



Universidad del Sureste

Escuela de Medicina

Materia:

Medicina Paliativa

Alumna:

Daniela del C. García Ramírez

Docente

Dr. Culebro Castellanos Cecilio

Lugar

Comitán de Domínguez Chiapas

Los miembros de la familia Chlamydiaceae son patógenos que infectan un amplio rango de organismos, así como una variedad de protistas como la ameba de vida libre causante de infecciones cerebrales *Acanthamoeba*. *Chlamydia trachomatis* es una bacteria intracelular obligada, considerada uno de los patógenos de transmisión sexual prevalentes en el mundo. Las infecciones urogenitales causadas por *C. trachomatis* cursan con múltiples manifestaciones clínicas incluyendo cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica que puede conducir a abortos e infertilidad; no obstante, la infección puede ser asintomática hasta en 80% de los casos

Debido a la gravedad de estas complicaciones, diversos países han tomado acciones para reducir la prevalencia de esta infección, sin embargo, el diseño de programas de control epidemiológico se ve obstaculizado porque no se dispone de técnicas que reúnan criterios de sensibilidad satisfactorios. La técnica de referencia para el diagnóstico de infecciones por *Chlamydia* sigue siendo el cultivo, la que teniendo una especificidad de 100%, carece de una buena sensibilidad

Chlamydia requiere cultivos en líneas celulares, siendo éstos de alto costo y de difícil mantenimiento en un laboratorio de rutina, por lo cual muchos laboratorios han abandonado la práctica de investigación de *Chlamydia* en muestras clínicas. El diagnóstico de infecciones por *C. trachomatis* en nuestro medio se basa fundamentalmente en las manifestaciones clínicas, estrategia que presenta muchas limitaciones en casos de una alta tasa de infecciones asintomáticas. Por tal motivo, desconocemos la estimación de la verdadera prevalencia en nuestra población.⁵

Microbiología En 1999 se realizó una nueva revisión de la familia Chlamydiaceae tomando como base los estudios genéticos de estos microorganismos. Anteriormente la familia contaba con un solo género *Chlamydia* y cuatro especies, en la actualidad la familia se divide en dos géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila*. En el grupo *Chlamydia* se dejó a *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci* y *Chlamydia pneumoniae* se reubicaron en un nuevo género: *Chlamydophila*

Las clamidias son microorganismos no móviles, patógenos del humano, en décadas pasadas se les consideraba como virus por su tamaño pequeño, pueden atravesar filtros de 0.45 μm , además de ser bacterias intracelulares obligadas. Como las bacterias Gram negativas, poseen una membrana externa y una interna, además de presentar ambos, ácidos nucleicos.^{5,6} Las clamidias detectadas en el tracto genital humano poseen en esta región un gen homólogo a los reportados en *Escherichia coli* enterohemorrágica O157 y *Clostridium*. Las clamidias son bacterias aerobias, utilizan el glutamato como fuente primaria de carbono complementada por la glucosa-2-oxoglutarato. Las clamidias necesitan ATP de la célula huésped, sin embargo en el análisis de la secuencia del genoma se observó que presentan genes que codifican ADP/ATP translocasas, ATPasa vacuolar y ATPasas flagelares, que probablemente están involucradas en la síntesis ATP. Una característica distintiva de las clamidias es la de presentar un ciclo biológico diferente a todas las bacterias, el cual está compuesto por la parte infecciosa denominado cuerpo elemental y un cuerpo reticular. El cuerpo elemental es resistente a factores ambientales adversos de forma semejante a una espora, con un diámetro de 0.2 a 0.4 μm , en el cuerpo elemental se encuentran los ácidos nucleicos ADN y ARN.^{8,10} Presenta antígenos especie-específicos que inducen la fagocitosis, no tienen actividad metabólica y no pueden replicarse fuera de las células del huésped. Su pared celular carece de peptidoglucano como el presente en las bacterias Gram negativas, sin embargo contiene D-alanina y carbohidratos además de péptidos enlazados a grupos sulfhidrilo. El lipopolisacárido (LPS) contiene el antígeno O, su estructura es similar al del LPS rugoso que se encuentra en algunas bacterias entéricas. Los cuerpos elementales se liberan de las células del huésped al final del ciclo de infección e invaden nuevas células blanco. Una vez dentro de estas células, las clamidias se transforman en cuerpos reticulares, cuyo diámetro es de 0.6 a 1.0 μm . Estos cuerpos reticulares tienen actividad metabólica y se multiplican dentro de las vacuolas formadas por endocitosis en las células del huésped. Los cuerpos reticulares carecen de ciclo de Krebs, por lo que deben tomar su trifosfato de adenosina (ATP) en forma directa de la célula huésped. Las clamidias son las únicas bacterias que tienen translocasa de ATP. El cuerpo elemental para su observación se tiñe con Giemsa de color

azul y por la tinción de Machiavello color rojo. Los cuerpos elementales de las clamidias en su membrana externa secretan proteínas extracelulares ricas en cisteína, unidas de forma cruzada a puentes disulfuro, proporcionándoles al cuerpo elemental protección y forma.¹³ Las proteínas ricas en cisteína incluyen la proteína MOP presente en la membrana externa, se expresa en la envoltura del cuerpo elemental, tiene un peso molecular de 40 kDa, constituye el 60% del total de las proteínas de la membrana externa, está codificada por el gene *omp1*, tiene función de porina, se glicosila postraducción, al parecer juega un papel en la adherencia electrostática, esta proteína contiene antígenos de superficie.¹⁴ Otra proteína que se encuentra en el espacio periplásmico con un peso molecular de 69 kDa, codificada por el gene *omp2*, proporciona a las clamidias integridad semejante a la del peptidoglucano, el cuerpo reticular no contiene esta proteína. La proteína codificada por el gene *omp3* con un peso molecular entre kDa es una proteína hidrofílica que ayuda en la adhesión a las células del huésped. Recientemente se han encontrado dos proteínas de choque térmico en la envoltura de las clamidias, la proteína 70HSP en mujeres con enfermedad pélvica asociada a *C. trachomatis*, y la proteína 69HSP. En estudios realizados sobre infertilidad y embarazos ectópicos se han detectado títulos altos de anticuerpos antiHSP60, en contraste con la proteína anti-HSP70 los cuales se han reportado con inmunidad protectora. Por microscopia electrónica, se ha observado en la membrana externa de las clamidias unas proyecciones hemisféricas, semejantes a cilios especializados de superficie, al parecer al cuerpo elemental le sirven para adherirse a las células del huésped.¹⁸ Las clamidias poseen antígenos específicos, se pueden detectar anticuerpos contra estos antígenos con la técnica de fijación de complemento o por inmunofluorescencia. Los antígenos específicos de especie son proteínas de membrana externa.

Otras manifestaciones clínicas son la endometritis, enfermedad pélvica inflamatoria o abscesos en las glándulas de Bartholin, que pueden dar Estrella Cervantes G 20 www.medigraphic.com lugar a oclusiones tubáricas y esterilidad. Aunque el sitio inicial de la infección es el cérvix, la uretra y el recto también pueden verse afectados.^{5,6} Las complicaciones debido a infecciones por *C. trachomatis* son: infección vaginal,

endometritis. La infección en el hombre por esta bacteria es la uretritis no gonocócica, aunque la uretritis generalmente resulta con descarga mucoide, se reconoce un espectro que va desde la ausencia de la descarga a una descarga purulenta. Las infecciones por *C. trachomatis* en hombres heterosexuales generalmente son uretrales y en más del 50% son asintomáticos. En el hombre también pueden presentarse complicaciones como epididimitis o infección en los ductos espermáticos de los testículos. El linfogranuloma venéreo LGV es una enfermedad sistémica producida por *C. trachomatis* por los serotipos Li, L2, L3 la infección se inicia como una pápula o vesícula en genitales, después se transforma en úlcera indolora que puede curar sola. La infección puede diseminarse por vía linfática de tal forma que desde el inicio se produce una adenitis inguinal que se reblandece y forma un absceso que posteriormente se vuelve una fístula y se abre hacia el exterior como una llaga, a este proceso le sigue una fase de esclerosis con formación de estenosis en el recto, uretra o vagina.^{4,5,26} La infección en niños por *C. trachomatis*, es la conjuntivitis neonatal y una de las causas más comunes de neumonía, entre los 5 y 14 días de nacido se puede presentar una conjuntivitis purulenta. En algunos casos esta conjuntivitis puede volverse crónica y producir daño irreversible en la córnea, también se puede presentar después de la conjuntivitis una neumonía que se caracteriza por tos persistente y polipnea que a veces es paroxística. Además *C. trachomatis* puede producir en el recién nacido otros síndromes como rinitis, rinofaringitis, otitis y vulvitis.^{4,5} El tracoma es una infección importante causada por los serotipos: A, B, C, de *C. trachomatis*, es una conjuntivitis crónica con una marcada reacción folicular y una hipertrofia papilar de la conjuntiva, puede desarrollar cicatrices. Estas lesiones llamadas trichiasis y entropión son las responsables de la ceguera por tracoma. La córnea se daña por el abrir y cerrar de los ojos, y por una infección secundaria, dando como resultado una ceguera. El periodo de incubación para la mayoría de las infecciones oculares con *C. trachomatis* es de 1 a 2 semanas aproximadamente, la presencia de inclusiones citoplásmicas características en las células de la conjuntiva es relevante a la distorsión de las estructuras externas del ojo, interfiere también con el flujo lacrimal normal con el crecimiento de las pestañas hacia dentro y con el funcionamiento glandular, en consecuencia de esto las infecciones bacterianas de los globos oculares por efecto del

tracoma son frecuentes. Todos estos efectos conducen a la pérdida de la visión. Se estima que alrededor de 500 millones de la población humana está infectada con el serotipo del tracoma a nivel mundial y que como consecuencia de ello entre 7 y 9 millones de personas sufren ceguera. Diagnóstico Existen varios métodos para diagnosticar infecciones por *Chlamydia trachomatis*, los más utilizados son: Detección directa de las muestras, los cuerpos de inclusión de *C. trachomatis* contienen glucógeno, que se tiñen con yodo y Giemsa, después de incubar 48 a 72 h, los cubreobjetos se extraen y se tiñen. Si existe un gran número de clamidias el diagnóstico se establece con facilidad por las técnicas de tinción de Giemsa o Gimenez, que permiten distinguir las inclusiones por su color de reacción, morfología y localización. Las inclusiones se localizan dentro del citoplasma de las células epiteliales, a menudo su ubicación es perinuclear, sin embargo se requiere de microscopia especializada en las células epiteliales del raspado conjuntival teñido con anticuerpos fluorescentes o Giemsa, se observan inclusiones citoplásmicas típicas, esta técnica es más sensible para el diagnóstico de infecciones oculares en recién nacidos y en uretritis. Inmunofluorescencia directa. Se realiza con anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno específico o el LPS de membrana y sobre la proteína principal de la membrana externa de *C. trachomatis*.²⁸ Los antígenos son detectados en las células obtenidas del sitio infectado con el empleo de anticuerpos monoclonales conjugado con fluorocromo (isocianato de fluoresceína). Los cuerpos elementales son las formas infecciosas que se observan en muestras clínicas, son pequeños, de forma redonda. La presencia de células epitelio columnar aumenta la sensibilidad en un 80-90% de la prueba y una especificidad del 98-99%. Es un método sensible para detectar conjuntivitis de inclusión.

El cultivo es el método más sensible considerado como la prueba de oro para el diagnóstico de infecciones causadas por *C. trachomatis*, del tracto genital tanto en hombres como en mujeres, tiene una sensibilidad de 70-85%, las muestras indicadas son las uretrales de hombres y mujeres asintomáticas, las nasofaríngeas, rectales, vaginales de niñas prepúberes y en casos de abuso sexual.³¹ *C. trachomatis* es una bacteria intracelular obligada, requiere de una célula hospedera para su desarrollo y

multiplicación. Las líneas celulares más utilizadas son las células McCoy (fibroblastos de ratón), HeLa 299 (carcinoma humano), las BHK-21 (células de ovario de hámster) y recientemente las células BGMK.

La línea celular que con mayor frecuencia se utiliza es la McCoy tratada con ciclohexamida, el cultivo se propaga en una monocapa sobre un cubreobjetos inoculado con las muestras, si hay suficiente número de cuerpos elementales de clamidias ellos infectarán las células y crecerán en forma de inclusiones citoplásmicas, luego de ser infectadas, las inclusiones pueden observarse después de 48-72 h de incubación y teñidas con anticuerpos marcados con fluoresceína que se ligan al LPS de la clamidia, otros reconocen específicamente la proteína de membrana externa, la observación directa de las inclusiones que posee una morfología distintiva contribuye al 100% de especificidad.³¹ Determinación de anticuerpos por la técnica de ELISA: esta técnica se basa en la detección inmunohistoquímica de antígenos de LPS de géneros específicos. En la actualidad se comercializa un gran número de estas pruebas. La técnica inmunoensayo enzimático para la determinación de anticuerpos de *C. trachomatis* permite el análisis de diferentes muestras, los resultados se obtienen en 4 h. Se detectan antígenos del LPS específicos de género extraídos de los cuerpos elementales de las muestras, los cuales son más abundantes y más solubles que la proteína principal de membrana externa.³⁴ Técnicas moleculares: Con los recientes desarrollos de métodos moleculares para detectar patógenos específicos, éstos han revolucionado el diagnóstico de las enfermedades de transmisión sexual basados en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos, pueden usar muestras de orina, hisopados vaginales disminuyendo la necesidad de los exámenes físicos y aumentando la especificidad y sensibilidad.^{36,37} La primera técnica molecular implementada utilizó una sonda de DNA quimioluminiscente, la cual se hibridaba con una secuencia de rRNA 16S específica de especie de clamidias. Las clamidias poseen 10 a 4 copias de estos RNA.³⁰ Una vez formados los híbridos éstos se absorben sobre esferas y la cantidad de quimioluminiscencia se detecta en un luminómetro, esta técnica tiene una sensibilidad del 85% y una especificidad del 98-99%. Debido a la dificultad en el diagnóstico y a los avances científicos y tecnológicos se han venido implementando

técnicas alternas de valoración de las clamidias a escala molecular basados en la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) y LCL (reacción en cadena de la ligasa).^{38,39} Estas pruebas son muy sensibles, proporcionan un alto grado de especificidad, lo que contribuye a la obtención de resultados de óptima calidad. La PCR es una técnica que permite detectar un bajo número de copias de DNA de clamidias, lo que la hace más sensible que otras pruebas. El método comercial disponible es el AMPLICOR CT PCR (Roche Molecular System), en ensayo disponible comercialmente y automatizado que proporciona un control interno y una mezcla maestra para PCR. El control interno contiene regiones de unión al primer específico. Se amplifican ambos, la *C. trachomatis* y el blanco de DNA, seguida por una detección selectiva de cada amplificación. En el ensayo de la reacción en cadena de la ligasa se emplean cuatro oligonucleótidos sintéticos (2 por cadena de DNA), que hibrida sitios específicos en el plásmido críptico, una vez hibridados los oligos, aquel intervalo complementado por el DNA polimerasa es sellado por la enzima ligasa, este proceso de dos pasos de llenado y cerrado del intervalo hace que la LCR sea muy específica en teoría.

El producto de la LCR es detectado en un aparato automatizado que usa un sistema de captura inmunocolorimétrico. Las técnicas de amplificación son muy útiles para el diagnóstico de uretritis en hombres o uretritis en cervicitis en mujeres.⁴¹ Genotipificación. El análisis por la técnica de RFLP del gen *Omp-1* amplificado que codifica para la proteína de membrana externa MOMP, es simple y rápido, es una herramienta poderosa para estudios epidemiológicos.

Este método permite la diferenciación de serotipos, serovariantes y genovariantes. La técnica se realiza amplificando el gen *Omp-1*, luego se procede a digerir el producto obtenido mediante enzimas de restricción, el resultado es el patrón de bandas por electroforesis para cada clamidia.

Otra técnica es el método de secuenciación directa. La técnica reconocida como prueba de oro para la genotipificación de cepas, permite identificar variantes de genes que caracterizan los serotipos de *C. trachomatis*