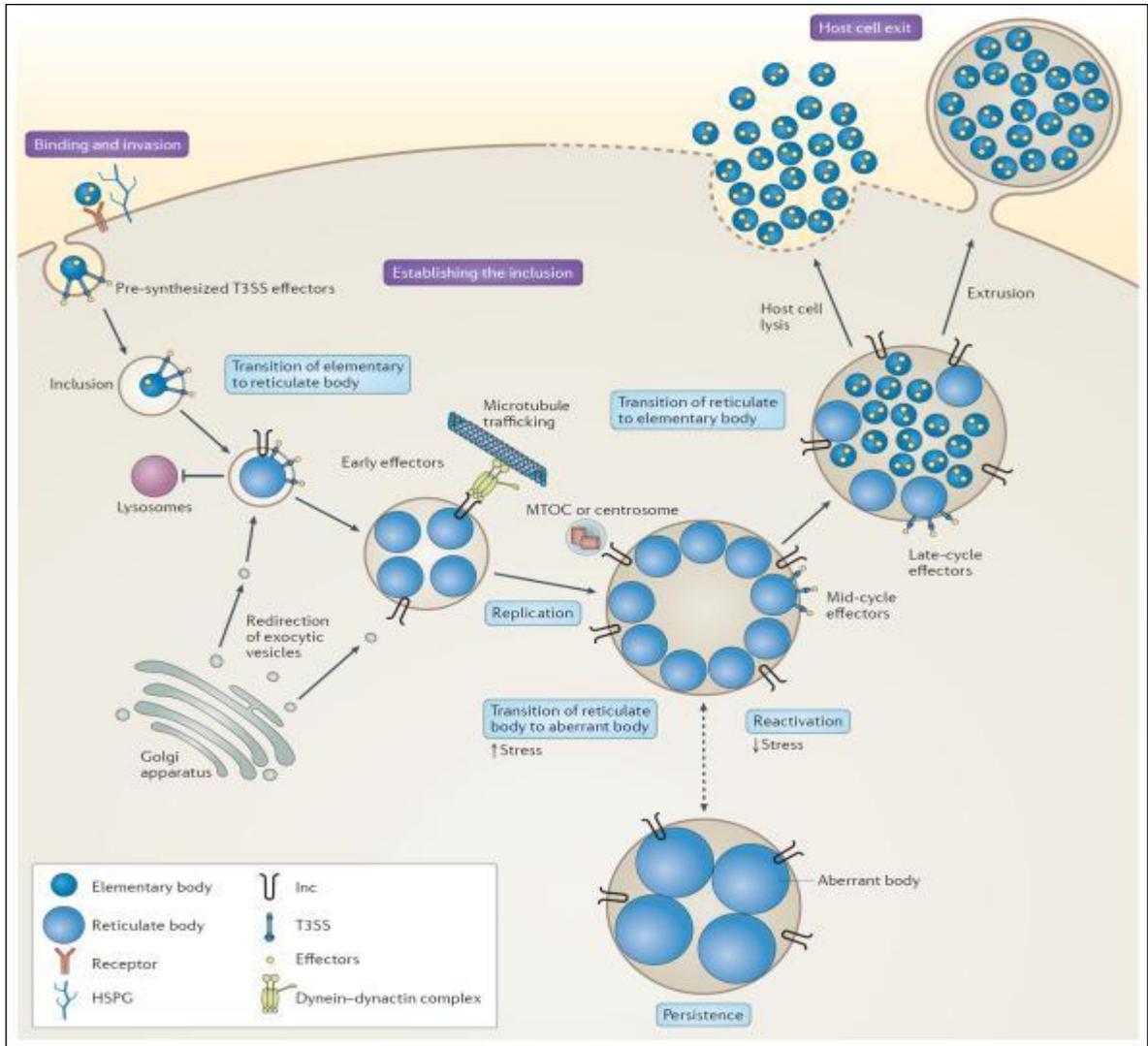


Figura N°1: Ciclo de vida de *Chlamydia trachomatis*. Tomado de Elwell, C. (2016). (11)

7.3 FACTORES DE VIRULENCIA

La patogenia de estos microorganismos se fundamenta principalmente en sus factores de virulencia, por esto es importante destacar los elementos y características de esta familia los cuales le permiten colonizar al huésped, evadir e inhibir la respuesta inmune que se desencadena, y a su vez realizar la entrada y salida del hospedero. Esta especie *Chlamydia trachomatis* posee una importante característica que le confiere resistencia a un grupo de antimicrobianos como lo son los betalactámicos, debido a que este microorganismo carece de ácido murámico en su pared celular por lo cual el mecanismo de acción de los antibióticos se ve inhibido. Dentro de estos se encuentran los más comunes de acuerdo a las especies patógenas humanas más importantes, como lo son; el lipopolisacárido, proteínas de membrana externa, sistema de secreción tipo III. (16)

7.3.1 LIPOPOLISACÁRIDO

El lipopolisacárido (LPS) es el componente principal de la valva externa de la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Forma una barrera de permeabilidad estrecha que excluye los agentes que dañan las células, como detergentes, proteasas, sales biliares y antimicrobianos hidrófobos. El LPS consiste en un lípido A de anclaje de membrana hidrofóbico, un oligosacárido central no repetitivo y un polisacárido distal. El LPS es técnicamente un lipooligosacárido (LOS), porque solo consiste en un núcleo de trisacárido de ácido 3-desoxi- D -manno-oct-2-ulopiranosico (Kdo). Además, el lípido A de *Chlamydia trachomatis* contiene ácidos grasos no hidroxilados más largos que reducen significativamente su actividad como endotoxina. Por otra parte, Nguyen y cols en el año 2011 constataron que en ausencia del LPS las *Chlamydias* no son capaces de realizar la transición de CR a CE que es la forma infectiva. (17)

7.3.2 SISTEMA DE SECRECIÓN TIPO III (T3SS)

El sistema de secreción tipo III (T3SS) consiste en una jeringa molecular, debido a que permite la inyección directa de moléculas efectoras bacterianas a través de las membranas de las células del huésped. *Chlamydia trachomatis* usa el T3SS en varias etapas de infección, incluso durante el contacto inicial de la célula huésped con la membrana plasmática y durante la fase intracelular, en la que los efectores se inyectan en el citosol de la célula huésped y pueden acceder a otros compartimentos intracelulares, como el núcleo. El T3SS está restringido espacialmente en *Chlamydia trachomatis*, con complejos de agujas localizados en un polo del cuerpo elemental o concentrados en el sitio en el que los cuerpos reticulados contactan con la membrana de inclusión. Las *Chlamydias* producen una familia única de efectores T3SS llamados proteínas de membrana de inclusión. (18)

7.3.3 PROTEÍNAS DEL COMPLEJO DE MEMBRANA

1. Proteína 1: (MOMP) 40 Kda:

En la literatura se establece que alrededor del 60% del peso seco de la membrana de *Chlamydia trachomatis* corresponde a la principal proteína de membrana externa (MOMP; major outer membrane protein) esta se presenta expuesta en la superficie de la membrana, por lo que es inmunogénica. (50)

La estructura trimétrica de la MOMP actúa como adhesina, facilitando las interacciones no específicas y la penetración de los CE al interior de la célula eucariota. Por otra parte, la estructura monomérica actúa como porina en los CR facilitando la permeabilidad de nutrientes y de ATP. En la envoltura del CE esta proteína pesa aproximadamente 40 KDa, está codificada por el gen omp 1. Además de lo ya mencionado presenta función de porina es glicosilada post traducción y juega un rol de adherencia electrostática. (50)

La variabilidad de los epítomos localizados en esta proteína parece responder a la presión inmunológica a la que se ve sometida la bacteria. Hay una remarcada evidencia de que las mutaciones en MOMP están relacionadas con las estrategias de evasión del sistema inmune: acumula más cambios aminoacídicos que cualquier otra proteína, estos cambios se producen 4,3 veces más frecuentemente en los dominios variables que interaccionan con los linfocitos B. La clasificación de las 18 serovariedades de *Chlamydia trachomatis*, se basa en las diferentes respuestas serológicas de los dominios variables de la MOMP, aunque no existe relación entre serovar y patotipo. (19)

2. Proteína de 60 KDa:

Esta proteína está codificada por el gen omp 2, está junto a la MOMP y la proteína de 12 KDa constituyen las principales proteínas del complejo de membrana externa. Se encuentra la proteína de 60 KDa en el espacio periplásmico, los cuáles dan a las Clamidias una integridad estructural semejante a la dada por el peptidoglicano. Los CR son deficientes en la proteína de 60 KDa. (51)

3. Proteína de 12-15 KDa :

Esta proteína está codificada por el gen omp 3. La molécula de 12 KDa es una lipoproteína hidrofílica la cual podría estar anclada en la membrana mediante la porción lipídica con la porción proteinácea enfrentando al periplasma. Los CR son deficientes en esta proteína. (51)

4. Proteínas de inclusión (Incs):

La característica definitoria de Incs es uno o más dominios hidrofóbicos bilobulados compuestos de dos regiones que se extienden por la membrana muy separadas que están separadas por un bucle corto de horquilla, con su terminal amino y / o terminal carboxilo predicho para extenderse al citoplasma de la célula huésped. Los Incs se expresan principalmente temprano durante la infección, cuando pueden ser importantes en el establecimiento de la inclusión, y a mediados del ciclo, cuando pueden estar involucrados en

el mantenimiento de la inclusión y la adquisición de nutrientes. Estas proteínas pueden proporcionar estabilidad estructural a la creciente membrana de inclusión. (52)

Las proteínas de inclusión reclutan proteínas del huésped a la membrana de inclusión para promover la fusión con compartimentos ricos en nutrientes, inhiben la fusión con compartimentos degradantes, secuestran maquinaria u organelos del huésped, interrumpen las rutas normales del huésped o ensamblan nuevos complejos con nuevas funciones. Las interacciones Inc-huésped identificadas hasta ahora indican que los Incs participan en numerosos procesos, incluida la reorganización del citoesqueleto de la célula huésped, la dinámica de la membrana, el anclaje del centrosoma, la adquisición de lípidos y la resistencia a la apoptosis. (14)

7.3.4 PROTEÍNAS DE SHOCK TÉRMICO

Las proteínas de choque térmico (HSP) corresponden a una familia de proteínas altamente conservadas que representa entre el 1% y 2% de la reserva total de proteínas. Su expresión es regulada hasta después de la exposición a condiciones de estrés tales como; choque térmico, estrés oxidativo, inflamación, irradiación. Aunque todas las funciones todavía no están totalmente estudiadas, la mayoría de las HSP actúan como chaperonas moleculares, es decir, estas se ligan a los polipéptidos generados en el retículo endoplásmico y acompañan a los diferentes organelos en donde adquieren su estructura tridimensional para realizar funciones esenciales que contribuyen al buen plegamiento de las proteínas y reparación del daño de estas. (17)

Así mismo, se ha visto el papel de las HSP y su participación en varios procesos de carcinogénesis e incluso en la resistencia a tratamientos anticancerígenos. Las HSP se expresan en numerosas neoplasias malignas y participan en la proliferación del tumor, diferenciación, invasión, metástasis, muerte y reconocimiento por parte del sistema inmune.

Lo anterior, es debido a que durante la protección celular contra la apoptosis son inducidos factores como citoquinas, radiación ionizante o estrés oxidativo; y por otra parte, la expresión excesiva de estas proteínas induce el estrés celular crónico que resulta en la inhibición de la apoptosis y facilita la transformación a células neoplásicas. (17)

Entre las principales proteínas de choque térmico esta la chaperona HSP60, también conocida como GroEL y/o Cpn60. Es una proteína codificada por el gen HSPD1 (posición 2q33.1), compuesta por 573 aminoácidos lo cual corresponde a un peso molecular de 61 kDa. Forma parte de la familia de polipéptidos, cuyas secuencias aminoacídicas están altamente conservadas tanto en procariotas como en eucariotas, son producidas por microorganismos y tejidos de mamíferos después de la exposición a varias condiciones de estrés. Además, estas poseen un 48% de homología de secuencia de aminoácidos con la hsp60 humana. (53)

Esta proteína de shock térmico se encuentra libremente sobre la superficie celular, está presente tanto en cuerpos reticulares como elementales, es liberada al medio durante el estado persistente de la bacteria, es un potencial inductor de la respuesta de hipersensibilidad de timo retardado mononuclear en humanos previamente expuestos a *Chlamydia trachomatis*. (53)

Con respecto a la expresión de esta proteína, es relevante mencionar su aumento durante infecciones persistentes, donde es reconocida como inmunoantígeno; por lo tanto, se ha encontrado una asociación entre la respuesta inmune a cHSP60 y secuelas de la infección por *Chlamydia trachomatis*. Específicamente, se propone que existe una respuesta autoinmune en la cual hay producción de anticuerpos contra cHSP60, los cuales son inadvertidamente dirigidos contra las proteínas homologas HSP60 presentes en el tejido humano; y como consecuencia se inducen daños a los tejidos por un mecanismo que está siendo estudiado. (53)

Otra de las principales proteínas de shock térmico es la Proteína HSP 70, en la que distintas investigaciones demuestran que esta interactúa estrechamente con proteínas hidrofóbicas y ayudan a la funcionalidad de proteínas en organelos, es por esto que se asocia con complejos de membrana externa aislados de cuerpos infecciosos elementales, desempeñando un papel en la unión de CE a las células epiteliales endometriales o en la entrada a ellas. Además, se cree que está involucrado en la encuadernación, plegado y translocación de polipéptidos en el transporte intracelular. (54)

Finalmente se establece que las HSP a diferencia del lipopolisacárido de *Chlamydia trachomatis*, que se libera de la inclusión en desarrollo a la superficie de las células epiteliales genitales infectadas, ambos antígenos de la proteína de choque térmico HSP 60 y 70 permanecen confinados dentro de la inclusión durante el transcurso del ciclo de desarrollo de *Chlamydia trachomatis*. (55)

7.3.5 PROYECCIONES DE SUPERFICIE

Estos factores de virulencia están directamente relacionados con la invasividad de *Chlamydia trachomatis*, debido a que estas extensiones permiten la unión y penetración del microorganismo en las células epiteliales, además de su proliferación. (56)

- Proyecciones hemisféricas:

Las proyecciones hemisféricas son especializaciones de superficie de la membrana plasmática. Estas fueron encontradas en cuerpos elementales, poseen un citoplasma denso y se formaron por diferenciaciones bien definidas de la membrana plasmática. Cada proyección de la membrana de plasma tenía un ápice redondeado y base plana, la que estaba en continuidad con el citoplasma. El diámetro de las proyecciones en la base es de aproximadamente de 40 nm, su altura de 30 nm y la distancia entre cada una de ellas de 25 nm, poseen citoplasma denso. Las proyecciones están separadas por pequeñas depresiones

con bases planas. Algunos investigadores creen que éstas pueden jugar un rol importante en la adhesión de los CE a las células huésped. (56)

- Púas (Spikelike projections):

Estas fueron encontradas en formas intermedias entre cuerpos elementales y cuerpos reticulados. Entre las características de estas proyecciones se tiene que son más grandes y menos densas que las hemisféricas. Son originadas debajo de depresiones redondeadas de la membrana plasmática que a travesaban el espacio periplásmico y la membrana externa hacia el final con terminaciones puntiagudas. Su longitud total mide aproximadamente 90 nm, de los cuáles 25 a 35 nm se proyectan más allá de la superficie de la *Chlamydia trachomatis*. Esto sugiere que éstas púas podrían ser conexiones entre la célula huésped y el microorganismo. (56)

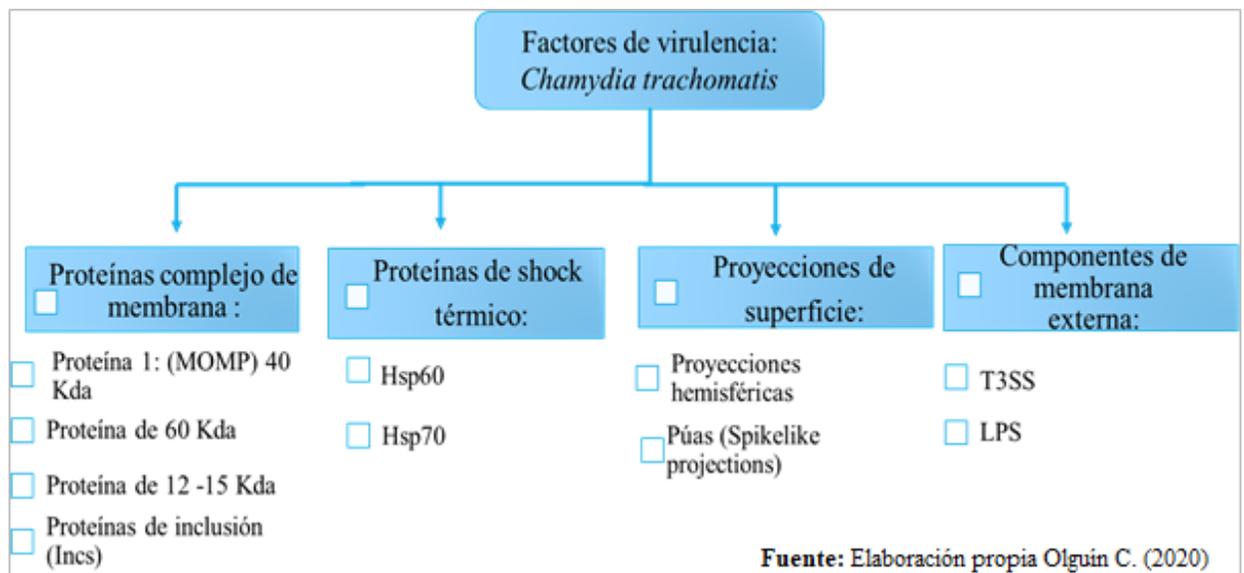


Figura N°2: Factores de virulencia de *Chlamydia trachomatis*.

7.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

Es fundamental destacar los principales cuadros clínicos que tiene la especie en la población, debido a la alta prevalencia que tienen a nivel mundial. Se mencionarán; tracoma su importancia radica en que es la principal enfermedad infecciosa causante de ceguera a nivel mundial. Además de linfogranuloma venéreo (LGV), como también infecciones óculo-genital; uretritis, cervicitis, infección perinatal. (20)

7.4.1 TRACOMA

Esta patología se define como una queratoconjuntivitis infectocontagiosa causada por una infección ocular de la especie *Chlamydia trachomatis*. Los episodios repetidos o persistentes llevan a inflamación cada vez más grave que puede progresar a la cicatrización en la conjuntiva tarsal superior. Un episodio de infección conduce a un episodio autolimitado de conjuntivitis por *Chlamydia trachomatis*. (21)

Afecta principalmente a la conjuntiva palpebral, provocando cambios progresivos en los párpados que contribuyen a la inversión de las pestañas y estas a su vez afectan a la córnea provocando su opacidad y finalmente la ceguera. Es considerada la segunda causa de ceguera a nivel mundial después de las cataratas y la principal causa de ceguera prevenible. Las granulaciones que se observan en el lado interior de los párpados cuando éstos se vuelven al revés, le da el nombre a esta afección (21). El período de incubación es de 5 a 12 días y la transmisibilidad se extiende mientras haya lesiones activas en las conjuntivas y en las mucosas de los anexos oculares, las cuales pueden durar algunos años, transmitiéndose por contacto directo con secreciones oculares, o por contacto indirecto con fómites contaminados. (22)

La organización mundial de la salud ha presentado una escala de clasificación para los cinco estadios clínicos del tracoma, cabe destacar que el paciente puede desarrollar varios estadios simultáneamente. (23)

Se presenta en el **Estadio 1: Inflamación tracomatosa** folicular se refiere una fase activa de la enfermedad en la que predominan los folículos, en esta etapa la infección está recién comenzando. Debe existir la presencia de cinco folículos o más sobre la conjuntiva del párpado superior y deben medir al menos 0,5 mm de tamaño. (23)

Estadio 2: Inflamación tracomatosa intensa: en esta etapa el ojo es altamente infeccioso, se irrita y presenta un engrosamiento inflamatorio importante de la conjuntiva tarsal superior esta obscurecida más de la mitad de los vasos profundos son normales. (23)

Estadio 3: Cicatriz tracomatosa las infecciones reiterados ocasionan la cicatrización del párpado interno. Los folículos desaparecen progresivamente, dejando lugar a estas cicatrices: que aparecen como líneas, bandas o surcos blancos en la conjuntiva del párpado superior. Es posible que se deforme el párpado y se vuelva hacia adentro denominándose entropión. (23)

Estadio 4: Triquiiasis tracomatosa en este estadio se hace referencia a las cicatrices múltiples que acarrearán una retracción del párpado; las pestañas se vuelven hacia adentro del ojo, rozan la córnea y provocan ulceraciones y una inflamación crónica. (23)

Finalmente, **el Estadio 5: Enturbiamiento de la córnea:** se produce una opacidad de la córnea donde de forma progresiva, la córnea se va volviendo opaca, lo que acarrea una disminución de la agudeza visual o una ceguera. (23)

La infección ocular por *Chlamydia trachomatis* puede adquirirse en el momento del nacimiento, cuando el recién nacido pasa a través del canal de parto y las secreciones vaginales contaminan los ojos del niño. En zonas endémicas de tracoma, los niños y los adultos afectados son fuente de contagio de persona a persona (ojo a ojo), y la transmisión se produce por contacto directo de los dedos con secreciones nasofaríngeas infectantes o de ojos, o bien por contacto indirecto con fómites contaminados. En zonas no endémicas, la transmisión se produce del tracto genital al ojo. Las infecciones se transmiten entre las personas por medio de las secreciones oculares y por la intervención de moscas que se reproducen en las heces humanas y tienden a posarse en el ojo humano. (57)

Tabla N° 1: Clasificación de tracoma por la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Grado	Descripción
Tracoma folicular (TF)	La presencia de 5 o más folículos (de al menos 0,5 mm) en la conjuntiva tarsal superior.
Tracoma inflamatorio (TI)	Engrosamiento inflamatorio pronunciado de la conjuntiva tarsal que oculta más de la mitad de los vasos tarsales normales profundos
Cicatrización tracomatosa (TS)	La presencia de cicatrices en la conjuntiva tarsal.
Triquiasis (TT)	Al menos una pestaña toca el globo ocular
Opacidad corneal (CO)	La presencia de opacidad corneal fácilmente visible que oscurece al menos parte de la pupila.

Fuente: Tomado desde Lavett, D. (2013). (81)

Los factores que aumentan el desarrollo del tracoma son; las pobres condiciones socioeconómicas en general, debido a que es una enfermedad de las poblaciones extremadamente pobres en países en desarrollo, las condiciones de hacinamiento en que las personas viven en estrecho contacto corren mayor riesgo de propagar la infección. También es un factor de riesgo importante la falta de una fuente de abasto de agua, malas condiciones de higiene personal y disposición inapropiada de excretas. (57)

La OMS indica que esta infección ocular activa es común entre los niños de edad preescolar, con tasas de prevalencia que pueden llegar a ser del 60% al 90%. A partir de esa edad la infección se vuelve menos frecuente y más breve, el sistema inmune puede resolver un solo episodio de infección, pero en comunidades donde el tracoma es endémico son frecuentes las reinfecciones. La edad a la que esto ocurre depende de varios factores, entre ellos la intensidad local de la transmisión. En las comunidades muy endémicas puede ocurrir en la infancia, aunque lo más frecuente es que la discapacidad visual se produzca entre los 30 y los 40 años. (58)

Actualmente África es el continente más afectado y el que mayores esfuerzos de control realiza. En 2017, en los 22 países de la Región de África de la OMS en los que el tracoma constituye un problema de salud pública se operaron de triquiasis cerca de 226 000 personas. Por otra parte, en África más de 79 millones de personas fueron tratadas de tracoma con antibióticos el 95% de las tratadas en todo el mundo. (58)

La Organización Mundial de la Salud creó una estrategia para prevenir el tracoma con el objetivo de eliminarla antes de 2020. Ejecutando el programa SAFE. Este consiste en: cirugía para tratar la fase de la enfermedad que causa ceguera (triquiasis palpebral tracomatosa); antibióticos para eliminar la infección, en particular la administración masiva de azitromicina, donada por el fabricante a los programas de eliminación a través de la Iniciativa Internacional contra el Tracoma; higiene facial, mejoras medioambientales, en particular del acceso al agua y al saneamiento. (58)

1.4.2 LINFOGRANULOMA VENEREO (LGV)

Este cuadro clínico se clasifica como una infección de transmisión sexual (ITS) producida por los serotipos L1, L2 y L3 de *Chlamydia trachomatis*. Clásicamente se ha distribuido en áreas tropicales y subtropicales de África, India y Sureste asiático. Sin embargo, a partir del 2003 se comenzaron a publicar casos aislados en Europa y Estados Unidos, con un crecimiento exponencial a partir del 2004. Las características comunes de todos estos nuevos brotes son que aparece en forma de proctitis en hombres que mantienen relaciones sexuales con otros hombres y todas ellas comparten el serotipo L2b de *Chlamydia trachomatis*. Estudios recientes han evidenciado una recombinación entre serovares L2b y D, dando lugar a un serovar hipervirulento correspondiente al L2c de LGV, que causa proctitis con hemorrágica severa. (24)

El cuadro clínico de la fase primaria comienza tras un periodo de incubación de alrededor de 3 días, con la formación de una vesícula herpetiforme pequeña y no dolorosa o poco dolorosa, o una úlcera cutánea de base indurada, bordes elevados en los genitales masculinos o femeninos. La lesión primaria suele curarse espontáneamente en varios días y después de un periodo latente el paciente evoluciona hacia la fase secundaria. Un porcentaje elevado de pacientes no presentan evidencia de lesiones cutáneas y pasan directamente a la segunda fase. Del sitio primario de inoculación la infección se disemina a los ganglios linfáticos. (24)

Los primeros síntomas de la fase secundaria se manifiestan entre los 10 y 30 días posteriores al contacto sexual. La característica principal es la linfadenopatía supurativa, que involucra ganglios de la región donde se inició la infección. En los ganglios se produce una masa inflamada en el interior del tejido que va formando abscesos los cuales pueden romperse y formar fístulas (Bubón). El bubón puede ser bilateral en el 40% de los casos. Esta fase puede presentar también fiebre, dolores musculares y en el caso de proctitis pus o sangre en el recto, dolor durante las deposiciones, diarrea, etc. Puede ocurrir elefantiasis. (27)

La fase terciaria o tardía se caracteriza por cambios fibróticos y anormalidades en drenaje linfático dando alteraciones funcionales. Estas complicaciones se observan en un porcentaje muy bajo de pacientes, siendo más frecuentemente en el sexo masculino. Tanto los neonatos de madres infectadas como los adultos por auto-infección pueden padecer de conjuntivitis y/o de úlceras en la córnea que se acompañan de linfadenopatías submaxilares, cervicales y pre-auriculares. (27)

En las mujeres, la lumbalgia o el dolor pelviano son habituales y las primeras lesiones se detectan en el cuello uterino o la parte superior de la vagina, lo que promueve la inflamación de los ganglios linfáticos perirrectales y pelvianos más profundos. Puede haber múltiples trayectos fistulosos de drenaje, por donde se elimina pus o sangre. En el tercer estadio, las lesiones curan con cicatrices, pero los trayectos fistulosos pueden persistir o recidivar. La inflamación persistente causada por la infección no tratada obstruye los vasos linfáticos y provoca edema y úlceras cutánea. (25)

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) indica que, en muchos países el número más alto de infecciones por clamidias en el sexo femenino se da en el grupo etario de 15 a 19 años, seguido del de 20 a 24 años. En el hombre la infección suele ser asintomática en 6 a 11% de los casos, especialmente adolescentes. Las manifestaciones anorrectales tempranas son proctitis con tenesmo y secreción purulenta sanguinolenta; las manifestaciones tardías son inflamación del tejido rectal y perirrectal con cicatrización crónica, cambios que llevan al estreñimiento y la estenosis rectal y, en ocasiones, a fístulas rectovaginales y perianales, que también se observan en varones que tienen actividad sexual con otros varones. (26)

La lesión temprana del linfogranuloma venéreo debe diferenciarse de las lesiones de la sífilis, el herpes genital y el chancroide; la afectación de ganglios linfáticos debe diferenciarse de la consecutiva a tularemia, tuberculosis, peste, neoplasias o infección piógena; asimismo, la estenosis rectal debe separarse de la ocasionada por neoplasias y colitis ulcerativa. (27) Los pacientes con un cuadro clínico que indique esta enfermedad deben recibir tratamiento

empírico. El antibiótico de elección es la doxiciclina (contraindicada en el embarazo), 100 mg cada 12 h por vía oral durante 21 días. También es eficaz la eritromicina, 500 mg cada 6 h por vía oral durante 21 días. Asimismo, puede ser eficaz la azitromicina, 1 g por vía oral una vez a la semana por tres semanas. (28)

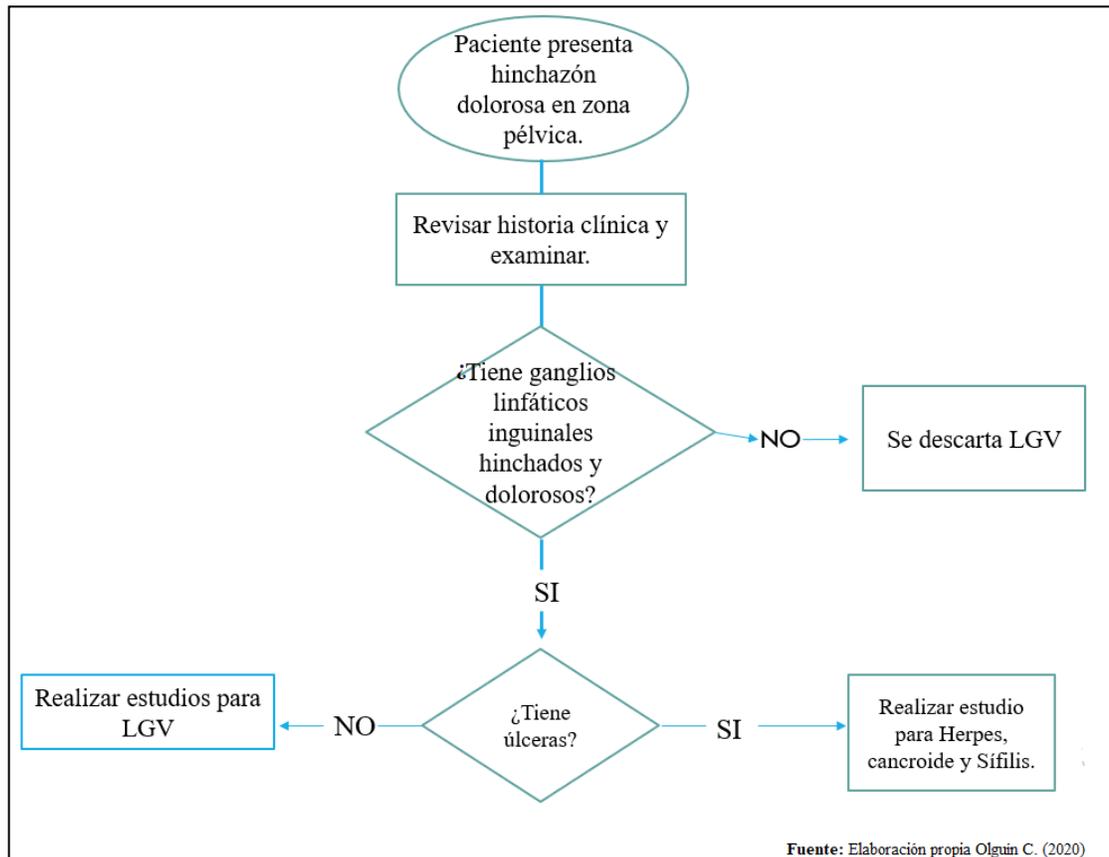


Figura N°4: Flujograma para diagnóstico de Linfogramuloma venéreo (LGV).

7.4.3 INFECCIONES ÓCULO-GENITALES

La organización mundial de la salud describe que los serotipos: D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, K. Son responsables de las infecciones óculo-genitales entre las cuales pueden diferenciarse en infecciones en el hombre adulto: uretritis (y sus complicaciones como epididimitis y artritis reactiva incluyendo el síndrome de Reiter), proctitis y conjuntivitis, infecciones en la mujer adulta: cervicitis (y sus complicaciones como endometritis, salpingitis y peritonitis o perihepatitis), proctitis, uretritis y conjuntivitis y en caso de mujeres embarazadas responsable de partos prematuros, e infecciones en el recién nacido en el que producen conjuntivitis y neumonía. (29)

En los varones con vida sexual activa, *Chlamydia trachomatis* causa uretritis no gonocócica y, en ocasiones, epididimitis. En la mujer, *Chlamydia trachomatis* causa uretritis, cervicitis y enfermedad inflamatoria pélvica, que provoca esterilidad y predispone al embarazo ectópico. Los varones y mujeres pueden presentar proctitis y proctocolitis. La infección en cualquiera de estos sitios anatómicos origina signos y síntomas o puede ser asintomática, pero contagiosa para las parejas sexuales. Hasta 50% de las uretritis no gonocócicas (varones) y de los síndromes uretrales (mujeres) se atribuye a *Chlamydia trachomatis* y se acompaña de disuria, secreción no purulenta y frecuencia urinaria. En ocasiones las secreciones genitales de los adultos infectados son inoculadas por la misma persona en la conjuntiva, provocando conjuntivitis de inclusión, que es una infección ocular muy similar al tracoma agudo. (29)

Se estima que entre un 30 y 50% de los hijos de mujeres infectadas adquieren la infección; entre 15 y 20% de los lactantes infectados manifiestan síntomas oculares y entre 10 y 40% manifiesta síntomas respiratorios. La conjuntivitis de inclusión del recién nacido empieza como conjuntivitis mucopurulenta cinco a 12 días después del parto; tiende a disminuir con eritromicina o tetraciclinas o bien de manera espontánea después de varias semanas o meses. En ocasiones persiste como clamidiasis crónica con manifestaciones clínicas idénticas al de

un tracoma infantil subagudo o crónico en una región no endémica y sin conjuntivitis bacteriana. (30)

Los esquemas de tratamiento recomendados para la uretritis y cervicitis incluyen una sola dosis de 1 g de azitromicina por vía oral, o 100 mg de doxiciclina VO por siete días (contraindicada en el embarazo), o 500 mg de levofloxacin cada 24 h por siete días (también contraindicada en embarazo). De igual forma, en los pacientes con diagnóstico de enfermedad de transmisión sexual, se deben llevar a cabo pruebas para detección de VIH o sífilis. (31)

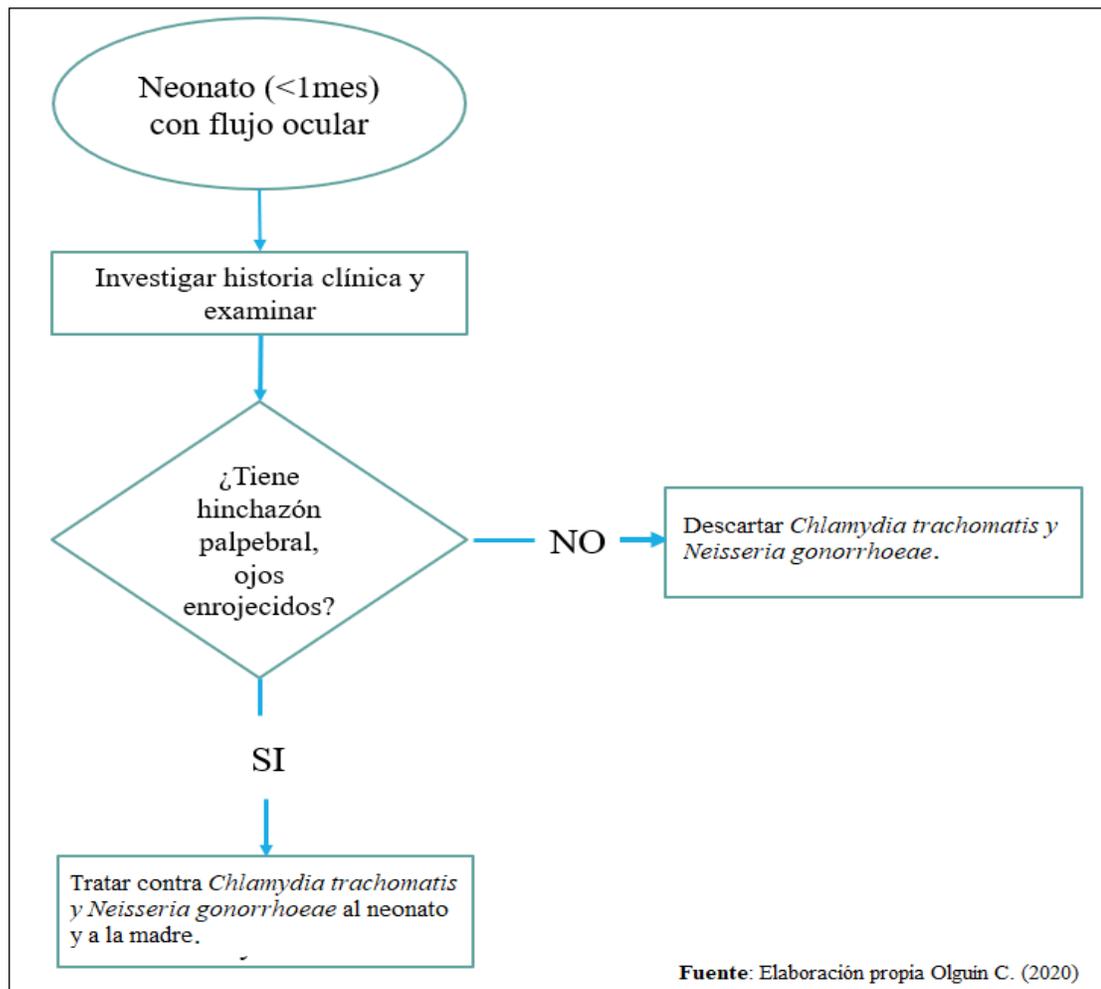


Figura N°5: Flujograma de diagnóstico de conjuntivitis en neonatos.

1.4.4 NEUMONÍA EN RECIÉN NACIDOS Y LACTANTES

Esta afección se limita a los recién nacidos, los que pueden infectarse durante el pasaje a través del canal del parto de madres portadoras con una transmisión de hasta un 25%. La neumonía es un cuadro que presenta una alta morbilidad en los recién nacidos, ocurre típicamente entre la 2ª y la 15ª semana de vida, precedida por un cuadro respiratorio alto afebril con rinorrea. Estudios revelan que la neumonía ocurre con más frecuencia entre la 4ª y la 5ª semana de vida, pero también se ha visto un caso mucho más tardío a los 11 meses. Este cuadro se caracteriza por tos en exceso y signos de dificultad respiratoria, la hipoxemia y la apnea son más comunes en los prematuros. La infección puede además afectar a otros órganos, provocando endocarditis, otitis media aguda, coroiditis, meningoencefalitis y pustulosis palmoplantar crónica. (32)

Así pues, debería sospecharse infección por *Chlamydia trachomatis* en pacientes menores de 6 meses de edad, con sintomatología de afectación de vías respiratorias bajas y en los que no se hallen otros gérmenes que justifiquen el cuadro. En la literatura se establece que es imperativo y urgente realizar rutinariamente pruebas en todas las embarazadas que presenten los factores de riesgo anteriormente citados, así como también en aquellas mujeres inmigrantes que procedan de áreas donde *Chlamydia trachomatis* presenta mayor prevalencia. (32)

Las características clínicas habituales de esta neumonía son: cursar sin fiebre, tos en accesos, irritabilidad, pausas apnéicas, taquipnea y cianosis. La auscultación suele ser inespecífica y es poco frecuente la presencia de sibilancias. Las enfermedades pulmonares intersticiales en los recién nacidos plantean un problema principal: se desconoce la verdadera prevalencia de esta infección y su diagnóstico por parte de los médicos sigue siendo difícil porque la presentación puede diferir entre los recién nacidos y los bebés. Esta infección debe considerarse sistemáticamente cuando un recién nacido presenta una neumonitis intersticial neonatal. Un mejor diagnóstico de estas infecciones mejoraría el conocimiento sobre esta

patología y particularmente sobre la aparición de consecuencias a largo plazo después de esa infección. En los estudios radiológicos no existen imágenes patognomónicas para el diagnóstico de estas infecciones. Aunque el patrón más común sea la hiperinsuflación, otros patrones radiológicos pueden observarse a pesar de ser infrecuente la condensación lobar y el derrame pleural no son típico de esta infección. (33)

Los hallazgos analíticos de laboratorio son variables. Clásicamente, se describen eosinofilia y aumento de las inmunoglobulinas séricas, pero este hecho no se verifica en todos los niños. No hay consenso para el manejo terapéutico de *Chlamydia trachomatis* para las enfermedades pulmonares. La utilidad del tratamiento sigue sin respuesta. Dado que no hay estudios adicionales disponibles, sigue siendo difícil no iniciar una terapia antibiótica curativa cuando se enfrenta a recién nacidos con dificultad respiratoria aguda. (34)

Los antibióticos con una buena penetración intracelular son los únicos que son activos contra *Chlamydia trachomatis* (Tetraciclinas, macrólidos, fluoroquinolonas y rifampicina). El tratamiento tradicional utilizado es la eritromicina. 50mg / kg / día en 4 dosis, 14 días. (59)

La Agencia de Salud Pública de Canadá recomienda para niños menores de 1 mes : eritromicina durante 14 días (primera semana de vida: 20 mg / kg / día si <2000 g, 30 mg / kg / día si > 2000 g, de 1 semana a 1 mes: 40 mg / kg / día) y para niños mayores de 1 mes: azitromicina , 12-15 mg / kg / día, dosis única máxima de 1 g o eritromicina 40 mg / kg / día, en 4 dosis divididas durante 14 días o sulfametoxazol 75 mg / kg / día, máximo 1 g, en 2 dosis / día durante 10 días. La Josamicina (50 mg / kg / día, 14 días) se ha visto favorecida por su acción sobre los patógenos intracelulares. (59)

Tabla N° 2: Generalidades de manifestaciones clínicas.

Manifestación Clínica	Grupo etario riesgo	Incubación	Sintomatología	Tratamiento
Tracoma	30-40 años.	5 a 12 días.	Lesiones activas en conjuntiva y mucosas.	Antibioticoterapia con tetraciclina o azitromicina
LGV	< 25 años.	3 días.	Pequeña lesión y bubones.	Antibioticoterapia con doxiciclina o eritromicina.
Cervicitis/ uretritis	15 a 50 años.	7 a 14 días.	Secreción purulenta.	Antibioticoterapia con doxiciclina o azitromicina
Neumonía	Recién nacidos.	2 ^a y la 15 ^a semana de vida	Hipoxemia	Antibioticoterapia con macrólidos

Fuente: Elaboración propia Olguín C. (2020)

7.4.5 ENFERMEDAD INFLAMATORIA PELVICA (EIP)

La enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) es un síndrome clínico frecuente que engloba la patología infecciosa del tracto genital superior. Generalmente es el resultado de una infección ascendente desde el endocérvix, pudiendo llegar a afectar en su evolución al endometrio (endometritis), miometrio (miometritis), trompas (salpingitis), ovarios (ooforitis), parametrios (parametritis) y peritoneo pélvico (pelviperitonitis). (60)

El centro de control de enfermedades (CDC) define esta patología como un síndrome agudo debido al ascenso de microorganismos de la vagina o el cuello uterino al endometrio, trompas uterinas y en ocasiones a las estructuras vecinas ya sea, ovarios, peritoneo y cavidad pelviana. (61)

Se trata de una de las infecciones más frecuentes e importantes en las mujeres no embarazadas en edad reproductiva, y constituye un problema de salud pública por los costos directos e indirectos que provoca debido a sus manifestaciones clínicas y sus secuelas. Su incidencia es difícil de precisar, ya que las formas subclínicas son subdiagnosticadas, pero es sabido que se trata de una entidad frecuente. (60)

Habitualmente es una infección polimicrobiana en la que los agentes patógenos más prevalentes son *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*, ambos de transmisión sexual. Otros agentes implicados son *Mycoplasma hominis* y *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum*, *Streptococcus agalactiae*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus spp*, *Escherichia coli* y gérmenes anaerobios. (60)

El diagnóstico clínico es con frecuencia dificultoso por la inespecificidad y poca sensibilidad de la historia clínica y los estudios de laboratorio, sin embargo, el retraso en el diagnóstico y tratamiento puede producir secuelas importantes. La EIP causada por *Chlamydia trachomatis*, es frecuentemente asintomática u oligosintomática. Puede provocar escaso o nulo dolor pelviano, sucede lo mismo con la eritrosedimentación, la proteína C reactiva y la fiebre. (61)

Debido a que la mayoría de las pacientes son asintomáticas estas pueden consultar tardíamente en el curso de la llamada "EIP silente", cuando ya existen secuelas irreversibles en trompas o peritoneo. Encontrándose así muchas pacientes con esterilidad debido a la obstrucción tubárica e incluso con historia de embarazo ectópico, las cuales no tienen antecedentes de EIP y presentan anticuerpos contra *Chlamydia trachomatis*. En cuadros clínicos EIP que presentan sintomatología, el principal síntoma que se presenta es el dolor pélvico. (61)

Existe una clara relación entre esta patología y las enfermedades de transmisión sexual es por esto que comparten los siguientes factores de riesgo; tener menos de 25 años, presenta un riesgo mayor de EIP debido a prácticas de mayor riesgo. Así también aumenta el riesgo la colocación de un dispositivo intrauterino (DIU), múltiples compañeros sexuales, haber tenido antecedentes de EIP, los métodos anticonceptivos de barrera, y los hormonales. (60)

En la literatura se explica mediante diversos estudios, la estrecha relación entre el desarrollo de EIP y la proteína de shock térmico Hsp60. Para determinar si el anticuerpo sérico contra los antígenos de *Chlamydia trachomatis* altera el riesgo de enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) de *Chlamydia trachomatis*, Peeling evaluó prospectivamente a 280 trabajadoras sexuales durante un período de 33 meses para detectar la infección cervical incidente de *Chlamydia trachomatis* y *Neisseria gonorrhoeae* y la EPI clínica. (62)

A través de este estudio se demostró que las mujeres con respuestas de anticuerpos preexistentes a Chsp60 demostraron un riesgo significativo mayor de desarrollar EIP clínico durante una nueva infección por *Chlamydia trachomatis*, en comparación con el riesgo en mujeres sin anticuerpo Chsp60. Los anticuerpos a Chsp60 aumentaron de forma independiente la incidencia de *Chlamydia trachomatis* en EIP 2 veces, por lo que se recomienda que las personas que cursen con una infección por *Chlamydia trachomatis* y se identifique el anticuerpo Chsp60 deben ser tratadas con ciclos más largos de antibióticos o con medicamentos antiinflamatorios suplementarios. Así lo indica Rosanna Peeling mediante su estudio publicado por “*The Journal of infectious diseases*”. (62)

Por otro lado, se ha mencionado en la literatura el mimetismo molecular entre HSP60 y cHSP60 puede generar una respuesta inmune. Se ha propuesto que las adherencias y la obstrucción tubárica son resultado de una respuesta autoinmunitaria órgano específica, debido a la producción de anticuerpos contra cHSP60. (17)

La proteína cHSP60 tiene una homología de 60% en su secuencia de aminoácidos con la proteína de hsp60 de células humanas. Las pacientes con oclusión tubárica, con adherencias, o con ambas, muestran concentraciones elevadas de anticuerpos anti-HSP60 de *Chlamydia trachomatis*. Lo anterior, se ha concluido gracias a estudios que han demostrado que pacientes con oclusión tubárica y/o adherencias, muestran concentraciones elevadas de anticuerpos anti-cHSP60 debido a la alta producción del antígeno durante la infección crónica por *Chlamydia trachomatis*. (17)

Es así, como los efectos de la reactividad cruzada contra HSP60 humanas posiblemente perpetúan y aumentan la infección; además de inducir un proceso inflamatorio con daño del tejido y posterior reparación, acompañado de cicatrización y fibrosis. A partir de esto, se genera una obstrucción parcial o total de las salpinges y formación de adherencias. (60)

Entre la sintomatología de este cuadro clínico encontramos, en el 95% de los casos se produce dolor abdominal, aumento del flujo vaginal con características anormales en un 74%, sangrado anormal, vómitos. Además, dolor a la movilización del cuello, dolor anexial en la exploración vaginal, fiebre, etc. (60)

Cabe destacar que el diagnóstico clínico es con frecuencia dificultoso por la inespecificidad y poca sensibilidad de la historia clínica y los estudios del laboratorio. Sin embargo, el retraso en el diagnóstico y tratamiento puede producir importantes secuelas como se mencionó anteriormente. (60)

El diagnóstico diferencial debe de realizarse tanto con otras patologías del tracto genital como con procesos extra genitales:

- Cuadros obstétricos: gestación ectópica, aborto séptico.
- Cuadros ginecológicos: endometriosis severa, quiste ovárico complicado, dismenorrea intensa, ovulación dolorosa.

- Cuadros gastrointestinales: apendicitis, gastroenteritis, diverticulitis.
- Cuadros urológicos: cistitis, pielonefritis, crisis renoureteral. (63)

Respecto a la terapia administrada frente a esta patología se debe considerar que tiene por objetivo erradicar la infección mediante antibioticoterapia en fase aguda, se indica cirugía en casos de fracaso terapéutico o complicaciones, además de aliviar los síntomas con reposo y analgésicos y prevenir las complicaciones mediante antiinflamatorios. El tratamiento médico debe iniciarse tan pronto como se determine el diagnóstico sin esperar el resultado del cultivo de muestras, de una manera empírica y con espectro polimicrobiano. Los resultados posteriores de microbiología modificarán si es preciso, la terapia antibiótica inicial. (60)

En pacientes ambulatorias el tratamiento oral puede ser considerado en aquellas mujeres con EIP de ligera a moderada, ya que los resultados clínicos de estas pacientes son similares a aquellas tratadas con terapia endovenosa. Los siguientes regímenes cubren los organismos etiológicos más frecuentes. Las pacientes que no respondan a este tratamiento por vía oral en 72 horas deberán ser reevaluadas para confirmar el diagnóstico y se le debe administrar terapia endovenosa hospitalizada. (60)

Tabla N°3: Tratamiento de Enfermedad inflamatoria pélvica:

	Tratamiento intramuscular/oral	Tratamiento parenteral
Primera Línea	Ceftriaxona 250 mg IM dosis única + Doxiciclina 100 mg c/12 h VO +/- Metronidazol 500 mg c/12 h VO, durante 14 días	Ceftriaxona 2 g IV c/24 h ó Cefoxitin 2 g IV c/6 h ó Cefotetán 2 g IV c/12 h + Doxiciclina 100 mg c/12 h VO ó IV

Fuente: Tomado desde Guía clínica para tratamiento de ITS, CDC. (2018)

7.4.6 ASOCIACIÓN ENTRE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* Y CÁNCER DE OVARIO

Diversos autores por más de una década han investigado la asociación directa entre la infección persistente de *Chlamydia trachomatis* como factor de riesgo para el cáncer de ovario. Autores como Carvalho et al, proponen que los carcinomas de ovario serosos son neoplasias de las fimbrias tubáricas, que resultan de la infección de *Chlamydia trachomatis*, lo cual es demostrado bajo la evidencia de que los carcinomas serosos de alto grado son originados en la fimbria, existe una fuerte relación entre inflamación crónica y carcinogénesis; y *Chlamydia trachomatis* es uno de los agentes más importantes que causa inflamación tubal crónica que puede ser relacionado con la carcinogénesis.(17)

Debido a esto en los últimos años se han realizado investigaciones que respaldan esta asociación, Jonsson et al en el año 2018 estudió a 69 pacientes con sospecha de patología ovárica detectando la presencia de ADN de *Chlamydia trachomatis* y CHSP60 en las muestras ováricas y la IgG anticlamidial en plasma, comparándolas con diferentes subtipos de cáncer epitelial de ovario. Como resultado se obtuvo que ocho pacientes tenían ADN de *Chlamydia trachomatis* en sus muestras de ovario y todos estos pacientes tenían cánceres

epiteliales invasivos. Llegaron a la conclusión de que *Chlamydia trachomatis* puede tener un papel en la patogénesis de estos tumores. (64)

Por otro lado, en el año 2019 en un estudio realizado por Laban, se examinaron 67 muestras para detectar la presencia de ADN de *Chlamydia trachomatis* utilizando PCR cualitativa y cuantitativa. Se detectó ADN de *Chlamydia trachomatis* en el 84% del cáncer seroso tubárico de alto grado, el 16,7% del cáncer de ovario seroso de alto grado. La cantidad relativa media de ADN de CT fue significativamente alta en el carcinoma de trompas, en comparación con la del cáncer de ovario seroso de alto grado y los controles. Por lo que se concluye que el ADN de *Chlamydia trachomatis* se expresa altamente en el cáncer seroso tubárico en comparación con el cáncer de ovario seroso de alto grado y los controles. Debe considerarse la responsabilidad de la infección tubárica por *Chlamydia trachomatis* en la patogénesis del cáncer tubárico primario. (64)

Otra de las hipótesis está respaldada por datos moleculares que demuestran un efecto antiapoptótico de la infección por *Chlamydia trachomatis* prolongada que resulta en la supervivencia de la bacteria dentro de la célula huésped, debido a que esta puede afectar directamente la carcinogénesis ovárica, ya que induce roturas de doble cadena de ADN, interfiere con la respuesta al daño del ADN e inhibe la apoptosis en la célula huésped. . Esto a su vez facilita la supervivencia de las células dañadas por el ADN, lo que puede conducir a un mayor riesgo de iniciación de cáncer. Además, las infecciones por *Chlamydia trachomatis* del tracto genital superior pueden causar adherencias entre el tubo y el ovario, lo que lleva a la yuxtaposición de estos órganos y la transferencia de células iniciadas por trompas al microambiente que promueve el crecimiento en el ovario. (65)

Se explica que *Chlamydia trachomatis* podría inducir una degradación severa de p53 incluso en ausencia de E6. Recientemente se ha sugerido que una proporción significativa de cáncer de ovario seroso de alto grado se origina en el epitelio columnar de la trompa de Falopio, que es colonizada fácilmente por *Chlamydia trachomatis* durante las infecciones

ascendentes. Además, la pérdida de la función de la proteína p53 es un denominador común de casi todos los casos de cáncer de ovario. Es probable que la señalización funcional de p53 sea una respuesta esencial al estrés citotóxico desencadenado en la trompa de falopio por la ovulación. (66)

Es así como finalmente se destaca que la activación del sistema inmune es un factor importante que promueve el daño del tejido. Estos sistemas podrían ser activados por la presencia de inmunógenos (cHSP60) que son expresados durante la infección persistente de *Chlamydia trachomatis*. El uso de estudios que detectan titulaciones altas de anti-cHSP60 en pacientes diagnosticadas con cáncer de ovario es un soporte que fortalece las hipótesis como posible factor de riesgo; sin embargo, es imprescindible continuar con el estudio de la relación de *Chlamydia trachomatis* y tumor de ovario, en la cual anticuerpos anti-cHSP60 podrían ser usados como marcador para la detección de dicha. (67)

Varios estudios refuerzan la hipótesis de que la infección genital por *Chlamydia trachomatis* es un factor de riesgo principal para el cáncer invasivo de cuello uterino, posiblemente a través de la instigación de irritación crónica e inflamación con la liberación de moléculas de la respuesta inmune innata, como selectinas, citocinas, quimiocinas, prostaglandinas y sus receptores, con disminución de la apoptosis y de la vigilancia inmunológica local. (67)

A pesar de los diversos estudios e hipótesis formuladas por los autores, no se ha establecido la directa asociación molecular de *Chlamydia trachomatis* con el cáncer de ovario. Respecto a esto se establece que, durante la infección persistente, la respuesta inmune iniciada por la infección puede resultar en una reactividad cruzada con células y o tejidos humanos por el mimetismo molecular de cHSP60. Esto genera el desarrollo del fenómeno inflamatorio y probablemente un proceso de autoinmunidad órgano específico con una respuesta de anticuerpos prolongada e inflamación crónica que generan en las células afectadas por lo que es considerado como promotor de cáncer. (17)

En resumen, se concluye que se necesitan estudios experimentales adicionales para establecer la causalidad, estudios epidemiológicos que incluyan datos sobre EIP para investigar este mediador potencial y estudios epidemiológicos más grandes para evaluar el subtipo de enfermedad para confirmar estas asociaciones. Si se confirman estos resultados, sugeriría que la prevención de las ITS y los esfuerzos de detección temprana, incluido el desarrollo de vacunas, pueden representar una oportunidad para reducir el riesgo de cáncer de ovario. (68)

7.5 VIAS DE TRANSMISIÓN

Como se describió anteriormente, la infección por la bacteria *Chlamydia trachomatis* es la infección de transmisión sexual (ITS) bacteriana más frecuente en todo el mundo, y se da con mayor frecuencia en adultos jóvenes sexualmente activos. La clamidiasis se transmite al tener relaciones sexuales vaginales, anales u orales sin protección con una persona con infección por *Chlamydia trachomatis*, o bien de madre a hijo durante el parto. (35)

Se estima que la transmisión vertical de las gestantes portadoras de *Chlamydia trachomatis* ocurre principalmente durante el parto vaginal y/o durante el parto por operación cesárea en embarazos complicados por rotura prematura de membranas, con un riesgo estimado entre un 50-70%, existiendo casos anecdóticos de infección fetal a través de membranas íntegras. (36)

La transmisión vertical de la *Chlamydia trachomatis* ha sido estimada entre un 50-70% en partos vaginales disminuyendo este riesgo a un 20% cuando se ha indicado la operación cesárea debido a rotura prematura de membranas, existiendo sólo casos anecdóticos de contagio con membranas amniocoriónicas íntegras. Cuando la infección del producto ocurre, la colonización puede afectar a la conjuntiva ocular y/o al árbol respiratorio, pudiendo producir conjuntivitis, otitis media y neumonía. (37)

7.6 EPIDEMIOLOGÍA

Como se mencionó anteriormente la prevalencia de *Chlamydia trachomatis* a nivel mundial es alta, posicionándose así como la infección de transmisión sexual (ITS) de origen bacteriano más frecuente del mundo. (69) La prevalencia global de la infección se estima en 1,5% para personas bajo los 50 años de edad; sin embargo, en jóvenes sexualmente activos de 15 a 24 años, esta prevalencia puede llegar a 10%. (70)

El año 2018 la CDC mediante su informe de vigilancia establecía que en Estados Unidos existen 1, 8 millones de casos, y ha aumentado un 14% desde el año 2014. En donde 97.4% de todos los casos de clamidiasis reportados en mujeres se encontraban entre las personas de 15 a 44 años y a su vez las tasas más altas por edad de casos reportados en 2018 fueron 3.306 por cada 100.000 mujeres entre los 15 a 19 años (Figura N° 6), y 4.064 casos por 100.000 mujeres entre los 20-24 años. (69)

En los hombres el 94.0% de todos los casos de clamidiasis reportados se encontraban entre los 15 y 44 años. Los casos de *Chlamydia trachomatis* entre los hombres, aunque sustancialmente más bajos que las tasas entre las mujeres, fueron más altos en los de 20 a 24 años (Figura N° 6), arrojando 1.784 casos por cada 100.000 hombres. El segundo grupo con mayor prevalencia fue de 959 casos en hombres de 15 a 19 años. (69)

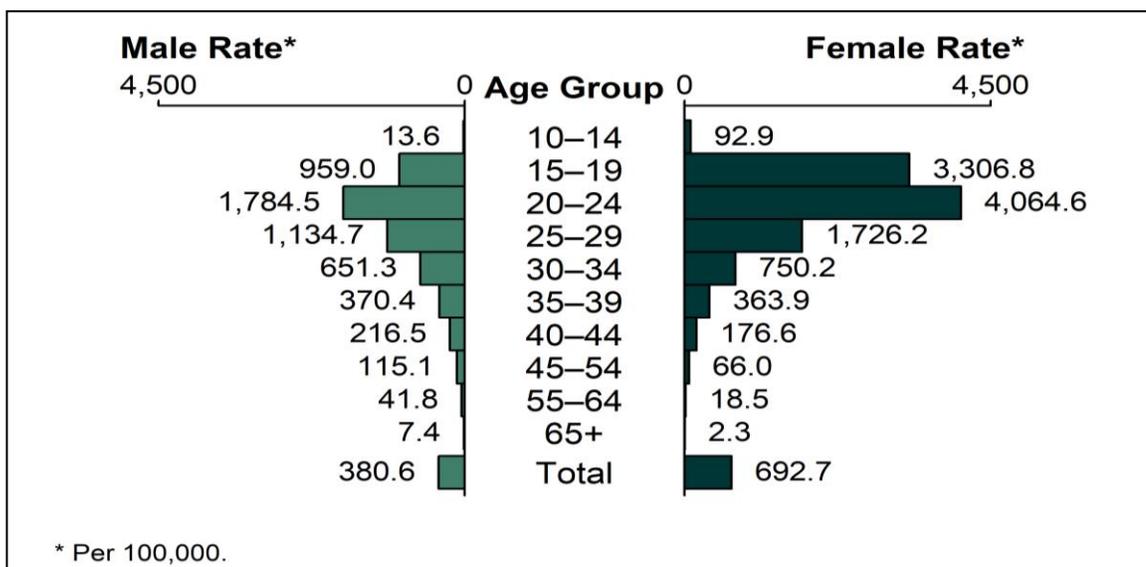


Figura N°6: Tasas de casos notificados por grupo de edad y sexo en Estados Unidos.
 Tomado desde Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades. (2018)

En el año 2012, la Organización Mundial de Salud reportó un estimado de 105,7 millones de casos nuevos para todo el mundo, de los cuales 47% eran en mujeres. En la región de las Américas se informó que hubo 17,8 millones de nuevos casos en mujeres y 7 millones de nuevos casos en hombres. De estos 18,8 millones de casos ya eran existentes de infección por clamidias en mujeres y 4,5 millones en hombres. (71)

Mientras que en el continente africano la incidencia de infección fue de 22,3 x 1.000 mujeres y la prevalencia de 2,6 x 1.000 mujeres; en cambio en la región europea, la incidencia y prevalencia se ubican en situación intermedia, 37,1 y 3,9 x 1.000 mujeres, respectivamente. Cabe señalar que dicho reporte muestra que no sólo existen variaciones regionales sino también cambios en prevalencia a través del tiempo. Al respecto, el mismo reporte señala un incremento en la incidencia global de ITS de 11% entre los años 2005 y 2008. Parte de dicho incremento se explica por el aumento (4,1%) de la población entre los 15 y 49 años. (72)

En Chile no se ha establecido una prevalencia clara de *Chlamydia trachomatis* en la población debido a que el diagnóstico y manejo epidemiológico de *Chlamydia trachomatis* no se realiza en la salud pública. Sin embargo, se han realizado estudios de frecuencia de estas infecciones en grupos de pacientes. (73)

En el año 2016 se publicó un estudio realizado en cuatro centros médicos de la región Metropolitana, las edades de corte fueron 19 a 23 años. La edad promedio del inicio de la actividad sexual fue $17,6 \pm 2,3$ años. El número promedio de parejas sexuales fue $2,6 \pm 2,4$. Un 85,6% reconoció ser usuaria de métodos de planificación familiar, primando el uso de anticonceptivos orales (57,5%) y de preservativo (21,5%). Sólo 2,7% reconoció usar anticoncepción oral asociada a preservativo durante el coito. Ningún caso refirió antecedentes de una EIP y sólo cuatro reportaron una ITS previa (condilomas y herpes simplex). Ocho casos cursaban un embarazo al momento del estudio 4,4%. (72)

El período de estudio fue tamizadas 181 mujeres. La prevalencia global fue 5,5%, observándose variaciones significativas (0% hasta 14,6%) entre centros. Hubo diferencia en el número de parejas entre infectadas o no. No hubo diferencia en edad de inicio de actividad sexual, historia de ITS, uso de preservativo o nivel socioeconómico. (72)

De esto se interpretó que el riesgo de infección asintomática aumenta a mayor número de parejas sexuales y cuando el uso de método de barrera es infrecuente durante el coito, independiente del nivel socioeconómico. A raíz de este estudio se concluye que cada 12 a 18 mujeres a esta edad presenta infección asintomática de *Chlamydia trachomatis*. La prevalencia actual y su variabilidad justifican el tamizaje y la vigilancia periódica de *Chlamydia trachomatis*. (72)

Otro estudio realizado en el año 2018 buscaba evaluar la prevalencia de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Trichomonas vaginalis*. Se evaluó a doscientos ochenta y seis voluntarios sexualmente activos de 24 años, de los cuales eran 171 mujeres y 115 hombres. (74)

En los resultados se encontró que la tasa de prevalencia de *Chlamydia trachomatis* fue de 8.7% en hombres y 8.8% en mujeres. *Neisseria gonorrhoeae* se detectó en un sujeto, mientras que no se detectaron casos de *Trichomonas vaginalis*. En el análisis multivariante, tener cierta educación universitaria fue protector, mientras que tener un mayor número de parejas sexuales fue un factor de riesgo para la infección de *Chlamydia trachomatis*. Esto último también fue predicho por sangrado postcoital en el modelo femenino. (74)

Este estudio lleva a concluir que, las tasas de infección por *Chlamydia trachomatis* fueron similares entre ambos sexos. Las características protectoras para la aparición de esta infección fueron la educación universitaria, el menor número de parejas, si era mujer y la ausencia de sangrado postcoital. A través de estos datos nuevamente se destaca la importancia de la detección de *Chlamydia trachomatis* entre la población chilena menor de 25 años. (74)

Sin embargo, estas recientes publicaciones de prevalencia y todos los estudios chilenos tienen el sesgo de haber sido realizados en clínicas y centros médicos privados donde está disponible el examen, en los que se atienden a pacientes de nivel socio económico medio o alto por lo que no sería del todo representativo a nivel nacional. (73)

7.7 RECOGIDA, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

La obtención de muestra es el factor más importante para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, los estudios microbiológicos han demostrado que la mala calidad de las muestras clínicas afecta en especial la sensibilidad del cultivo celular y de las técnicas inmunológicas, mientras que su efecto sobre la PCR es menor por tratarse de una técnica de mayor sensibilidad. (75)

Dado que esta bacteria infecta específicamente a las células columnares y la infección es intracelular, las muestras deben ser obtenidas raspando el sitio apropiado, luego de haber retirado cuidadosamente las secreciones mucopurulentas que cubren la mucosa. Esta toma de muestra resulta invasora y no apropiada para el diagnóstico en población asintomática. Por este motivo, se ha evaluado la utilidad de las técnicas de amplificación del ADN para el diagnóstico de este microorganismo en muestras de orina de primer chorro, resultando ser muy sensible en muestras obtenidas de hombres. (75)

En cuanto a los tipos de muestras, se podrían clasificar en muestras invasivas o no invasivas. Entre las primeras se encuentra el raspado o cepillado uretral y endocervical, también se pueden incluir en este grupo las muestras conjuntivales, nasofaríngeas y del tracto respiratorio inferior. Las muestras no invasivas comprenden la primera porción de la orina, torundas vaginales o rectales. La principal ventaja de las muestras no invasivas es que pueden ser auto-recogidas por el propio paciente, punto importante en los programas de cribado. La carga bacteriana de estas muestras no invasivas es menor que en las invasivas pero dada la elevada sensibilidad de las técnicas moleculares, permiten un diagnóstico adecuado. (76)

En general, en el caso de los hombres se prefiere la primera porción de la orina, mientras que en las mujeres se ha comprobado que las muestras vaginales tienen una mayor carga bacteriana que la orina. En las muestras invasivas, los hisopos adecuados para la toma de muestras serán de Dacron con vástago de aluminio o plástico. No se deben emplear hisopos de alginato cálcico o con vástago de madera, pues pueden inhibir tanto el crecimiento en cultivo celular como las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (TAAN). Con la excepción de la técnica fluorescencia directa, las condiciones de transporte son críticas para garantizar que la bacteria sea preservada hasta llegar al laboratorio. Por eso es importante que las unidades o consultas de infecciones de transmisión sexual, dispongan de un medio de transporte adecuado en el que inocular las muestras. (76)

El epitelio columnar del endocervix es el sitio blanco más frecuentemente afectado por la infección por *Chlamydia trachomatis* en la mujer. Las muestras son obtenidas con tómulas, luego de visualizar el cuello uterino con ayuda de un espéculo sin lubricantes. Luego de limpiar el ectocervix y orificio cervical, se introduce una tórula de algodón en el canal endocervical, la distancia suficiente como para que no se observe la punta de algodón. Se efectúa una rotación por algunos segundos y se retira cuidando de no contaminar con secreción vaginal. La infección uretral en la mujer se observa solamente en 30 a 40% de los casos en que se comprueba infección cervical, por lo que no se recomienda efectuar el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* en muestras de orina de primer chorro. Las muestras para cultivo y PCR son inoculadas en buffer sacarosa fosfato. (75)

Para el diagnóstico mediante IFD, la muestra es rodada sobre un portaobjeto limpio, mientras que para ensayo inmunoenzimático (EIA) y técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos, se inocula el medio de transporte diseñado por el fabricante. Las muestras para cultivo celular son transportadas de inmediato en hielo y sembradas, o congeladas a -70° C. Las láminas para IFD y medios de transporte para EIA y técnicas de amplificación de los ácidos nucleicos deben ser almacenadas según las recomendaciones del kit. (75)

En el hombre, la infección por *Chlamydia trachomatis* afecta las células columnares que cubren la uretra anterior. La muestra exige introducir una tórula fina, no menos de 2 cm, en el canal uretral. Posteriormente se efectúa una ligera rotación, se deja absorber algunos segundos y se retira. Las muestras son transportadas y conservadas como las muestras endocervicales. Las muestras de orina de primer chorro, 10 a 20 ml, deben ser transportadas en hielo y luego refrigeradas, sin congelar. (75)

Por otro lado, las muestras conjuntivales en el recién nacido son obtenidas raspando la mucosa conjuntival inferior con una torula de uso uretral, y en el adulto raspando la conjuntiva inferior y la conjuntiva superior luego de la eversión del párpado. Antes de tomar las muestras se deben retirar las secreciones oculares. Las muestras son transportadas y conservadas como las muestras genitales. (75)

En el caso de las muestras respiratorias, *Chlamydia trachomatis* es detectada fácilmente en las muestras de torulado nasofaríngeo o aspirado nasofaríngeo en casos de neumonía en lactantes. La mayor dificultad del procesamiento de muestras del tracto respiratorio superior es distinguir una infección de una colonización faríngea asintomática. Las muestras de aspirado nasofaríngeo deben ser depositadas en medio de transporte y llevadas en hielo al laboratorio. En el laboratorio serán centrifugadas para IFD, EIA o PCR. El diagnóstico serológico mediante IFI es el Gold standard para el diagnóstico de neumonía en el lactante, pero está disponible sólo en laboratorios especializados. (75)

La toma de muestra endocervical para diagnóstico de EIP tiene la misma limitación que la muestra del tracto respiratorio superior y los resultados deben ser interpretados en conjunto con los antecedentes clínicos y de riesgo de la paciente ya que no siempre es posible obtener una muestra laparoscópica tubaria o una biopsia endometrial con cánula protegida, muestras de elección para el diagnóstico de salpingitis y endometritis respectivamente. (75)

Habitualmente, los medios de transporte son tampón fosfato rico en sacarosa con anfotericina B, gentamicina, estreptomina, anfotericina, vancomicina y colistin entre otros. Una vez inoculada la muestra en el medio de transporte, esta puede mantenerse refrigerada a 4°C, no más de 24 horas, especialmente si la muestra se utilizara para cultivo en línea celular. Para períodos de conservación superiores, hay que mantener a -70°C. (76)

7.8 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Las pruebas microbiológicas necesarias para la precisa detección e identificación de estas bacterias en muestras humanas han sido tradicionalmente difíciles, tediosas y requieren personal altamente preparado, lo que conlleva a retrasos en el diagnóstico y, consecuentemente, a la diseminación de nuevas infecciones. Sin embargo, luego de alarmantes brotes a nivel mundial se han desarrollado diversas metodologías que apoyan y permiten un diagnóstico rápido y certero. (38) Algunas de ellas se mencionan a continuación:

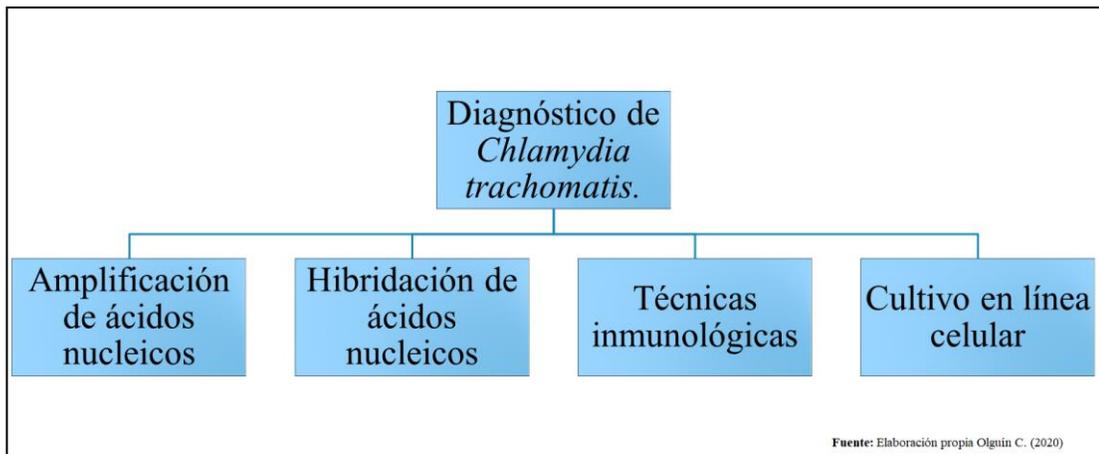


Figura N° 7: Métodos diagnósticos de *Chlamydia trachomatis*.

De las técnicas diagnósticas mencionadas, inicialmente se utilizaron las metodologías de aislamiento en cultivo en líneas celulares, lo que conllevó a procedimientos difíciles de estandarizar, técnicamente exigentes y relativamente insensibles. Por lo tanto, los fabricantes de pruebas de diagnóstico desarrollaron pruebas que no requerían del cultivo en líneas celulares. (77)

Las primeras pruebas sin cultivo para *Chlamydia trachomatis* incluyeron inmunoensayos enzimáticos (EIA), que detectaban antígenos específicos del microorganismo, y pruebas de anticuerpos fluorescentes directos (DFA) para *Chlamydia trachomatis*, que usan anticuerpos monoclonales conjugados con fluoresceína y que se unen específicamente al antígeno bacteriano en frotis. Estas pruebas de detección de antígeno fueron seguidas por pruebas de hibridación de ácido nucleico, que detectan secuencias específicas de ácido desoxirribonucleico (ADN) o ácido ribonucleico (ARN), de estos microorganismos. (77)

Posterior a estos avances con la disponibilidad de estas pruebas que no requerían del cultivo de *Chlamydia trachomatis* en líneas celulares, se iniciaron programas de detección para *Chlamydia trachomatis*. El principal inconveniente de estas pruebas fue que no pudo detectar una proporción sustancial de las infecciones. Esto cambió con la introducción de TAAN que amplifican y detectan secuencias específicas de ADN o ARN. Estas pruebas son de aproximadamente 20% -35% más sensibles que las otras pruebas. (77)

Las pruebas serológicas para detectar anticuerpos contra la *Chlamydia trachomatis* no son útiles para diagnosticar infecciones epiteliales locales del tracto genital inferior, ya que los anticuerpos son detectables con un retraso de varias semanas, los títulos de anticuerpos pueden ser bajos y muchas pruebas serológicas no pueden diferenciar los anticuerpos contra las diferentes especies *Chlamydia trachomatis*. Por otro lado, la serología puede ser útil en el diagnóstico de infecciones crónicas e invasivas. (78)

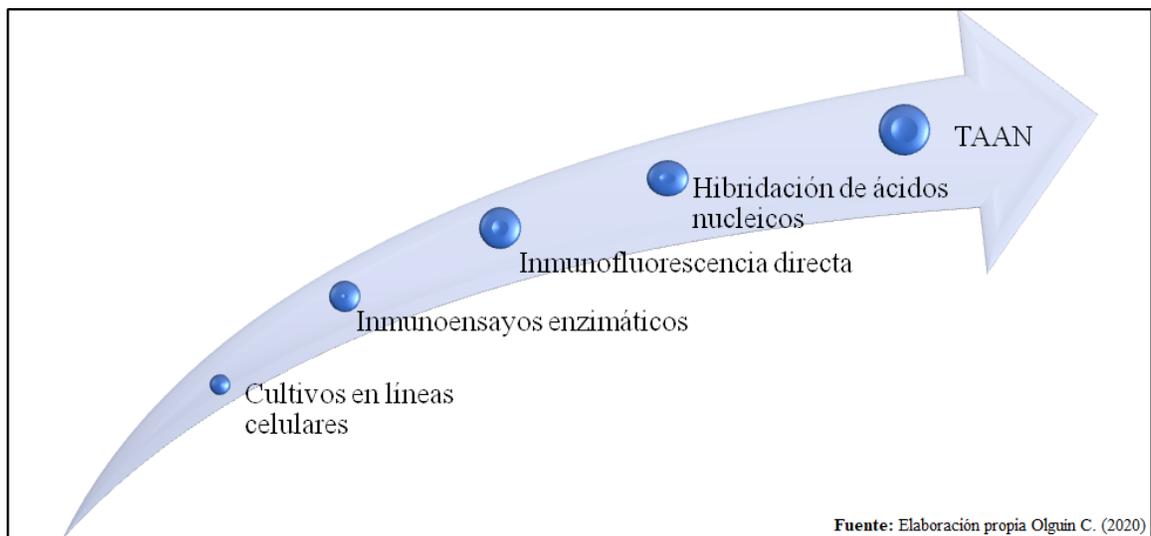


Figura N° 8: Evolución de técnicas diagnósticas para *Chlamydia trachomatis*.

7.8.1 TÉCNICAS DE AMPLIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS (TAAN)

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos más usadas actualmente es la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una reacción enzimática in vitro que amplifica millones de veces una secuencia específica de ADN durante varios ciclos repetidos en los que la secuencia blanco es copiada finalmente. Para ello, la reacción aprovecha la actividad de la enzima ADN polimerasa que tiene la capacidad de sintetizar naturalmente el ADN en las células. En la reacción, se utiliza como sustrato ADN genómico, entonces típicamente se hablaba de una PCR, pero si usamos ADN complementario (ADNc) proveniente del ARNm (ácido ribonucleico mensajero) se le conoce como RT-PCR (Reverse Transcription-PCR). Esta conversión se logra mediante una reacción conocida como transcripción reversa y controlada por la enzima transcriptasa reversa, capaz de convertir el ARNm en una molécula de ADNc. (39)

Los elementos importantes en la reacción son el templado o molde (ADN o ADNc), la enzima, los oligonucleótidos o primers, los desoxirribonucleótidos trifosfatados (dNTPs: adenina, timina, citosina y guanina), el ión magnesio (Mg^{+}), una solución amortiguadora o buffer y H_2O . Todos estos elementos interactúan en tres etapas principales de las que se compone la PCR: desnaturalización, hibridación y extensión. (40)

Los equipos en donde se realiza la reacción son llamados termocicladores, los cuales están diseñados para establecer un sistema homogéneo en donde las condiciones de temperatura y tiempo necesarios no se modifiquen en cada uno de los ciclos. Al final de la reacción, para corroborar si se amplificó la secuencia blanco de interés, los productos de la PCR o también llamados ampliaciones son analizados en geles de agarosa para confirmar si la reacción fue exitosa. (41)

Actualmente el ministerio de salud a través de su documento de “*Normas de profilaxis, diagnóstico y tratamiento de las infecciones de transmisión sexual*”, indica que debe utilizarse esta técnica diagnóstica para la detección de *Chlamydia trachomatis*, en adultos y adolescentes en los que se describa una uretritis y cervicitis no gonocócica, debido a que en estos casos *Chlamydia trachomatis* es el principal agente etiológico sospechoso. (79)

La técnica de PCR en estos pacientes permite identificar el material genético del microorganismo a partir de diferentes muestras ya sea orina, muestras vaginales, cervicales y uretrales. Ante la sospecha de un caso de infección por *Chlamydia trachomatis*, el paciente deberá presentar secreción uretral o cervical con cultivo de Thayer Martin negativo, finalmente la confirmación del caso será mediante la técnica de amplificación de ácidos nucleicos. (79)

Esta metodología también es recomendada para el apoyo al diagnóstico de infección por *Chlamydia trachomatis* en niñas y niños, debido a que como se mencionó anteriormente estos pueden presentar cuadros clínicos debido a la transmisión vertical, ya sea conjuntivitis adquirida por contacto de mucosas con secreciones corporales infectadas, además se debe utilizar para el estudio de neumonía en recién nacidos. Respecto a los distintos cuadros clínicos que se pueden presentar en estos grupos las muestras solicitadas para PCR en el caso de conjuntivitis será una muestra ocular, en el caso de neumonía se solicita aspirado nasofaríngeo o secreción traqueal, para la confirmación de vulvovaginitis o uretritis se solicita orina de primer chorro. (79)

Por otro lado, frente a la sospecha del desarrollo de un cuadro de infección por *Chlamydia trachomatis*, a través de este documento también se establece que se debe utilizar esta técnica para el estudio de linfogranuloma venéreo en adultos y adolescentes, para realizar la técnica de amplificación de ácidos nucleicos se pueden tomar muestras de lesiones ulceradas genitales, anales, ganglionares inguinales con una tórula o aspirar contenido de ganglio inguinal. Para confirmar el caso por linfogranuloma venéreo se debe tener una clínica

compatible con PCR de *Chlamydia trachomatis* positivo. En el caso de no poder realizar el diagnóstico de laboratorio y se sospecha de este cuadro clínico se debe hacer manejo sintromico y dar tratamiento al caso índice y sus contactos sexuales. (79)

Debido a su gran sensibilidad, las técnicas de amplificación han sido evaluadas para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* hasta la actualidad. Mientras la especificidad de las técnicas es cercana al 100%, existen diferencias en la sensibilidad respecto a las técnicas diagnósticas que se utilizaban inicialmente. (75)

7.8.2 HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

Otra metodología es la hibridación de los ácidos nucleicos, la cual es la construcción artificial de ácidos nucleicos bicatenarios a partir de dos monocatenarios usando la complementariedad de bases. Se trata, por tanto, de un proceso de unión de dos cadenas complementarias de ADN, ARN o de ADN y ARN para formar una molécula de ácido nucleico de doble cadena. Es un método versátil que permite estudiar el grado de relación genética entre dos ácidos nucleicos. También permite la detección de fragmentos de DNA que son complementarios a fragmentos monocatenarios de secuencia conocida (sondas). (42)

A partir de este fundamento se desarrollan diversas técnicas como la técnica de southern blot donde el ADN es digerido con una enzima de restricción y los fragmentos son separados por tamaños mediante una electroforesis en un gel. Se realiza tinción con bromuro de etidio para comprobar la calidad de la electroforesis y del ADN. A continuación, los fragmentos de ADN de doble cadena son parcialmente hidrolizados con un ácido débil y desnaturalizados con NaOH para permitir la transferencia. Posteriormente, el ADN es transferido a un filtro de nitrocelulosa, con lo que en el filtro queda representada una réplica de la disposición de los fragmentos de ADN presentes en el gel. A continuación, el filtro se incuba durante un tiempo con la sonda marcada (radiactivamente o con un fluorocromo); durante la incubación la sonda se va hibridando a las moléculas de ADN de cadena sencilla de secuencia complementaria (o muy parecida). La sonda unida al fragmento de ADN complementario se puede visualizar en el filtro de una forma sencilla mediante una exposición a una película de rayos X para el caso de sondas radiactivas o con una película sensible a la luz, para el caso de sondas con fluorocromo. (43)

Es esencialmente idéntica al método de Southern blot, salvo que las moléculas de ácido nucleico de la muestra, en este caso de ARN (total, mensajero, vírico, etc.), se separan por electroforesis en condiciones desnaturalizantes (en presencia de formaldehído, que forma parte de la composición del gel). Esto es debido a que, a pesar de ser una molécula de una sola cadena, se forman complejas estructuras secundarias que dificultan la migración. Al

igual que en el Southern blot, el ARN se transfiere a la membrana de filtro y se hibridan con sondas de ADN marcada. Durante la electroforesis se pueden observar grandes cantidades de ARNm correspondiente a ribosomal (unidades 28S y 18S). Tanto la técnica de Southern como de Northern blot se usan poco hoy en día al haber sido sustituidas por técnicas derivadas de la PCR. (44)

Los ensayos de hibridación para diagnóstico han quedado obsoletos. El único ensayo de hibridación que existe en el mercado para el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* es PACE II, Gen-Probe, EUA, que puede ser empleado para el diagnóstico exclusivo de esta bacteria o en forma simultánea con *N. gonorrhoeae*. Kluytman et al evaluaron el procedimiento en una población de 260 hombres y 482 mujeres con prevalencias de infección de 13,2 y 8,6% respectivamente. En comparación con el cultivo celular, PACE II tuvo 95,2 y 77,2% de sensibilidad en muestras cervicales y uretrales respectivamente y especificidades > 98%. (75)

7.8.3 TÉCNICAS DE DETECCIÓN ANTIGÉNICA

Respecto a este conjunto de técnicas se fundamentan en aquellas técnicas cuyo principio se basa en la interacción antígeno (Ag) anticuerpo (Ac). Si bien la interacción primaria Ag-Ac no siempre es visible, existen distintos métodos que hacen posible visualizarla. La estrategia consiste en marcar el Ac o el Ag mediante la unión covalente (conjugación) de determinadas moléculas, tales como fluorocromos, isótopos radiactivos y enzimas, o sencillamente partículas inertes como el látex, para poder hacer visible esa primera interacción. Dependiendo del marcador que se emplee, la técnica inmunológica recibe un determinado nombre y utiliza un sistema de detección diferente. Estas técnicas son muy sensibles, por lo que son capaces de detectar bajas concentraciones de antígenos o anticuerpos. (45)

En 1980, el desarrollo de técnicas inmunológicas tuvo un alto impacto en el diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*, incluso mayor que el que se ha producido en los últimos años con el desarrollo de las técnicas moleculares. Esto se explica, porque un mayor número de laboratorios pudo acceder al diagnóstico de este microorganismo. La IFD, gracias a la aparición de los anticuerpos monoclonales, fue el primer tipo de procedimiento en desarrollarse. Existen actualmente en el comercio un gran número de marcas de anticuerpos mono-clonales disponibles para el diagnóstico de este patógeno las cuales reconocen la proteína principal de la membrana externa de *Chlamydia trachomatis* que constituye más del 50% de las proteínas de la membrana. (75)

El procedimiento de IFD comienza con la fijación de células epiteliales de la conjuntiva, la uretra o el cuello uterino a un portaobjetos de microscopio. Los anticuerpos monoclonales específicos para la proteína de la membrana externa principal de *Chlamydia trachomatis*, conjugada con isotiocianato de fluoresceína (FITC), se unen a las inclusiones intracelulares si el organismo está presente. El procedimiento IFD se considera una prueba rápida o de punto de atención debido a su capacidad para realizarse dentro de los 30 minutos, aunque se requiere experiencia en lectura de microscopía de fluorescencia y el método exhibe baja sensibilidad en comparación con TAAN. (80)

La IFD permite evaluar la calidad de la muestra. Una muestra inadecuada no contiene células epiteliales columnares, sino que un exceso de mucus, o un predominio de células escamosas vaginales. La sensibilidad de la IFD, en comparación con el cultivo celular, varía entre 80 y 90%, mientras que la especificidad fluctúa entre 94 y 99%³⁰. Los valores más altos de sensibilidad son observados en poblaciones con alta prevalencia de infección y en población sintomática. En comparación, en poblaciones con baja prevalencia de infección y en personas asintomáticas, se ha demostrado un escaso número de corpúsculos elementales por lámina, inferior a 10, lo que reduciría la sensibilidad de la técnica. (80)

Finalmente, la IFD tiene algunas dificultades inherentes a la técnica, o relacionadas con la calidad de la muestra y con su observación. Alrededor del 10% de todas las láminas obtenidas tanto de hombres como de mujeres, contiene artefactos que corresponden a partículas irregulares fluorescentes amarillas o blancas, debido a la unión inespecífica de los anticuerpos; además de ~ 18% de láminas de mujeres que contienen demasiado mucus, imposibilitando la observación de algunas áreas de la preparación. (75)

Otra de las técnicas de detección de antígenos son los enzimoimmunoanálisis (EIA), la mayoría de los EIA emplea un anticuerpo policlonal anti LPS de *Chlamydia trachomatis*, por ser la molécula más abundante en su pared. En los EIA directos, el anticuerpo se une directamente a los corpúsculos elementales de la *Chlamydia trachomatis*. En los EIA indirectos, un anticuerpo anti LPS preparado en ratón se une a la *Chlamydia trachomatis*. Con posterioridad se usa un anticuerpo anti-inmunoglobulina de ratón. En cualquiera de los casos, un anticuerpo conjugado a una enzima cambia el color de un sustrato de incoloro a coloreado, fenómeno que es medido en un espectrofotómetro. Los primeros EIA se caracterizaron por su baja especificidad, con reacciones cruzadas con algunas bacterias Gram negativo. A partir de los años 90, los EIA incluyen un reactivo bloqueador para confirmar los resultados positivos. Este reactivo consiste en un anticuerpo monoclonal anti LPS que bloquea el epítipo al cual se une el anticuerpo policlonal. La reducción de la absorbancia de la muestra en un cierto valor confirma su positividad. (75)

Los EIA con formato de cassette son EIA en fase sólida muy simples de efectuar y que requieren 20 a 30 min para su lectura. Han sido diseñados para ser usados por el médico en su consultorio con el objeto de iniciar un tratamiento antimicrobiano de inmediato. Revisiones sistemáticas han determinado que el rendimiento de los test rápidos se traduce, en promedio, en una probabilidad del 52% de indicar erróneamente la ausencia de infección y una probabilidad del 2% de señalar erróneamente la presencia de esta afección. La mayoría de las RDT son pruebas cromatográficas inmunes basadas en tecnología de flujo lateral y detectan el antígeno de clamidia LPS en hisopos u orina genitales. (80)

Debido a que poseen una baja sensibilidad y una alta especificidad es que las pruebas rápidas no constituyen procedimientos de laboratorio, sino que son técnicas recomendadas para emplear en la consulta de atención primaria, como apoyo al diagnóstico clínico y son buenas herramientas para tamizaje a nivel de consulta primaria. Proporcionan además resultados inmediatos lo que a su vez permite tratamiento inmediato, disminuyendo la pérdida de pacientes. A su vez esto mejora el diagnóstico clínico disminuyendo el porcentaje de subtratamientos de *Chlamydia trachomatis*. (80)

7.8.4 CULTIVO EN LÍNEA CELULAR

Este método diagnóstico, en conjunto con la amplificación de ácidos nucleicos son las técnicas más ampliamente utilizadas para la confirmación de *Chlamydia trachomatis*, a través de los años. El proceso se describe mediante el cual las células ya sean procariotas o eucariotas pueden cultivarse en condiciones controladas, y en las cuales microorganismos intracelulares como *Chlamydia trachomatis* se desarrollarán. Para esto son utilizadas líneas celulares las cuales provienen de un cultivo primario que ha sido sometido a procesos que le conferirán capacidad ilimitada de multiplicación o tienen origen tumoral. Están formadas por células que se diferencian genética y morfológicamente de las células de las cuales se originaron. (46)

Una línea celular queda establecida cuando se demuestra que puede replicarse indefinidamente, estas poseen propiedades conferidas por diferencias en la dotación cromosómica (aneuploidía) mutación o transformación genética que deben persistir entre sucesivos pasajes o subcultivos. Las líneas o cepas celulares con alguna característica puntual pueden ser seleccionadas específicamente mediante clonación. (47)

Hasta finales del siglo XX, el cultivo celular de *Chlamydia trachomatis* ha sido el estándar de referencia frente al cual se han comparado todas las demás pruebas. Pero debido principalmente a la aparición de nuevos métodos diagnósticos más fáciles de implementar,

rápidos y sensibles, el cultivo celular ha quedado relegado a laboratorios de referencia, con utilidad en estudios epidemiológicos y/o forenses. Las líneas celulares óptimas para el crecimiento de *Chlamydia trachomatis* son McCoy. Para la ejecución del cultivo se emplean monocapas de células McCoy en microplacas. (19)

Las células McCoy crecen en medios comerciales suplementado con L-glutamina, gentamicina, vancomicina. Se deben sembrar 0,1 ml en cada pocillo de una suspensión 5×10^5 /ml de células, y las placas se colocan en estufa con atmósfera de CO₂ al 5%, a 37°C durante 16 hs. Luego de inocular las muestras las placas se centrifugan a 1800 x g 60 min, y se incuban en estufa de CO₂ al 5% por 2 horas. Luego se debe remover el inóculo y se agregar a cada pozo el mismo medio de crecimiento más 1 ug/ml de cicloheximida. Las placas luego deben ser incubadas por 72 horas en estufa bajo las mismas condiciones de CO₂ y temperatura. La prueba se revela por coloración de Iodo o IFI con sueros policlonales anti-*Chlamydia trachomatis* de ratón, preparados en el laboratorio. (76)

Presenta ventajas inherentes, sólo se detectan las bacterias vivas, lo que supone una ventaja con las técnicas moleculares basadas en ADN, pero es también un inconveniente, pues al ser una bacteria muy lábil, las condiciones de transporte deben de ser excelentes, garantizando que no se pierda la cadena de frío. Es por este motivo que, aunque es una técnica muy específica, la sensibilidad puede no ser muy buena (75-80%) y dar lugar a falsos negativos, por lo que actualmente se desaconseja su uso con fines diagnósticos. Para garantizar una mejor tasa de recuperación de organismos vivos es indispensable usar un medio de transporte adecuado. (40)

Las desventajas adicionales están representadas por el tiempo de respuesta extendido, la intensidad laboral y las dificultades en la estandarización. Por lo tanto, el cultivo celular rara vez se usa hoy en día en laboratorios de diagnóstico, pero la metodología aún se necesita, al menos en algunos laboratorios de referencia, para monitorear la susceptibilidad a los

antibióticos y los cambios de virulencia, o cuando se requiere una prueba con la especificidad más alta como en caso de sospecha agresión sexual. (76)

Tabla N°4: Especificaciones de técnicas diagnósticas.

Técnica	Información obtenida	Duración
Amplificación de ácidos nucleicos	Existencia de un gen o ARNm, puede ser combinado con gel de electroforesis.	2-4 horas.
Hibridación de ácidos nucleicos	Presencia de un gen o fragmento de transcripción en un tejido, células aisladas o cariotipos.	5 horas.
Técnicas de detección de antígenos	Presencia de antígenos específicos de <i>Chlamydia trachomatis</i> .	90 minutos.
Cultivo de línea celular	Desarrollo intracelular de <i>Chlamydia trachomatis</i> .	48-72 horas.

Fuente: Elaboración propia Olguín C. (2020)

8.CONCLUSIONES

En respuesta a los objetivos planteados en esta revisión, a través de los años se han desarrollado importantes avances respecto al mejoramiento de las técnicas diagnósticas y la clínica presentada por *Chlamydia trachomatis*. Dentro de la amplia variedad de técnicas para la detección de este microorganismo actualmente el más utilizado es la Reacción en cadena de la Polimerasa, debido a que es la técnica que posee el mayor porcentaje de sensibilidad y especificidad. Además, actualmente se recomienda por el Ministerio de Salud (MINSAL) y CDC para realizar la confirmación del diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*.

Si bien en la población chilena no se conoce con exactitud la prevalencia de *Chlamydia trachomatis*, el Ministerio de Salud está trabajando para implementar un programa de cribado a nivel nacional, que incluya la auto-toma de muestra y detección mediante la amplificación de ácidos nucleicos, para mujeres sexualmente activas bajo 25 años, mujeres embarazadas y cualquier portador de ITS.

Finalmente se determinó que un diagnóstico tardío conlleva a cuadros clínicos severos principalmente en mujeres, pudiendo ocasionar en sus cuadros más graves infertilidad y embarazo ectópico. Además, en los últimos años se ha evidenciado la estrecha relación entre la infección persistente de *Chlamydia trachomatis* con el cáncer de ovario. Sin embargo, aún faltan estudios que permitan dilucidar el mecanismo específico por el cual se llega a desarrollar el cáncer.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ministerio de Salud de Chile (2019) Infecciones de transmisión sexual. (on line) Disponible en: <https://diprece.minsal.cl/temas-de-salud/temas-de-salud/its/> [Consultado: 29 de julio de 2019]
2. Cáceres, K, 2019. Informe: Situación epidemiológica de las infecciones de transmisión sexual en Chile 2017. Revista Chilena Infectología 2019; 36 (2): 221-233
3. Rowley J , Vander S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad L, et al. (2019). Global and Regional Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2016. WHO Bulletin. June 2019.(on line) https://www.who.int/bulletin/online_first/BLT.18.228486.pdf [Consultado: 29 de julio de 2019]
4. Vergara A, Soriano H, Pommer R, Delpiano L, Salas F, Cespedes P y Schulin C 2018. Documento: *Chlamydia trachomatis*: fundamentos de la importancia del cribado en el sistema publico de salud. Revista Chilena Infectología 2018; 35 (5): 498-500
5. Eurofins Laboratorio LGS-MEGALAB, 2018. Consecuencias de las infecciones de Transmisión sexual. <https://www.lgs-analisis.es/consecuencias-infecciones-transmision-sexual-no-diagnosticada/> [Consultado el 12 de septiembre del 2019]
6. Mamat, U, Baumann M., Schmidt G, Brade, H. (1993). The genus-specific lipopolysaccharide epitope of Chlamydia is assembled in *C. psittaci* and *C. trachomatis* by glycosyltransferases of low homology. Molecular Microbiology Vol 10, 935-941
7. Martinez M, Diomedi A, Kogan R, Borie C. (2001) Taxonomy and clinical importance of the new families of the order Chlamydiales. Rev. chil. infectol. v.18 n.3 (on line) https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000300007 [Consultado el 29 de julio del 2019]

8. Gurumurthy R. (2010). Global assessment of host cell functions involved in the intracellular survival and replication of Chlamydia using RNA interference in human cells. (on line) Max Planck Institute for Infection Biology . https://www.researchgate.net/publication/46770842_Global_assessment_of_host_cell_functions_involved_in_the_intracellular_survival_and_replication_of_Chlamydia_using_RNA_interference_in_human_cells [Consultado el 29 de julio del 2019]
9. De la fuente M, (2016) *Chlamydia* y *Chlamydophila*.. (on line) <https://docplayer.es/17827934-La-familia-chlamydiaceae-contiene-dos-generos-chlamydia-y-chlamydophila-las-especies-de-estos-generos-de-importancia-clinica-son.html> [Consultado el 19 de junio del 2019]
10. Jouglet M, Buchs C, Reix P (2019), Neonatal low respiratory tract chlamydia trachomatis infection: Diagnostic and treatment management <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6562265/> [Consultado el 12 de septiembre del 2019]
11. Kenneth R, Ray C. (2017). Microbiología médica, Sexta edición 487p.;2017
12. Jutinico Shubach, Adriana & Mantilla, Alejandra & Sanchez Mora, Ruth. (2015). Regulación de la familia de proteínas BCL-2 en células infectadas con Chlamydia trachomatis. Nova. 13. 83. 10.22490/24629448.1718.
13. Ramjit, Ruan & Caliendo, Angela. (2011). Chlamydia trachomatis. 10.1007/978-3-642-19677-5_34.
14. Cherilyn E , Mirrashidi K, Engel A, (2016) Chlamydia biología celular y patogénesis Nat Rev Microbiol. 2016 Jun; 14(6): 385–400
15. Shubach J, Gonzalez D, Sánchez D, (2017). Asociación de HSP60 de Chlamydia trachomatis y desarrollo de cáncer de ovario. (on line)

https://www.researchgate.net/publication/320821504_Asociacion_de_HSP60_de_Chlamydia_trachomatis_y_desarrollo_de_cancer_de_ovario [Consultado el 19 de junio del 2019]

16. Lieberman D, Kahane S, Lieberman D, Friedman M G. Pneumonia with serological evidence of acute infection with the *Chlamydia*-like microorganism "Z". *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 578-82.
17. Jutinico Shubach, A & Gonzalez Devia, Sanchez Mora R. (2017). Asociación de HSP60 de *Chlamydia trachomatis*. *Nova*. 15. 57. 10.22490/24629448.2079.
18. Nguyen B , Cunningham D , Liang X , Chen X , Toone E , Raetz C (2011) . Se requiere lipooligosacárido para la generación de cuerpos infecciosos elementales de *Chlamydia trachomatis* (on line) . <https://www.pnas.org/content/108/25/10284> [Consultado el 19 de junio del 2019]
19. Montaña I (2014) Seroprevalencia de IgM e IgG anti-*Chlamydia trachomatis* y factores asociados. Universidad Simón Bolívar. (on line) Disponible en: <http://repositorio.uasb.edu.bo:8080/bitstream/54000/730/1/2014-033T-SA01.pdf> [Consultado el 19 de junio del 2019]
20. Büttner D. (2012) Exportación de proteínas de acuerdo con el cronograma: arquitectura, ensamblaje y regulación de los sistemas de secreción de tipo III de bacterias patógenas de plantas y animales. *Microbiology Mol Biol Rev*. 2012 Jun; 76(2): 262–310.
21. Guifeng S, Sukumar P , Sarcon A, Soyoun K , Sugawara E, Nikaido H , Cocco M , Peterson E , De la Maza L . Análisis estructural y funcional de la proteína de membrana externa principal de *Chlamydia trachomatis*. (on line). <https://jb.asm.org/content/189/17/6222> [Consultado el: 14 de agosto del 2019]

22. Centro de prensa, Organización Mundial de la Salud (2019) Datos y cifras de Tracoma (on line) <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/trachoma> [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
23. Guía de referencia rápida, Gobierno Federal de México. (2010) Diagnóstico y tratamiento de Tracoma (on line) http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/402_IMSS_10_Tracoma/GRR_IMSS_402_10.pdf [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
24. Llorente Molina D, Mauriz Guerra M, Cedeño Llorente S. (2013) Importancia clínica de las Chlamydias. Rev Cubana Med Gen Integr vol.29 no.2 Ciudad de La Habana. (On line) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252013000200012 [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
25. Balkan S, Barel P, Bottineai M, Boulle P, Carreno C. (2017) Clinical guidelines Capitulo 5: Patología oftalmológica (on line) <https://medicalguidelines.msf.org/viewport/CG/latest/tracoma-23442873.html> [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
26. Adán Merino L, Gómez Senent S, Escobedo Franco D *et al.* (2010) Linfogramuloma venéreo: una entidad emergente. Vol33. Núm 5 (on line) <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-linfogramuloma-venereo-una-entidad-emergente-S0210570510000063> [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
27. Morris S.(Enero 2016) Linfogramuloma venéreo, Manual Merck, Universidad de California San Diego. (on line) <https://www.merckmanuals.com/es-us/hogar/infecciones/enfermedades-de-transmisi%C3%B3n-sexual-ets/linfogramuloma-ven%C3%A9reo> [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
28. Workowski KA *et al.*(Agosto 2015) Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. MMWR Recomm Rep. 2015 Jun 5 ;64(RR-03):1–137. Erratum in: MMWR Recomm Rep. ;64(33):924.

29. Pérez M. *et al* Programa formativo de la especialidad de enfermería obstétrico ginecológica. Volumen 4. (on line) http://www.ingesa.mscls.gov.es/estadEstudios/documPublica/internet/pdf/Manual_EI_R_Vol_4.pdf [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
30. Fortino M, *et al*. (2015) Enfermedades de transmisión sexual (ETS) en adultos, actualización de las pautas de tratamiento. Sociedad argentina de dermatología. (on line) <http://www.sad.org.ar/wp-content/uploads/2016/04/Enfermedades-de-Transmision-Sexual-ETS-en-adultos.-ACTUALIZACION-DE-LAS-PAUTAS-DE-TRATAMIENTO.pdf> [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
31. Tortolero Mendoza I. (Junio 2007) Chlamydia Trachomatis e infección genital. Enfermedad de transmisión sexual. (on line) http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102007000200007 [Consultado el: 29 de septiembre del 2019]
32. Carroll K; *et al*. Microbiología médica. Edición 27. New York, McGraw-Hill Medical, cop. 2016.
33. Geisler WM *et al*. (2015) Azithromycin versus doxycycline for urogenital Chlamydia trachomatis infection. N Engl J Med. 2015 Dec 24 ;373(26):2512–21.
34. Jouglet M (Mayo 2019) Neonatal low respiratory tract chlamydia *trachomatis* infection: Diagnostic and treatment management (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6562265/> [Consultado el 10 de enero del 2020]
35. Cluver C (Septiembre 2017) Interventions for treating genital *Chlamydia trachomatis* infection in pregnancy. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28937705> [Consultado el 10 de enero del 2020]

36. Cluver C (Septiembre 2017) Interventions for treating genital *Chlamydia trachomatis* infection in pregnancy. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28937705> [Consultado el 10 de enero del 2020]
37. Organización Panamericana Mundial de la Salud. Clamidiosis. (on line) https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=14870:sti-chlamydia&Itemid=3670&lang=es [Consultado el 10 de enero del 2020]
38. Váldez E, Juárez D (Febrero 2002) *Chlamydia trachomatis* transmisión vertical con membranas integra. Rev. chil. obstet. ginecol. v.67 n.1 Santiago 2002
39. Elwell C, Mirrashidi K, (Abril 2016) *Chlamydia* cell biology and pathogenesis. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4886739/> [Consultado 11 de enero de 2020]
40. Rodriguez M (Junio 2014) Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Chlamydia* spp. y especies relacionadas. (on line) <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-diagnostico-microbiologico-las-infecciones-por-S0213005X13000244> [Consultado 11 de enero de 2020]
41. De Dios T, Ibarra C (Agosto 2013) Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa y de la PCR en tiempo real. (on line) <https://www.medigraphic.com/pdfs/invd/ir-2013/ir132d.pdf> [Consultado 11 de enero de 2020]
42. Santana A, Domínguez C, Lemes A (Marzo 2003) Biología celular y molecular. (on line) http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-79732003000100001 [Consultado 11 de enero de 2020]

43. Andrer A (Junio 2011) Reacción en cadena de la polimerasa, (on line) https://www.academia.edu/7766518/Reaccion_en_cadena_de_la_polimerasa[Consultado 12 de enero del 2020]
44. Fernández P (Agosto 2014) Hibridación de los ácidos nucleicos. (on line) https://www.seap.es/c/document_library/get_file?uuid=dd48aeb8-9e38-4541-bcfb-d75fd6b2ee9f&groupId=10157[Consultado 12 de enero del 2020]
45. Lotus S (Mayo 2015) Natioal Human Genome Research Institute; Sothern blot (on line) <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Southern-Blot> [Consultado 12 de enero del 2020]
46. Lotus S (Mayo 2015) Natioal Human Genome Research Institute; Sothern blot (on line) <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Southern-Blot> [Consultado 12 de enero del 2020]
47. Fundadora H (Abril 2013) Métodos inmunológicos utilizados en la identificación rápida de bacterias y protozoarios. (on line) http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-30032013000100009 [Consultado 12 de enero del 2020]
48. EcuRed, Cultivo Celular (on line) https://www.ecured.cu/Cultivo_Celular [Consultado 12 de enero del 2020]
49. Introducción al cultivo celular, (on line), <http://servicios.unileon.es/formacion-pas/files/2014/02/Introducci%C3%B3n.pdf> [Consultado 12 de enero del 2020]
50. Wolf K, Fischer E, Mead D. (2001) La proteína de la membrana externa principal de Chlamydia pneumoniae es un antígeno expuesto a la superficie que provoca anticuerpos dirigidos principalmente contra los determinantes dependientes de la conformación Mayo de 2001; 69 (5): 3082-3091.

51. Ostos O, Mérida R. (2003) Chlamydia trachomatis: avances y perspectivas. (on line) <https://revistas.unicolmayor.edu.co/index.php/nova/article/view/14/27> Consultado el 20 de mayo de 2020.
52. Kumagai K, Ando S (2018) Both the N- and C- terminal regions of the Chlamydial inclusion protein D are required for interaction with the pleckstrin homology domain of the ceramide transport protein CERT. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6219635/> Consultado el 20 mayo de 2020.
53. Moreno I, Witkin S. (2010) Consecuencias inmunopatogenicas de Chlamydia trachomatis 60 kDa expresión de proteínas de choque térmico en el tracto reproductivo femenino. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3006632/> Consultado el 20 mayo de 2020.
54. Raulston J, Knight S, Wyrick P (2010) Accesibilidad a la superficie de la proteína de choque térmico de 70 Kilodalton Chlamydia trachomatis después de la reducción de enlaces de disulfuro de proteína de membrana. (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC127684/> Consultado el 20 mayo de 2020.
55. Raulston J, Knight S, Wyrick P (2010) Localización de las proteínas de choque térmico 60 y 70 de Chlamydia trachomatis durante la infección de una línea celular epitelial endometrial humana in vitro (on line) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC108198/> Consultado el 20 mayo de 2020.
56. Chang, J.-J., Leonard, KR y Zhang, Y.-X. (1997) Estudios estructurales de las proyecciones de superficie de Chlamydia Trachomatis por microscopía electrónica. Revista de Microbiología Médica, 46 (12), 1013-1018. doi: 10.1099 / 00222615-46-
57. Cisneros M, Rodríguez I, Castellanos H.(2012) Prevalencia y factores de riesgo para la infección ocular por *Chlamydia trachomatis*. Enf Inf Microbiol 2013 33 (2): 54-60

58. Centro de prensa, Organización Mundial de la Salud (2020) Datos y cifras de Tracoma (on line) <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/trachoma>
Consultado el 11 de junio de 2020
59. Government of Canada, (2020) Directrices canadienses sobre infecciones de transmisión sexual- Manejo y tratamiento de infecciones específicas- infecciones por clamidia. (on line) <https://www.canada.ca/en/public-health/services/infectious-diseases/sexual-health-sexually-transmitted-infections/canadian-guidelines/sexually-transmitted-infections/canadian-guidelines-sexually-transmitted-infections-30.html>
Consultado el 11 de junio de 2020
60. Hernández D, Díaz O. (2010) Enfermedad inflamatoria pélvica. (on line) Rev Cubana Obstet Ginecol v.36 n.4 Ciudad de la Habana oct.-dic. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2010000400015
[Consultado el 27 de Junio de 2020]
61. Center for Disease Control. Guidelines for treatment of sexually transmitted diseases. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2006;55 (RR-11):5 [Consultado el 27 de Junio de 2020]
62. Peeling R, Kimani, J (1997) Anticuerpo contra Chlamydial hsp60 predice un mayor riesgo de enfermedad inflamatoria pélvica por clamidia, The Journal of Infectious Diseases , Volumen 175, Número 5
63. Baquedano L, Puig F (2014) Enfermedad inflamatoria pélvica: un reto en el diagnóstico y tratamiento precoz. Rev. chil. obstet. ginecol. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775262014000200009&lng=es. [Consultado el 27 de Junio de 2020]
64. Laban M, Ibrahim EA.(2019) Infección por Chlamydia trachomatis en trompa de Falopio primaria y cánceres de ovario seroso de alto grado: un estudio piloto. Int J Salud

de la Mujer. 2019 22 de marzo; 11: 199-205. doi: 10.2147 / IJWH.S188938. PMID: 30962726; PMCID: PMC6434919.

65. Trabert, B., Waterboer. (2019). Anticuerpos contra Chlamydia trachomatis y riesgo de cáncer de ovario en dos poblaciones independientes. Revista del Instituto Nacional del Cáncer , 111 (2), 129–136 Disponible en: <https://doi.org/10.1093/jnci/djy084> . [Consultado el 27 de Junio de 2020]
66. González, E., Rother, M., Kerr, M. y col.(2014) La infección por clamidia depende de un eje funcional MDM2-p53. Nat Commun 5, 5201 Disponible en: <https://doi.org/10.1038/ncomms6201> . [Consultado el 27 de Junio de 2020]
67. Jonsson, S., Oda, H. (2018). Chlamydia trachomatis, Chlamydial Heat Shock Protein 60 and Anti-Chlamydial Antibodies in Women with Epithelial Ovarian Tumors. Translational oncology, 11(2), 546–551. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2018.02.008> . [Consultado el 27 de Junio de 2020]
68. Fortner, RT, Terry, KL, (2019). Infecciones de transmisión sexual y riesgo de cáncer epitelial de ovario: resultados de los estudios de salud de las enfermeras. British journal of cancer , 120 (8), 855–860. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41416-019-0422-9> [Consultado el 27 de Junio de 2020]
69. CDC, 2019 Vigilancia de Enfermedades de Transmisión sexual. (on line) Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/stats14/default.htm>. [Consultado el 1 de julio del 2020]
70. Bender N, Herrmann B, Andersen B (2011) Infection, pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy and infertility: cross-national study. Sex Transm Infect 2011; 87: 601-8.

71. Organización mundial de la Salud (2012) Clamidiosis. (on line) Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/infecciones-transmision-sexual/clamidiosis> [Consultado el 1 de julio del 2020]
72. Zamboni M, García P, Cuello M. (2016) La prevalencia actual de infección genital por *Chlamydia trachomatis* en adolescentes y mujeres jóvenes chilenas asintomáticas justifica la vigilancia periódica Rev. chil. infectol. vol.33 no.6 Santiago dic. 2016
73. Huneeus A, Soriano H, Pommer R.(2018) *Chlamydia trachomatis*: fundamentos de la importancia del cribado en el sistema público de salud. Rev Chilena Infectol 2018; 35 (5): 498-500
74. .Huneeus A, Schilling A, Fernández M. (2018) Prevalence of *Chlamydia Trachomatis*, *Neisseria Gonorrhoeae*, and *Trichomonas Vaginalis* Infection in Chilean Adolescents and Young Adults. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2018;31(4):411-415. doi:10.1016/j.jpag.2018.01.003
75. Martínez M . (2001) Diagnóstico microbiológico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. Rev. chil. infectol. (on line) 18(4): 275-284. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182001000400006&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182001000400006>
76. Meyer T. (2016). Procedimientos de diagnóstico para detectar infecciones por *Chlamydia trachomatis*. Microorganisms (on line) <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030025> [Consultado el 5 de agosto del 2020]

77. Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (2014). Recomendaciones para la detección en laboratorio de Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae - 2014. MMWR. Recomendaciones e informes: informe semanal de morbilidad y mortalidad. Recomendaciones e informes , 63 (RR-02), 1–19.
78. Rodriguez J, Espadafor B (2020) Actualización en el diagnóstico de las infecciones de transmisión sexual. Update on the Diagnosis of Sexually Transmitted Infections.(on line) Disponible en: <https://www.actasdermo.org/es-actualizacion-el-diagnostico-infecciones-transmision-articulo-resumen-S0001731020302350> [Consultado el 5 de agosto del 2020]
79. Ministerio de Salud. (2016) Normas de profilaxis, diagnóstico y tratamiento de las infecciones de transmisión sexual. (on line) Disponible en: http://www.alogiaonline.org/images/NORMA_DE_PROFILAXIS_DIAGNOSTICO_TRATAMIENTO_DE_ITS.pdf [Consultado el 5 de agosto del 2020]
80. Martínez T, M. Angélica. (2009). Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual (ITS): Parte 1. ITS no virales. Revista chilena de infectología, 26(6), 529-539. (on line) Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182009000700008> [Consultado el 5 de agosto del 2020]
81. Lavett, DK, Lansingh, VC(2013). ¿Será suficiente la estrategia SAFE para eliminar el tracoma en 2020? Enigmas y posibles soluciones. TheScientificWorldJournal , 2013 , 648106.(on line) Disponible en: <https://doi.org/10.1155/2013/648106>