

20/1/76



Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE QUIMICA

**ETIOLOGIA Y DIAGNOSTICO DE LABORATORIO DEL
TRACOMA Y EL LINFOGRANULOMA VENEREO**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

TRABAJO MONOGRAFICO

Que para obtener el Título de:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P r e s e n t a:

SILVIA MONICA MANERO BRITO



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
I. GENERALIDADES ACERCA DEL AGENTE ETIOLOGICO	
1. TAXONOMIA Y MORFOLOGIA	4
2. ULTRAESTRUCTURA Y CONSTITUCION ANTIGENICA ...	6
3. CICLO DE DESARROLLO Y METABOLISMO	16
4. CULTIVO	25
5. SENSIBILIDAD A LOS AGENTES FISICOQUIMICOS ...	31
II. PATOLOGIA	
1. ANTECEDENTES	33
2. TRACOMA	34
3. LINFOGRANULOMA VENEREO	39
4. OTROS PADECIMIENTOS	44
5. INMUNIDAD	62
III. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO	
1. DIAGNOSTICO DIRECTO	66
2. DIAGNOSTICO INDIRECTO	83
IV. TRATAMIENTO	89
V. PROFILAXIS	94
VI. CONCLUSIONES	99
VII. BIBLIOGRAFIA	102

INTRODUCCION

Desde hace algunos años, *C. trachomatis* ha venido destacándose como el centro de atención de numerosos investigadores, debido a que figura a nivel mundial entre los principales microorganismos patógenos para el humano.

Los estudios recientes efectuados en Europa (111,138,168), E.U.A. (3,37,69) y los países escandinavos (144,149,185), han revelado que ocasiona tanto cervicitis como uretritis de transmisión sexual con igual o mayor frecuencia que *N. gonorrhoeae* y que supera a esta especie en lo que se refiere a capacidad para inducir infertilidad y otras complicaciones relacionadas con las entidades clínicas antes mencionadas; además, es el agente etiológico del tracoma (la causa número uno de ceguera previsible) y de otra afección ocular denominada conjuntivitis por inclusión, cuya incidencia excede a la de otras oftalmías que suelen involucrar a los recién nacidos (99,167,194,197).

Desafortunadamente, en nuestro país no se le ha concedido la importancia que merece. En este sentido, algunas de las razones que generan tal irregularidad podrían ser las siguientes:

- La literatura convencional sigue reportando que las enfermedades provocadas por este parásito son: linfogranuloma venéreo (del cual sólo se presentan

menos de 600 casos anuales en E.U.A.), tracoma y "otras".

- La prevalencia de esta bacteria se ignora debido a que los métodos tradicionales de diagnóstico que se emplean en la mayoría de los laboratorios no incluyen equipo, reactivos y otros recursos, que son indispensables para investigar padecimientos clamidiales en forma efectiva.

Considerando lo anterior, este trabajo intenta constituirse en un documento que difunda con veracidad la importancia de *C. trachomatis* en salud pública, para que en un futuro cercano, las clamidiasis se detecten, traten y prevengan con todo acierto en México.

OBJETIVOS

- Describir las características principales de *C. trachomatis* que se relacionan con su taxonomía, estructura, resistencia y ciclo vital.
- Mencionar y describir las enfermedades ocasionadas por este parásito, subrayando su importancia, los esquemas terapéuticos más efectivos para tratarlas y las medidas de prevención que pueden aplicarse para limitar su propagación.
- Dar a conocer los métodos que se utilizan para establecer el diagnóstico de laboratorio de los padecimientos clamidiales que afectan al humano, señalando sus fundamentos, ventajas y limitaciones.

I. GENERALIDADES ACERCA DEL AGENTE ETIOLOGICO.

1. Taxonomía y morfología.

Las clamidias se descubrieron al investigarse la psittacosis, una enfermedad predominantemente respiratoria que, aunque es típica de las aves, en ocasiones afecta al humano (154). Inicialmente se pensaba que eran protozoarios debido a que originaban la formación de inclusiones intracitoplásmicas (154) y tiempo después (1929) se les consideró como virus por el hecho de que son parásitos intracelulares obligados (60,152,154). Posteriormente recibieron otros nombres tales como bedsonias o miyagawanelas y no fue sino hasta después de las investigaciones de Stanier y Lwoff (154) cuando se les reconoció como bacterias. Ya como tales, al principio fueron incluidas en el Orden Rickettsiales, sin embargo, al comprobarse que eran importantes sus diferencias con las rickettsias en lo que se refiere principalmente a su ciclo de desarrollo y a su imposibilidad para generar ATP, se optó por separarlas e integrarlas dentro de su propio Orden, quedando actualmente su clasificación en el Bergey's Manual of Systematic Bacteriology como sigue:

Sección 9. Rickettsias y Chlamydias.

Orden 11. Chlamydiales.

Familia 1. *Chlamydiaceae*.

Género: *Chlamydia*.
Especies: *C. trachomatis*
C. psittaci

Las dos especies existentes manifiestan varias diferencias entre sí: mientras *C. psittaci* parasita a pájaros, perros, gatos y otros mamíferos, *C. trachomatis* es exclusiva del humano y el ratón; además, presentan menos del 10% de homología en lo que respecta a su DNA y sus porcentajes de G + C son de 41 y 44, respectivamente (14,23,154,201); en cuanto a los padecimientos que causan, *C. psittaci* es el agente etiológico de la psittacosis mientras que, en este sentido, *C. trachomatis* se subdivide de la siguiente manera: variedad TRIC, que comprende las cepas causantes de tracoma y conjuntivitis por inclusión, variedad LGV, en la que se agrupan las que producen linfogranuloma venéreo y variedad del ratón, que incluye a los agentes que ocasionan neumonía a este roedor (14,19,23,96,152,184,201).

Chlamydia trachomatis es una bacteria Gram negativa, inmóvil y su agrupación característica que, dependiendo de su localización, manifiesta dos formas diferentes: una extracelular conocida como cuerpo elemental (CE), que es esférica y presenta un diámetro de 0.2 a 0.4 μ y otra intracelular denominada cuerpo reticular o inicial (CR), la cual es pleomórfica y cuyas dimensiones varían entre 0.6 y

1.5 μ . Además, es fácilmente detectable al microscopio óptico cuando se le tiñe con colorantes básicos tales como los que se emplean en las técnicas de Giemsa y Macchiavello (4,14,19,23,80,96,152,154,184,201).

2. Ultraestructura y constitución antigénica.

El peso seco total de una célula clamidial está constituido por 60% de proteínas, 30% de lípidos ricos en grasas neutras y fosfolípidos pero exentos de colesterol, 7% de RNA y 2% de carbohidratos (19,44).

El DNA de este género es uno de los más pequeños entre los que poseen las células procariotes (14,23,201); los estudios realizados por Kingsbury en 1969 (89), demostraron que contiene 600,000 a 850,000 pares de nucleótidos y un peso molecular de 660×10^6 daltons (14,23,60,154); posteriormente, se realizaron comparaciones entre el tamaño de su DNA y el de otras bacterias, concluyéndose que corresponde a la mitad del de las neisserias, a la quinta parte del de *E. coli* y que es similar al de la rickettsias (14,154). Por otra parte, Peterson y de la Maza (132), utilizando nucleasas de restricción, demostraron la presencia de un plásmido de 4.4 megadaltons cuya función aún no se ha establecido; sin embargo, como se ha comprobado que se conserva durante todo el ciclo vital del microorganismo, se piensa que puede resultar de especial importancia para su

sobrevivencia (85). Por lo que respecta al RNA, *Chlamydia* posee tres especies, cuyos coeficientes de sedimentación son de 21S, 16S y 4S, respectivamente (201).

Otro aspecto digno de comentarse involucra a su envoltura celular; la de las bacterias Gram negativas generalmente está constituida por tres unidades: la membrana externa y una capa de peptidoglicanos (mureína), las cuales integran la pared celular, y la membrana citoplásmica; por su parte, *C. trachomatis* posee una envoltura parecida, pero ésta carece de la capa de peptidoglicanos (23,124). Los estudios efectuados mediante microscopía electrónica han demostrado que la membrana citoplásmica de este parásito es trilaminar como la de las demás bacterias (14) y que su pared celular, también trilaminar, es de composición parecida a la de los microorganismos Gram negativos (19,23,154), e inclusive, sus lipopolisacáridos (LPS) manifiestan propiedades endotóxicas (98,122). La lámina interna de la pared del CE está compuesta por una capa continua de pequeñas subunidades de disposición hexagonal que le confieren rigidez; en cambio, la del CR no posee estas estructuras y, por consiguiente, su pared es frágil y flexible. Por otro lado, aunque la lámina externa de ambas formas celulares presenta proyecciones hemisféricas (19,23), la del CR contiene menor cantidad de fosfolípidos y carece de aminoácidos azufrados tales como cisteína y metionina (19,154).

La membrana externa de las bacterias Gram negativas ha sido objeto de numerosas investigaciones, de las cuales se ha deducido que, tanto su capacidad para formar poros de difusión y su relativa resistencia al calor, como su naturaleza ácida, dependen de ciertas proteínas que, por su abundancia (60% del contenido proteico total), se denominan "mayores" (30). Sin embargo, en la membrana externa de *C. trachomatis* se ha detectado una proteína que, además de cumplir con las propiedades mencionadas, desempeña un papel importante en el mantenimiento de su integridad y rigidez dada su carencia de la capa de peptidoglicanos; se ha coincidido en llamar a este constituyente "proteína mayor de la membrana externa (MOMP)" (30). Este componente puede ser aislado de los CE intactos por tratamiento secuencial con detergentes aniónicos: sarkosyl seguido de dodecil sulfato de sodio en presencia de un agente reductor como el ditiotritol (11).

Los estudios tendientes a establecer el mecanismo mediante el cual esta proteína forma los poros que permiten la difusión de sustancias indispensables, proporcionaron el conocimiento de que la presencia de uniones disulfuro entre sus residuos de cisteína, constituyen una red que, al encontrarse en ambientes reductores, como los que existen en el citoplasma de la célula huésped se rompe originando grupos sulfhidrilo libres; de este modo, los poros formados

adquieren un tamaño que permite el paso de macromoléculas tales como el ATP (11).

Los resultados de las investigaciones enfocadas a determinar la estructura antigénica de *C. trachomatis* muestran que este microorganismo posee tres tipos de antígenos: uno específico de género que está presente en todas las clamidias, otro específico de especie en el cual se basa su diferenciación de *C. psittaci* y un último específico de tipo.

El antígeno de género es un complejo lipopolisacárido (éster polisacárido y ácido graso) constituido por D-glucosamina, 3-hidroxiácidos grasos de cadena larga, ácido 2-ceto-3-desoxioctanóico (KDO) y fósforo en proporción molar 2:5:3:2.6, respectivamente. Su determinante antigénica es un polisacárido ácido de alto peso molecular ($0.2 - 2.0 \times 10^6$ daltons) y en éste, el grupo inmunodominante es el KDO, el cual es similar pero no idéntico al que contiene el LPS de *Salmonella* (17,23,34,44,60,96,122,124).

En cuanto a otras características, es termoestable. (resiste temperaturas de 100°C durante 30 minutos) (17,23,34,45), es insoluble en agua y metanol pero soluble en éter etílico (45,156), pierde su antigenicidad al exponerse al ácido peryódico 0.005M o bien al efectuarse su hidrólisis ácida con H_2SO_4 0.1N durante una hora a 80°C (17,23,34,45) y.

por último, su determinante antigénica puede ser separada por saponificación alcalina y el grupo inmunodominante, por hidrólisis ácida suave (45,156).

Inicialmente este antígeno se detectó e investigó mediante pruebas de fijación del complemento, inhibición de la hemaglutinación, inmunofluorescencia (17,23,34,154) y difusión en gel (40). No obstante, su naturaleza lipopolisacárida se determinó hasta que Dhir y cols (45,156) llevaron a cabo los estudios correspondientes; para ello, los autores mencionados se basaron en el hecho de que el antígeno se logró extraer con solventes orgánicos no polares, también en que manifiesta reactividad cruzada con los LPS de *Acinetobacter calcoaceticus*, algunos géneros de la familia *Neisseriaceae*, la mutante Re de *Salmonella* y, como sucede en todos los LPS de las bacterias Gram negativas, en que contiene KDO.

Su extracción con solventes orgánicos no polares condujo a deducir su alto contenido lipídico; Dhir (45,156) empleó desoxicolato de sodio para tal efecto y, posteriormente, otros investigadores establecieron que el método de elección es el de Galanos, el cual utiliza fenol, cloroformo y éter de petróleo (52). Sin embargo, algunos autores como Caldwell y Hitchcock (34), en un principio fueron incapaces de precipitar al LPS de la fase fenólica y no lo lograron hasta que le dieron un previo tratamiento con ditiotritol y

posteriormente con iodoacetamina. Esto lo decidieron después de plantear que los CE muestran un comportamiento anormal debido a que, en su membrana externa presentan puentes disulfuro que interaccionan covalentemente interfiriendo con la extracción. Así, el primer compuesto mencionado reduce dichos enlaces mientras que el segundo bloquea los grupos sulfhidrilo libres.

En cuanto a la reactividad cruzada con determinadas cepas bacterianas y a la presencia de KDO, se debe considerar que el LPS de las bacterias Gram negativas presenta 3 regiones; del interior hacia el exterior se localizan: el lípido A, responsable de la actividad endotóxica de la molécula, el oligosacárido central que contiene al KDO y, finalmente, el polisacárido O, en el cual radica la especificidad serológica. No obstante, mediante los estudios correspondientes, se ha comprobado que en *A. calcoaceticus* y en la mutante Re de *Salmonella*, con los cuales el antígeno clamidial de género comparte determinantes antigénicas, dicho LPS está incompleto; es decir, que sólo está formado por el lípido A y el KDO. En las demás enterobacterias esta porción de la molécula no es inmunológicamente activa debido a que se encuentra enmascarada por el oligosacárido central y el polisacárido O (123). Para apoyar el razonamiento anterior, mediante estudios electroforéticos en gel de poliacrilamida y dodecil sulfato de sodio, se demostró que *C. trachomatis*

posee un LPS similar al de estos microorganismos aunque con una molécula más de KDO (122,123).

Por otro lado, mediante estudios serológicos se observó que el suero de conejos inmunizados con *C. trachomatis* contenía dos tipos de anticuerpos: uno que reconocía tanto al LPS clamidial como al de la mutante Re de *Salmonella* y otro que reaccionaba exclusivamente con el del género inoculado. De estas observaciones se concluyó que el LPS de *C. trachomatis* posee dos determinantes antigénicas: una que es específica para este microorganismo y otra que es la responsable de la reacción cruzada con *Salmonella* (17). Por su parte Caldwell y Hitchcock (34) llegaron a la misma conclusión cuando emplearon anticuerpos monoclonales sintetizados por células de mieloma murino, fusionadas con linfocitos B de ratones inmunizados con CE's inactivados con formalina.

Aunque la opinión generalizada es la de que ambas determinantes antigénicas deben encontrarse en el KDO, uno de los trabajos de Caldwell (34) puso en duda esta sugerencia; en él, se enfrentó un suero anti-lípido A de la cepa Re de *Salmonella* con el LPS clamidial, obteniéndose reacción positiva, lo cual suponía que alguna de ambas determinantes o en su defecto, que otra más, se encontraba en el lípido A de *Chlamydia*; sin embargo, Nurminen y cols (17) rechazaron este planteamiento aduciendo que dicho lípido A es un epítoto que

se encuentra en forma críptica, es decir, que sólo puede ponerse de manifiesto después de una hidrólisis ácida del LPS y, por consiguiente, no debe considerarse como determinante antigénica activa en condiciones naturales.

Por lo que refiere al antígeno de especie, éste se demostró mediante pruebas de hemaglutinación indirecta (186), inmunofluorescencia (154,169,186), difusión en gel (40) e inmunoelectroforesis (27). Químicamente es una molécula de naturaleza proteica que puede extraerse de la célula mediante procesos prolongados de sonicación (186) y que, además, presenta las siguientes propiedades (154): su peso molecular aproximado es de 150,000 daltons, es termolábil ya que pierde su antigenicidad cuando se le expone a temperaturas de 56°C durante 30 minutos, resiste la oxidación con peryodato (29,154,169,186) y la acción hidrolítica de las nucleasas y es estable a valores de pH extremos (2.2 y 10.6) (29); por otra parte, estudios electroforéticos muestran que está constituido por 18 determinantes antigénicos aún poco investigados (14,27,154).

Lógicamente, el antígeno de especie de *C. trachomatis* es distinto al de *C. psittaci* y ello constituye el fundamento de su diferenciación en el laboratorio; aunque inicialmente se pensaba que dicho antígeno sólo era compartido por las variedades TRIC y LGV (154), Stephens y Kuo (170), empleando anticuerpos monoclonales, demostraron que también está

presente en la variedad que causa neumonitis al ratón, pero, para poderlo poner de manifiesto en esta última, se requiere aplicar a los CE's un tratamiento previo con dodecil sulfato de sodio o bien llevar a cabo su oxidación con peryodato. Con respecto a la localización del citado antígeno en la célula, estos investigadores (169) comprobaron que se encuentra en la superficie de la pared celular, pues al realizar pruebas de inmunofluorescencia con CE's intactos detectaron fluorescencia exclusivamente en la periferia.

En cuanto a los antígenos específicos de tipo, se tiene la certeza de que también están situados en la superficie de la pared celular del microorganismo y, según se ha logrado comprobar experimentalmente, desempeñan un importante papel en lo que se refiere al desarrollo de inmunidad protectora (147,154,169,192). Aunque es poco lo que se conoce acerca de su composición química, se ha comprobado que son relativamente estables al calor y resistentes a la oxidación con peryodato y, como son sensibles a la acción de las proteasas, se ha coincidido en señalar que su naturaleza es proteica (154,169). Sacks y Mac Donald (147) lograron extraer el antígeno del serotipo A utilizando la sonicación y un detergente no iónico (Nonidet P-40) y, al analizarlo, encontraron que se trataba de una proteína de 27,000 daltons.

Las investigaciones realizadas a la fecha han permitido establecer que para la variedad TRIC existen doce serotipos,

los cuales se designan con letras de la A a la K incluyendo Ba, mientras que para la LGV sólo se conocen tres: L₁, L₂ y L₃ (23,154). Algunos de estos serotipos presentan reacciones cruzadas dando lugar a dos serogrupos: el complejo B que agrupa a los serotipos B, Ba, D, E, L₁, L₂, F y G y el complejo C conformado por el C, J, A, H e I. El K y el L₃ generalmente se incluyen en este último serogrupo, aunque algunas cepas comparten ciertas determinantes antigénicas con las del complejo B (60).

Bell y cols (192) realizaron el primer estudio serológico de este microorganismo en 1959 y clasificaron a las cepas de la variedad TRIC dentro de los serotipos antes mencionados, utilizando la prueba de prevención de la toxicidad en ratones (MTPT); por su parte, Wang y cols (47), tipificaron a la variedad LGV en 1963 basándose en el mismo método. Posteriormente, en 1970, estos últimos investigadores desarrollaron la técnica de microinmunofluorescencia, la cual se considera más rápida y sensible, obteniendo los mismos resultados (191). Cabe mencionar que actualmente esta es la prueba que se utiliza para llevar a cabo la serotipificación, no obstante, ya se empiezan a obtener resultados satisfactorios con el empleo de anticuerpos monoclonales, aunque aún se requiere la realización de más estudios para estandarizar el método y poderlo aplicar en Epidemiología (192).

Otras investigaciones han proporcionado información complementaria:

- la estructura primaria y el peso molecular de la MOMP son distintos para cada serotipo y las porciones expuestas (ubicadas en la superficie), aunque difieren, manifiestan cierta homología entre los serotipos pertenecientes a un mismo serogrupo o complejo (32).
- se ha demostrado la existencia de otro tipo de sustancias superficiales, entre las que destacan una neuraminidasa que hidroliza el ácido siálico de la membrana de la célula huésped y una hemaglutinina. La primera sólo la poseen las cepas pertenecientes a la variedad TRIC, mientras que la última se encuentra en todos los serotipos (14,80).

En resumen, el antígeno de género se localiza en el LPS y los específicos de especie, tipo y serogrupo en la MOMP.

3. Ciclo de desarrollo y metabolismo.

C. trachomatis se multiplica en los tejidos humanos a través de un singular ciclo vital que la diferencia de los demás microorganismos y en el cual intervienen dos formas celulares (mencionadas anteriormente): la extracelular

conocida como cuerpo elemental (CE) y la intracelular, denominada cuerpo reticular o inicial (CR); las principales propiedades de ambas se enumeran en la tabla 1.

Los estudios realizados acerca del ciclo de desarrollo del microorganismo han establecido que éste tiene una duración aproximada de 48 horas y se efectúa en tres fases (154):

- entrada de la partícula infectiva (CE) a la célula susceptible y su posterior transformación a CR.
- reproducción del parásito.
- reorganización de los CR's para dar lugar nuevamente a los CE's que serán liberados.

Por lo que se refiere a la penetración de CE's en la célula huésped, algunos investigadores (23,26,49,154) han coincidido en señalar que ésta se lleva a cabo mediante un proceso de fagocitosis, para el cual resulta determinante la adhesión previa de dicha partícula a la superficie de la célula. Sobre este último paso, los experimentos realizados han comprobado que es indispensable la participación de un componente específico en cada uno de los protagonistas (26,116,154).

En la célula huésped se encuentra el receptor, que está constituido principalmente por una proteína sensible a la tripsina; de hecho, se le conoce como sitio tripsina-sensible (23,26,116,148,154).

CUERPO ELEMENTAL

- Posee capacidad para infectar a las células huésped.
- Su material nuclear está condensado en el centro de la célula.
- Densidad aproximada de 1.21 g/cc.
- Su pared celular es impermeable.
- No tiene capacidad de reproducción.
- Induce que las células susceptibles de infección lo fagociten.
- Manifiesta toxicidad inmediata para células en cultivo.
- Resulta letal para ratones al ser administrada por vía intravenosa.
- Su relación RNA:DNA es de 1:1.
- No tiene capacidad metabólica.
- Es sensible a la penicilina.

CUERPO RETICULAR

- No manifiesta capacidad infectiva.
- Su material nuclear se encuentra disperso en el citoplasma.
- Densidad aproximada de 1.18 g/cc.
- Su pared celular es permeable.
- Posee capacidad de reproducción, por fisión binaria.
- No sobrevive extracelularmente ni es capaz de inducir que las células huésped lo fagociten.
- No presenta toxicidad para las células en cultivo.
- No es letal para el ratón.
- Su relación RNA:DNA es de 3 ó 4:1.
- Manifiesta actividad metabólica.
- No es afectado por la penicilina.

TABLA 1. Principales características del CE y el CR de *C. trachomatis* (19,23,154).

Por su parte, la bacteria posee una molécula proteica denominada "ligando" (26,116) la cual es resistente a la acción hidrolítica de la tripsina, quimotripsina y termolisina y sensible a temperaturas de 56°C cuando se le expone hasta por 30 minutos; cabe citar la posibilidad de que este factor forme parte de la MOMP, ya que así lo demuestra el hecho de que, en varios estudios, se ha logrado impedir la infección mediante la previa exposición de las clamidias a sueros cuyos anticuerpos (principalmente de la clase IgG) están dirigidos contra las determinantes antigénicas presentes en dicha proteína (63); en este sentido, Kuo (101), Caldwell (33) y Howard (76) señalan que el ligando corresponde al antígeno específico de serotipo, ya que han reproducido la mencionada neutralización de la infectividad empleando los correspondientes anticuerpos monoclonales; la única discrepancia en sus publicaciones radica en el papel del complemento: mientras el primero indica que su participación es necesaria, los dos últimos consideran que su presencia sólo incrementa la eficiencia del proceso sin llegar a ser indispensable. Al parecer, las observaciones de estos 3 autores son las más aceptadas entre sus colegas; sólo Peeling (130) difiere, al establecer que son los antígenos específicos de especie los que inducen la producción de anticuerpos neutralizantes.

Una vez que se ha verificado la adhesión la célula

huésped fagocita a los CE's y éstos permanecen dentro de los fagosomas correspondientes.

Comunmente, en la fagocitosis es el fagocito el que elige la partícula que englobará; sin embargo, los procesos fagocitarios en los que participa *Chlamydia* parecen estar inducidos por el microorganismo; es decir, que esta bacteria selecciona las células susceptibles del huésped y las habilita como fagocitos no profesionales en cuyo interior cumplirá parte de su ciclo vital. De hecho, varios autores (26,49) se refieren a este fenómeno como "fagocitosis parásito-específica".

La penetración de la partícula a la célula huésped mediante fagocitosis se ve favorecida, entre otros factores, por la presencia de cationes Na^+ y Ca^{++} (161) y por temperaturas que varían entre los 35 y 40°C (49); además, el número de agentes infecciosos que se introduce está en función directa de su concentración, sin embargo, cuando la cantidad de microorganismos es muy grande, se inhibe la fagocitosis debido a que la célula huésped manifiesta signos de toxicidad inmediata; entre éstos destacan (116):

- El arrugamiento anormal de la superficie celular.
- La imposibilidad para efectuar síntesis de proteínas.
- La salida anormal de K^+ y deshidrogenasa láctica.
- La dificultad para fijar y utilizar los sustratos

que le son necesarios.

Cuando los CE's ya se encuentran en el interior de la célula huésped, se transforman en CR's y aunque varios de los eventos y su secuencia se desconocen aún, se ha logrado determinar que, durante el proceso, las partículas infectantes experimentan los siguientes cambios:

- Su pared celular se torna más frágil y permeable. La mencionada fragilidad provoca el elevado pleomorfismo y la pérdida de estabilidad osmótica, mientras que el aumento en la permeabilidad favorece la entrada de moléculas que el microorganismo requiere para iniciar su actividad metabólica. Cabe señalar que tanto la fragilidad como el cambio en la permeabilidad de la pared celular parecen deberse a la aparición de poros que se generan al romperse los enlaces disulfuro presentes en la MOMP. Este último fenómeno es consecuencia de las condiciones francamente reductoras que existen en el citoplasma de la célula huésped por la presencia de glutatión reducido y NADPH (11,64,72).
- El material nuclear se dispersa en su citoplasma (23).
- Su tamaño aumenta en proporción de 3 a 4 veces

(14).

- Pierden su capacidad infectiva (23).

Si bien las modificaciones anteriores se han comprobado ampliamente, es necesario subrayar que la gran mayoría de los antígenos superficiales sigue estando presente; de hecho, en algunos de ellos parece radicar la capacidad que tiene *Chlamydia* para impedir la fusión fagolisosomal, garantizando su reproducción intracelular.

En cuanto a su metabolismo, puede establecerse que los CR's constituyen la forma celular activa, ya que son ellos los que llevan a cabo las reacciones bioquímicas relacionadas con su desarrollo (11,23,154).

A esta bacteria se le considera parásito energético (intracelular estricto), debido a que depende del ATP generado por la célula huésped, es decir, carece de la capacidad para producir este tipo de moléculas tan indispensables en el metabolismo. Probablemente a ello se deba que, cuando una célula infectada por este género es analizada por medio de microscopía electrónica, se observe que sus mitocondrias se han localizado y acumulado alrededor del fagosoma que contiene a los microorganismos (49,154).

Sin embargo, además de ATP, la célula huésped debe proporcionarle purinas y pirimidinas para que pueda efectuar su síntesis de DNA y RNA, de aminoácidos (cisteína,

histidina, isoleucina, leucina, fenilalanina, tirosina y valina) para que elabore sus proteínas y de hexoquinasa para que inicie su vía glucolítica (14,19,87,201).

Lógicamente, lo antes mencionado provoca alteraciones en la célula infectada, destacando el hecho de que su síntesis de macromoléculas se inhibe en cierto grado debido a la competencia por los sustratos (19) y, además, como consecuencia de la reproducción de los CR's (lo cual sucede por fisión binaria), el volumen del fagosoma que los contiene se incrementa notablemente, al grado de que llega a ocupar la mayor parte del citoplasma (23); es importante señalar que las vacuolas que contienen clamidias en su interior reciben el nombre de inclusiones intracitoplasmicas o cuerpos de Halberstadter-Prowasek (14,23,140,154).

La síntesis de glucógeno y la producción de CO₂ a partir de glucosa, piruvato y glutamato, constituyen otras características metabólicas detectadas en *C. trachomatis* (80,154).

Una vez que ha finalizado el período de reproducción, los CR's se transforman en CE's los cuales posteriormente serán liberados del interior de la célula huésped y reiniciarán el ciclo infectando a otras células (23,154).

Por lo que respecta a esta última conversión, se ha demostrado que se verifica cuando se presentan los siguientes

signos:

- La disminución en los niveles de ATP (11).
- La desaparición de sustancias reductoras (glutatión y NADPH) (11).
- La carencia de isoleucina. Aunque se desconoce la función que ésta desempeña en los CR's, se sabe que actúa como reactivo limitante (154).
- El inicio de la síntesis de proteínas que contienen aminoácidos azufrados tales como metionina y cisteína. Como se recordará, éstos son los responsables de la formación de enlaces disulfuro (72).

Cabe señalar que durante el mencionado proceso de transformación, tiene lugar la aparición de una estructura intermedia que presenta algunas características de CR y otras de CE; generalmente, ésta se manifiesta en las micrografías como una célula en división que muestra una morfología similar a la del CE (49).

La etapa final del ciclo de desarrollo corresponde a la liberación de los CE's. Los diversos estudios sobre el particular, sugieren que el parásito abandona la célula huésped mediante alguno de los siguientes mecanismos (183):

- Lisis de la célula huésped. Este proceso se

presenta cuando el agente infeccioso pertenece a la variedad LGV; dicho de otro modo, las cepas que ocasionan linfogranuloma venéreo se liberan cuando la célula a la que han parasitado ha sido lisada, probablemente por efecto de sus propias enzimas lisosomales (182).

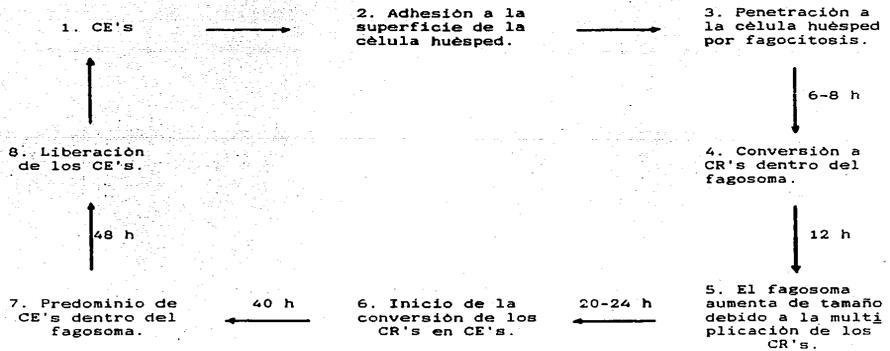
- Exocitosis. Al parecer, este es el fenómeno mediante el cual las cepas que causan afecciones oculares salen de la célula en la que se han reproducido. Este proceso se presenta en varias enfermedades infecciosas (gonorrea, fiebres entéricas, etc.) (112) y ocurre cuando la célula infectada elimina el fagosoma que contiene a los parásitos. No obstante, existe la posibilidad de que las clamidias se liberen cuando la membrana de la vacuola en la que se encuentran pasa a formar parte de la del citoplasma por efecto de las corrientes del sistema membranoso (110).

4. Cultivo.

C. trachomatis se considera un parásito intracelular obligado debido a que requiere penetrar en células vivas para multiplicarse; lógicamente, esto ocasionó que los intentos por cultivar a este microorganismo en el laboratorio fracasaran durante mucho tiempo; sin embargo, en 1944

EVENTOS PRINCIPALES DEL CICLO DE DESARROLLO DE

C. trachomatis



Macchiavello obtuvo su desarrollo al inocularlo en saco vitelino de huevos embrionados de pollo (139), dando origen al primer método para lograr su aislamiento y reproducción y, posteriormente, Gordon y Quan (1965) introdujeron el cultivo celular que aún en nuestros días constituye el medio de elección para investigarlo *in vitro*, ya que ofrece las siguientes ventajas respecto al anterior (58):

- La posibilidad de contaminación micótica y bacteriana es menor.
- La bacteria desarrolla más rápidamente.
- Requiere de una menor cantidad de inóculo.

Además, los huevos embrionados deben ser de 6 a 8 días y proceder de gallinas cuya alimentación haya estado exenta de antibióticos (80,96).

Los trabajos tendientes a seleccionar células en las cuales se pueda cultivar adecuadamente a *C. trachomatis*, proponen que existen tres líneas celulares que proporcionan condiciones óptimas para el desarrollo de esta especie: las células Mc Coy (fibroblastos de ratón), las HeLa 229 (células cancerosas de cérvix humano) y las BHK-21 (células de riñón de hamster bebé). Por lo que se refiere a los medios utilizados para el cultivo de dichas células, los de mejores resultados son el mínimo esencial de Eagle y el 199, adicionados de 3 a 10% de suero fetal bovino, con un pH de 7 y preparados con amortiguadores tales como bicarbonato de

sodio y el HEPES (ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico) (139).

Los investigadores que buscan optimizar tanto la penetración del microorganismo como su multiplicación, han logrado establecer algunos tratamientos que pueden aplicarse a las líneas celulares antes o después de ser inoculadas con *C. trachomatis*.

Por lo que respecta a los intentos por incrementar la penetración, en 1971 Rotta y Nichols (143) demostraron que la utilización del polication dietilaminoetil (DEAE)-dextran cumplía el objetivo, debido a que este compuesto confiere a las células huésped en cultivo una carga externa positiva que elimina las fuerzas de repulsión existentes entre ellas y el parásito. Los mismos autores confirmaron este hecho al observar la inhibición de la infección por polianiones tales como dextrán-sulfato y heparina, los cuales promueven que aumente su carga externa negativa. Posteriormente, en 1974, Darougar y cols (43) lograron intensificar la penetración centrifugando los cultivos inoculados a una velocidad aproximada de 3,000 a 4,000g durante una hora; es de suponerse que este procedimiento pone en contacto a la célula y al microorganismo con una fuerza tal, que se anula materialmente la repulsión entre ellos.

Por otro lado, los estudios realizados para elevar el grado de multiplicación de *Chlamydia*, han demostrado que lo

anterior es posible en la medida en que se logre reducir la competencia por los nutrientes entre la bacteria y la célula dentro de la cual se reproduce. En este sentido, los experimentos se han centralizado en buscar agentes físicos o químicos que disminuyan marcada pero no totalmente la actividad metabólica de la célula huésped sin afectar al parásito. Así, se han obtenido buenos resultados con las radiaciones gamma, la incubación con 5-iodo-desoxiuridina (IuDR) y la citocalasina B, mismos que se aplican a los cultivos celulares antes de que se inoculen con la bacteria y con cicloheximida, hemetina o hidrocortisona que se incorporan después de la inoculación (46,139).

Todos los agentes mencionados causan el efecto deseado sobre las líneas celulares mediante mecanismos deferentes: la radiación, la hidrocortisona y la IuDR actúan a nivel de ácidos nucleicos; la primera altera tanto la replicación como la transcripción del DNA (59), la segunda provoca una disminución en su síntesis ocasionando una baja producción de proteínas (25) y, la última, da lugar a RNA's alterados y, por consiguiente, a la elaboración de proteínas difuncionales, debido a que se introduce en la cadena de nucleótidos del DNA por ser análoga del trifosfato de timina (193); por su parte, la hemetina y la cicloheximida inhiben síntesis proteica (12,146) y la citocalasina B induce la formación de células multinucleadas al impedir la fisión

citoplásmica; cabe señalar que, aunque se desconoce la razón, es este último tipo de células se favorece el desarrollo clamidial (164).

Después de determinarse por separado las condiciones óptimas para la penetración y reproducción de *Chlamydia*, diferentes autores han realizado investigaciones tendientes a establecer los medios más adecuados para el cultivo del microorganismo, coincidiendo en que el más eficiente es el de células Mc Coy tratadas con cicloheximida (13,46,94): sin embargo, Sabet y Simmons (146) encontraron que las células HeLa 229 incubadas con DEAE-dextrán y cicloheximida, constituyen también un medio muy confiable.

Es importante destacar que, aunque las células Mc Coy son las más recomendadas, las epiteliales de embrión de ratón (MMC-E) son muy sensibles a la infección por *C. trachomatis*, aún sin que se les someta a tratamientos extra (88): desafortunadamente, éstas requieren ser investigadas con mayor profundidad antes de que se extienda su utilización.

En cuanto a las condiciones de incubación, puede mencionarse que el tiempo depende del sistema de cultivo seleccionado; cuando se emplean huevos embrionados se obtiene un desarrollo óptimo a los 13 días y, en cultivos de células, 48 a 72 horas son suficientes. En ambos casos deben proporcionarse ambientes de humedad y temperaturas de 37°C

(139).

Por lo que toca a los animales de experimentación que pueden emplearse para cultivar a la bacteria en cuestión, los más susceptibles son: el ratón para las cepas que ocasionan linfogranuloma venéreo (vía intracerebral) y los primates (*Macaca cyclops*, *Aotus trivirgatus*) para las pertenecientes a la variedad TRIC, siempre que se les inocule en la conjuntiva (80.96.152).

5. Sensibilidad a los agentes fisicoquímicos.

Estudios tendientes a analizar la sensibilidad y resistencia de *C. trachomatis* a diferentes agentes fisicoquímicos han originado una pregunta generalizada entre los investigadores: ¿Cómo es posible que un parásito tan delicado y exigente sea capaz de provocar padecimientos en la mayoría de las regiones anatómicas del humano y dar lugar a tan elevadas tasas de morbilidad?

La respuesta parece radicar en el hecho de que esta bacteria se transmite por lo general de persona a persona y difícilmente requiere sobreponerse a las condiciones ambientales al ser transferida de un huésped a otro. Además, varios padecimientos ocurren por diseminación local, hematogena y/o linfática a partir de un tejido infectado y, en otros, es el mismo paciente quien transporta al

microorganismo de un sitio a otro con las manos.

C. trachomatis resiste las temperaturas de congelación permaneciendo viable indefinidamente a -70°C ; puede ser inactivada cuando se le expone a compuestos tales como el trifluorotricloroetano y formalina (190), o bien, por influencia del calor (56°C durante 30 minutos)(80); de hecho, los intentos por elaborar una vacuna efectiva se han basado en estas propiedades.

Es muy sensible a pH's extremos y a soluciones diluidas de fenol, alcohol, éter, cloro, iodo, permanganatos y cloruro de magnesio, los cuales son comunmente utilizados como desinfectantes (80).

Por otro lado, todos los serotipos han manifestado ser relativamente sensibles a la desecación, lo cual sugiere que el índice de transmisión por el polvo, fomites, etc. es muy bajo (23,154).

II. PATOLOGIA.

1. Antecedentes.

La primera división que los infectólogos decidieron aplicar para lograr una caracterización más específica de *C. trachomatis*, se basó en los padecimientos que en aquel entonces se sabía que este microorganismo causaba al humano: linfogranuloma venéreo y oftalmías. De esta manera, se establecieron las variedades LGV y TRIC (tracoma conjuntivitis por inclusión)(23,154).

Posteriormente, gracias a los recursos serológicos, se ha determinado que la LGV se constituye a su vez por los serotipos L₁, L₂ y L₃, mientras que la TRIC agrupa otros que van de la A a la K incluyendo uno al que se le denomina Ba (23,154).

En la actualidad se cuenta con extensa información sobre esta especie bacteriana, al grado de que está comprobado que las cepas LGV (9,21,162):

- son más invasivas debido a que su membrana externa contiene una proteína de 60,000 daltons cuya carga neta positiva favorece el contacto con la célula huésped.
- además del linfogranuloma venéreo, ocasionan procesos lesivos en pulmones, corazón, meninges,

bazo, hígado y piel.

Por otra parte, se ha demostrado que la variedad TRIC no sólo causa padecimientos oculares, sino que también invade eficazmente los epitelios cilíndricos que constituyen las mucosas oral, rectal y las de los tractos respiratorio, genitourinario e intestinal (152); en concreto, los serotipos A, B, Ba y C provocan el tracoma y los demás figuran entre los agentes etiológicos más importantes de enfermedades genitourinarias, conjuntivitis por inclusión, perihepatitis y otras (10, 21, 54, 78, 107, 128, 129, 135, 152, 201).

A continuación se describen los principales padecimientos relacionados con *C. trachomatis*.

2. Tracoma.

Es una afección ocular tan antigua que inclusive aparece descrita en el Papiro de Ebers, el cual se escribió hace aproximadamente 3,800 años (80); sin embargo, su agente etiológico fue aislado hasta el año de 1957 cuando T'ang y cols sembraron las muestras correspondientes en huevos embrionados (152). En la actualidad se considera que este padecimiento es la causa principal de ceguera en el mundo y que su incidencia es mayor en los países subdesarrollados porque carecen de condiciones higiénicas adecuadas (44, 201).

Tal como se ha señalado, las investigaciones tendientes

a establecer la etiología de la enfermedad han demostrado que ésta es ocasionada por los serotipos A, B, Ba y C de *C. trachomatis*, los cuales se incluyen en la variedad TRIC (60,96,152,154); no obstante, existe publicado un caso en el que la bacteria involucrada pertenece al inmunotipo J (71).

Desde el punto de vista clínico, el tracoma se define como una queratoconjuntivitis crónica que inicia con reacciones inflamatorias agudas en la conjuntiva y la córnea y puede progresar hasta provocar ceguera (23,40,80,96,154).

El padecimiento se transmite de persona a persona y una vez que el microorganismo se establece en las células epiteliales de la conjuntiva ocular debe transcurrir un período que varía entre 3 y 10 días para que aparezca la sintomatología clásica (18,80).

En relación al curso de la enfermedad, Mac Callan ha detectado que sobresalen 4 estadios (18,80,152,154,201):

El I se denomina tracoma incipiente; esta fase es relativamente asintomática y se caracteriza por la presencia de un escaso exudado conjuntival de aspecto mucopurulento, lagrimeo y una queratitis muy leve.

El II recibe el nombre de tracoma establecido; en este período, el paciente experimenta una franca conjuntivitis con hipertrofia tanto de los folículos linfoides situados por

debajo del párpado superior (tarsales) como de aquéllos que se encuentran en la periferia de la córnea; además, empieza a ser evidente el desarrollo de pannus; éste consiste en la prolongación de los vasos sanguíneos desde el limbo esclerocorneano (unión del borde superior de la córnea con la esclerótica) hasta el estroma claro de la córnea.

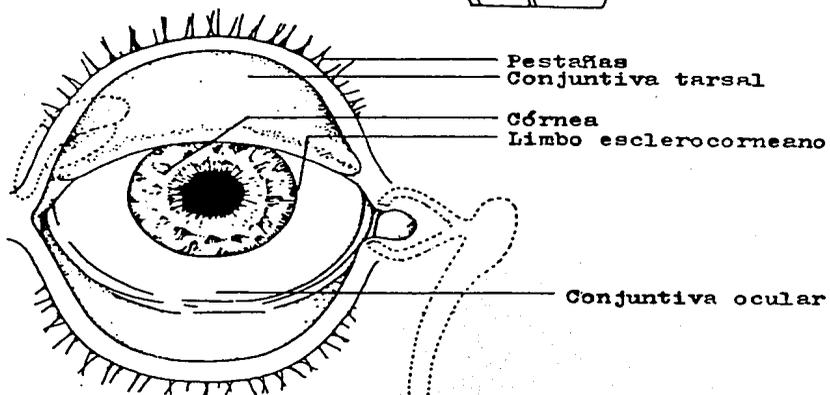
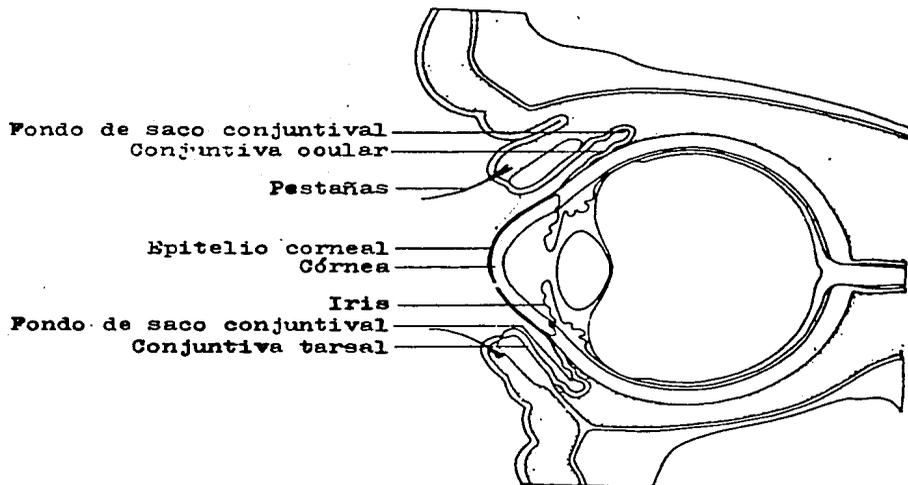
Por cierto que, en este estadio, es más evidente la infiltración de leucocitos polimorfonucleares y linfocitos, según lo demuestra el análisis del exudado mucopurulento (201).

El III corresponde a las complicaciones cicatrizales; la necrosis de los folículos linfoides de la periferia de la córnea da lugar a la aparición de los característicos pozos de Herbert, mientras que la de los tarsales origina la formación de cicatrices que, al retraerse, ocasionan la versión del párpado (entropión) provocándose que las pestañas queden dirigidas hacia la conjuntiva ocular (triquiasis) y lesionen la córnea por el roce constante.

El IV se conoce como tracoma curado; es esta etapa, ya no existe evidencia alguna de inflamación activa, a menos que otros microorganismos se manifiesten como patógenos secundarios u oportunistas.

Generalmente, el grupo de personas más afectado por esta enfermedad es el de los niños menores de 5 años, si bien, los

Figura 1. Anatomía del ojo humano.



adolescentes y adultos también pueden verse involucrados (152).

Como ya se mencionó, a menudo se presentan complicaciones debidas a infecciones secundarias por otras especies bacterianas; entre éstas destacan *S. pneumoniae*, *Haemophilus sp.* y *Moraxella sp.*, las cuales agravan el cuadro clínico del tracoma (ulceración, cicatrización y opacidad de la córnea) y lo prolongan aún más provocando lesiones permanentes que conducen a la ceguera. Normalmente, esta última sobreviene 15 a 20 años después de que cesó la infección activa (44,80,152,154,178).

Otros estudios han demostrado que en las zonas endémicas el índice de recaídas es elevado y, por lo general, que los niños se ven afectados por infecciones extraoculares; de hecho, *C. trachomatis* se ha aislado de la nasofaringe y del recto de este tipo de pacientes. Además, los mismos autores mencionan que una exposición continua a la bacteria puede provocar el estado de hipersensibilidad en el huésped, dando lugar a que se manifiesten síntomas clínicos tales como la opacidad corneal y el pannus, aunque el microorganismo ya no se encuentre infectando la conjuntiva (105,154,201).

En este sentido, Ronnerstam y Persson (140) sugieren que la opacidad es ocasionada por inmunocomplejos acompañados por una reacción inflamatoria humoral que involucra al sistema

del complemento y que la formación de pannus se debe a la neovascularización de la córnea que sucede a una estimulación quimiotáctica.

3. Linfogranuloma venéreo.

Es una enfermedad genital conocida desde el siglo XVIII, si bien Nicholas, Burand y Favre la describieron adecuadamente por primera vez hasta el año de 1913. Aunque se le ha denominado con nombres tales como linfogranuloma inguinal, estiómero y bubón climático o tropical, el más ampliamente utilizado es el de linfogranuloma venéreo. Es ocasionada por cepas de *C. trachomatis* pertenecientes a la variedad LGV que incluye a los serotipos L₁, L₂ y L₃ y se transmite por contacto sexual, razón por la cual, el grupo más afectado es el de los adultos sexualmente activos (18 a 40 años). El padecimiento con frecuencia se confunde con otros que presentan manifestaciones clínicas similares; entre ellos destaca el granuloma inguinal cuyo agente etiológico es *Calymmatobacterium granulomatis* (18,44,80,181).

Por lo que se refiere a la enfermedad, se conoce que tiene un período de incubación que varía entre 3 y 30 días y, de acuerdo a su cuadro clínico, se ha coincidido en dividirla en 3 períodos (2,18,152,181):

El primero se caracteriza por la presencia de una pápula

o vesícula indolora cuyo diámetro fluctúa entre 1 y 4 mm que cura espontáneamente después de algunos días. En el hombre esta pústula puede aparecer en el pene o el escroto, en la mujer suele establecerse en los genitales externos, la mucosa vaginal, el cérvix o el recto y en los varones homosexuales, éste último es el afectado (18,181). Sin embargo, el agente etiológico también se ha aislado de la uretra de pacientes masculinos, lo cual sugiere, según algunos autores, que a menudo no hay lesión cutánea identificable y que la uretritis puede ser el síntoma inicial de la enfermedad (18).

Este período puede pasar desapercibido en un considerable número de casos; de hecho, el 70% de las personas que padecen la afección no se percatan de la existencia de la pápula o bien, le atribuyen un origen traumático (14,181).

Durante el segundo período, el microorganismo se desplaza a través de los vasos linfáticos hacia los ganglios regionales provocando, una o dos semanas después, la característica linfadenopatía. En ese momento, existe una bacteremia transitoria según lo demuestra el hecho de que *C. trachomatis* se ha detectado en muestras de sangre y líquido cefalorraquídeo (18).

Generalmente, la ubicación de la lesión primaria determina las manifestaciones secundarias, es decir, cuando

se localiza en el pene, el escroto, los genitales externos femeninos o en el tercio externo de la vagina, se produce el "síndrome inguinal". porque sus vasos linfáticos drenan en los ganglios femorales e inguinales; en contraste, si se encuentra en la vagina superior, el cérvix, el recto o el ano, se presenta el "síndrome genitoanorrectal" debido a que éstos tienen un drenaje linfático en los nódulos pelvianos e ilíacos profundos (2,18).

Cabe mencionar que el síndrome inguinal constituye la forma más frecuente y se caracteriza por la inflamación de los ganglios linfáticos inguinales y femorales y, como éstos se encuentran separados por el ligamento de Poupert, aquélla da lugar al "signo del surco" que es patognomónico de la enfermedad (2,18,181). Por lo general, varios nódulos linfáticos se infectan simultáneamente y se adhieren entre sí debido a la intensa periadenitis. En un principio los bubones resultantes son firmes, pero después de un periodo de 7 a 10 días se convierten en fluctuantes y se fijan a la piel suprayacente; como consecuencia, se perforan produciéndose fistulas que drenan una secreción purulenta. Al cicatrizar, estas lesiones obstruyen los vasos linfáticos ocasionando linfedemas que pueden provocar elefantiasis genital; sin embargo, en algunos casos (20-25%) el bubón se desprende de la piel sin llegar a romperse (18). Esta linfadenopatía es muy dolorosa y principalmente unilateral, aunque

aproximadamente el 30% de los pacientes, pueden presentarla bilateral (2,80).

Es importante subrayar que durante la formación de los bubones, la persona experimenta síntomas tales como fiebre, esclofríos, dolor muscular, cefalagia, náuseas y vómitos y, con menor frecuencia, queratoconjuntivitis, artritis, pericarditis, meningoencefalitis, esplenomegalia, eritema nudoso o multiforme y hepatitis (80,117,161).

El análisis de muestras de sangre revela un índice de eritrosedimentación incrementado y una leve leucocitosis (2,18).

Por otro lado, los estudios histológicos de los ganglios linfáticos inflamados manifiestan que algunos contienen microabscesos estrellados con granulocitos en el centro y células mononucleares dispuestas en empalizada a su alrededor; otros, evidencian abscesos formados por monocitos circundados por células epitelioides y, los que provienen de pacientes cuya enfermedad ha sido de larga duración, presentan lesiones necróticas constituidas por pequeñas cantidades de leucocitos polimorfonucleares rodeados por células gigantes (18,201).

Por lo que respecta al síndrome genitoanorrectal, se ha demostrado que afecta principalmente a mujeres y varones homosexuales y representa el 25% de los casos diagnosticados

como linfogranuloma venéreo. Se caracteriza por un cuadro agudo de proctitis y la presencia de abscesos perirrectales que drenan una secreción mucosanguinolenta. La mucosa anorrectal aparece edematosa, hemorrágica y manifiesta una textura granular al tacto. Los síntomas más frecuentes son tenesmo, diarrea o constipación y dolor abdominal (2,18,157).

Cabe señalar que la separación de los dos síndromes es muy relativa, ya que aproximadamente el 75% de las mujeres que presentan el inguinal también padecen el genitoanorrectal (18).

En el tercer período se manifiestan los daños anatómicos y funcionales más serios, destacando entre ellos el estrechamiento rectal como consecuencia de la proctitis y la aparición de úlceras y fístulas en la uretra y los genitales externos de la mujer, los cuales pueden conducir a una destrucción progresiva del tejido (181,201).

Es de gran importancia hacer notar que, en los últimos años, se han publicado casos en los que se reporta el compromiso de los ganglios cervicales, supraclaviculares y mediastínicos y otros en los que existe neumonía y glositis ulcerativa; estas afecciones se atribuyen a los serotipos L₁ y L₂ de *C. trachomatis* y se relacionan con prácticas sexuales orogenitales (15,181).

4. Otros padecimientos ocasionados por *C. trachomatis*.

4.1. Enfermedades oculares.

Conjuntivitis por inclusión.

Este padecimiento es ocasionado por otras cepas de *C. trachomatis* pertenecientes a la variedad TRIC, concretamente por los serotipos D a la K (18,44,79,80,96,152, 201). Es una enfermedad ocular que afecta más frecuentemente a las personas que padecen infecciones genitales por el mismo microorganismo (18,140,152); de hecho, la mayor incidencia se presenta entre la población sexualmente activa (18 a 40 años), lo cual significa que la principal vía de transmisión es: genitales-manos-ojos (18,44,80,152).

Sin embargo, también se han reportado numerosos casos tanto de niños como de adultos que la han adquirido al bañarse en albercas en las que el agua contiene exudados y/o secreciones genitales u oculares; por esta razón, en la antigüedad se le denominaba "conjuntivitis de las piscinas" (18,80,140,154).

Las investigaciones realizadas en personas voluntarias han permitido determinar que la enfermedad tiene un período de incubación de 2 a 14 días y que su establecimiento depende de la concentración de microorganismos infectantes; además, al estudiarse su cuadro clínico se ha observado que puede

curar en forma benigna curando espontáneamente sin dejar secuelas o bien, de manera más severa provocando síntomas indiferenciables de los que se originan en el tracoma (79,140,152).

Los signos iniciales de la conjuntivitis por inclusión son sensación de cuerpo extraño, pesadez de párpados y exudado mucopurulento en uno o ambos ojos (140,152). En los casos leves existe hiperemia (congestión), hipertrofia de los folículos tarsales y acumulación de células plasmáticas en la región subepitelial; sin embargo, en los más graves suele haber opacidad corneal, desarrollo de pannus y cicatrización de la conjuntiva, tal como sucede en el tracoma (140). A pesar de lo anterior, no se ha encontrado a la fecha ninguna evidencia de que el padecimiento ocasione ceguera (154).

Cabe mencionar que las infecciones experimentales originadas en voluntarios humanos han demostrado que la presencia de pannus y la opacidad de la córnea sólo se presentan en los individuos que son inoculados por segunda vez, lo cual apoya la tesis de que ambas alteraciones son consecuencia de estados de hipersensibilidad (140).

Por otro lado, se ha observado que la enfermedad ocular a menudo se acompaña tanto por afecciones respiratorias (faringitis y/o rinitis) debido posiblemente al desplazamiento de algunos microorganismos a través del

conducto nasolagrimal, como por otras del conducto auditivo (otitis y otalgia). en virtud de que éste constituye una extensión del tracto respiratorio (80,140,152).

Conjuntivitis neonatal.

Desafortunadamente, los recién nacidos también pueden adquirir la conjuntivitis por inclusión. Tal como lo demostraron Jones y cols en 1959, el bebé adquiere esta infección durante su nacimiento al pasar por un canal de parto infectado (74,75,131,152). En este caso, el periodo de incubación varía de 3 a 19 días y la enfermedad se considera benigna porque generalmente no deja secuelas y la curación suele ser espontánea después de varias semanas (131).

Desde el punto de vista clínico, la sintomatología es similar a la que se presenta en otros grupos etarios, con la diferencia de que, en los neonatos, la hipertrofia folicular no es tan marcada; ésto bien puede deberse a que su tejido linfoide aún se encuentra disperso (131).

Sin embargo, existen reportes de que pueden sobrevenir formas más severas que se prolongan hasta por dos años; en tales casos, entre las principales alteraciones destacan un prominente edema en el fondo de saco conjuntival, la vascularización de la córnea (pannus) y la aparición de pseudomembranas en la conjuntiva que eventualmente originan

la formación de cicatrices (74,131,152).

Cabe señalar que también pueden presentarse complicaciones que involucran a los tractos respiratorio y gastrointestinal, al conducto auditivo y con menor frecuencia a vulva y vagina (131,152).

4.2. Enfermedades genitales.

En los últimos años, los serotipos D a la K de *C. trachomatis* se han considerado entre los dos principales agentes etiológicos de entidades clínicas de transmisión sexual. Entre los padecimientos más importantes pueden mencionarse la cervicitis, endometritis, salpingitis y enfermedad inflamatoria pelviana en la mujer, mientras que en el hombre destacan la uretritis no gonocócica, epididimitis y prostatitis (18,24,44,48,60,78,80,107,128,129,135,154,201).

Cervicitis.

C. trachomatis se aisló por primera vez del cuello uterino por Jones y Collier en 1959, no obstante, la relación entre este hallazgo y la enfermedad inflamatoria cervical fue descrita hasta 1964 por Dunlop y cols (129).

Las investigaciones realizadas acerca de la cervicitis han demostrado que la bacteria invade las células que forman parte de la zona de transición del epitelio cilíndrico a

plano estratificado. De hecho, mediante biopsias de esta región se han podido observar las características inclusiones intracitoplásmicas producidas por el parásito y, desde el punto de vista clínico, se ha comprobado que su reproducción en este tejido provoca hipertrofia folicular, formación de edemas y eritemas y una secreción vaginal mucopurulenta (74,131,129,152). Por su parte, los análisis histológicos revelan que la infección causa daños tisulares severos cuyos procesos de reparación dan lugar a atipias tales como metaplasia y displasia generalmente acompañadas por gran cantidad de leucocitos y restos celulares (44,129,135,188). Cabe señalar que algunos autores mencionan que dichas alteraciones citológicas son indistinguibles de las que se presentan en el carcinoma cervical; sin embargo, se requieren más estudios para lograr establecer si el microorganismo desempeña algún papel en el desarrollo de este tipo de neoplasia (129,135).

Por otro lado, se ha observado que las mujeres que padecen erosiones fisiológicas del cérvix (extensión del epitelio cilíndrico hacia el área cubierta normalmente por el plano estratificado) manifiestan una mayor tendencia a la infección. Esto se debe probablemente a que *Chlamydia* desarrolla eficazmente en las células de epitelios cilíndricos; además, se ha demostrado que el empleo de anticonceptivos orales favorece la aparición de dichas

erosiones y, por consiguiente, aumenta el riesgo de adquirir la enfermedad (129,135,152). Esto fue confirmado al establecer estudios comparativos entre mujeres que utilizaban este tipo de anticonceptivos y otras que usaban métodos de barrera tales como los diafragmas; los resultados mostraron que estas últimas evidenciaban un menor grado de susceptibilidad a la infección (129). En todo caso, se ha comprobado que existe una mayor incidencia, tanto de partos prematuros como de morbilidad perinatal, en pacientes afectadas por esta enfermedad (201).

Experimentos efectuados en primates han apoyado la teoría de que las personas con cervicitis clamidial están expuestas a que el microorganismo alcance la cavidad uterina e inclusive las trompas de Falopio, ocasionándoles endometritis y salpingitis, respectivamente (18,107).

Endometritis.

La endometritis es considerada por muchos autores como un padecimiento intermedio entre la cervicitis y la salpingitis, ya que aproximadamente el 90% de las mujeres que la padecen presentan también invasión de las trompas (78,152,154).

Entre los síntomas que caracterizan a esta afección pueden mencionarse el dolor en la porción inferior del

abdomen, fiebre, menorragia y episodios irregulares de sangrado. El análisis histológico del endometrio revela inclusiones intracitoplásmicas en el epitelio y signos de inflamación aguda que incluyen una infiltración de células plasmáticas y leucocitos polimorfonucleares, edema e hiperemia (78). Además, se ha observado que en casos de endometritis crónica, se pueden desarrollar adherencias intrauterinas características del "síndrome de Ascherman", el cual se asocia frecuentemente a problemas de infertilidad (78).

Salpingitis.

Está comprobado que cuando la bacteria se establece en las células epiteliales de las trompas de Falopio, se inicia un proceso inflamatorio con infiltración de leucocitos polimorfonucleares y linfocitos, que da lugar a la formación de edema e hidrosalpinge y a la excreción de exudados purulentos. En algunos pacientes dicha inflamación suele extenderse hasta la superficie serosa y se resuelve por fibrosis (107).

La sintomatología clásica de este padecimiento es similar a la de la endometritis, sin embargo, también se presentan otras alteraciones tales como vómito, secreciones vaginales anormales, proctitis, distensión de los órganos pélvicos, y un aumento de frecuencia de sangrado durante el

ciclo menstrual. El análisis de muestras de sangre revela un elevado índice de eritrosedimentación (107,152,154).

Una de las consecuencias más graves de esta enfermedad es la infertilidad; ésta sobreviene por la obstrucción de las trompas debida a la hidrosalpinge y a la fibrosis. Según los estudios realizados en este sentido, más del 60% de las mujeres con este problema no presenta síntomas de cervicitis, endometritis o salpingitis; basándose en lo anterior y en los resultados de los análisis serológicos practicados a numerosas pacientes, varios autores sugieren que estas tres enfermedades pueden cursar en forma asintomática (22,107).

Aunque algunos investigadores mencionan que la infertilidad no se relaciona con infecciones genitales por *C. trachomatis*, la mayoría asegura lo contrario basándose en las siguientes razones (22):

- la infertilidad frecuentemente aparece después de padecimientos subclínicos y los causados por *Chlamydia* pertenecen comunmente a este tipo.
- los estudios epidemiológicos demuestran que la salpingitis no gonocócica, cuyo principal agente etiológico es *C. trachomatis*, culmina más frecuentemente en infertilidad que la de origen gonocócico.
- la fibrosis es un fenómeno común en los casos de infertilidad y constituye un rasgo característico

de las afecciones clamidiales.

Enfermedad inflamatoria pelviana.

La enfermedad inflamatoria pelviana (EIP) se define como una infección del útero y las trompas de Falopio que se acompaña por peritonitis pelviana y perihepatitis. Muchos de sus síntomas son similares a los de la salpingitis pero, además, existen abscesos anexos a la cavidad uterina que pueden detectarse al tacto (54,128).

Un aspecto digno de comentario es el hecho de que la EIP también puede cursar en forma asintomática hasta el momento en que se manifiestan sus consecuencias graves. Entre éstas, las más relevantes son los embarazos ectópicos, dolor abdominal crónico y la infertilidad debida a la obstrucción de las trompas y a la formación de adherencias por la intensa inflamación del peritoneo (54,126,138).

Algunos autores han reportado que el empleo de dispositivos intrauterinos aumenta el riesgo de adquirir EIP y favorece que se obstruyan ambas trompas (54). Por otro lado, se ha demostrado que las mujeres que padecen cervicitis clamidial y se someten a legrados, se exponen a que el parásito sea introducido al útero durante la manipulación y adquieran dicha afección (126).

Uretritis no gonocócica.

En el varón, la más común de las enfermedades clamidiales es la uretritis (82,152,201); es importante mencionar que la mayoría de los investigadores la denominan uretritis no gonocócica (UNG) debido a que, hasta hace algunos años, se consideraba que *N. gonorrhoeae* era el principal agente etiológico de este padecimiento. Sin embargo, a partir de 1960 se ha demostrado que *C. trachomatis* es responsable del 30 al 60% de los casos y que aproximadamente el 65% de los pacientes presenta infección mixta por ambas bacterias (18,152,154,201). Entre otros microorganismos causantes de UNG puede mencionarse a *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Ureaplasma urealyticum* (82,152).

Desde el punto de vista clínico, puede señalarse que la afección tiene un periodo de incubación que varía entre 10 y 20 días, después del cual la uretra manifiesta lesiones foliculares en cuyos raspados puede detectarse la presencia de inclusiones intracitoplásmicas e infiltrados subepiteliales de macrófagos, linfocitos y leucocitos polimorfonucleares (18,82); así mismo, existe disuria, descarga de una secreción purulenta y polaquiuria (80,82).

Cabe señalar que en más del 25% de las personas, la enfermedad cursa en forma asintomática, lo cual provoca una

considerable diseminación del microorganismo entre los individuos sexualmente activos (168).

Otros estudios han comprobado que *C. trachomatis* es el principal agente etiológico de la uretritis postgonocócica (UPG). Esta se presenta en aquellos pacientes que han padecido previamente la infección mixta por esta especie y *N. gonorrhoeae* y, después de finalizado un tratamiento que sólo es efectivo contra el gonococo, experimentan los síntomas clásicos de la uretritis clamidial (18,82,154).

En la mayoría de las ocasiones, las infecciones clamidiales de las vías urinarias curan espontáneamente después de 3 a 8 semanas, sin embargo, en un considerable número de casos pueden presentarse complicaciones que agravan el cuadro y lo prolongan durante meses (82); entre ellas, destacan la epididimitis, la prostatitis y el estrechamiento uretral (39,152,154).

Epididimitis.

Investigaciones realizadas en primates han demostrado que *Chlamydia* puede desplazarse desde la uretra al epidídimo a través del conducto deferente, originando una epididimitis caracterizada por el crecimiento doloroso de uno o ambos testículos (39). La consecuencia más grave del padecimiento radica en la infertilidad debida a la oligospermia (menos de

20 x 10⁶ espermatozoides por mililitro); además de la disminución en la cuenta espermática, se sugiere que ocurre la producción de anticuerpos anti-esperma que aglutinan a los espermatozoides contrarrestando su movilidad (39).

Prostatitis.

De esta enfermedad, existen evidencias respecto a que acompaña del 30 al 100% de los casos de UNG; sus síntomas principales son micción frecuente, ardor al orinar, eyaculación difícil y dolorosa, así como molestias abdominales y perineales; otros signos de menor incidencia como artralgia, conjuntivitis e iridociclitis, dependen de la diseminación linfohematógena del microorganismo (39).

El estrechamiento uretral suele ser una secuela de la uretritis que podría tener relación con algunos de los cuadros prostáticos. Sin embargo, se requieren más estudios para lograr establecer el papel de *C. trachomatis* en este tipo de trastornos (18,39).

4.3. Enfermedades en otras regiones anatómicas.

Faringitis.

Los trabajos realizados en 1983 por Komaroff y cols (90,174) en personas que padecían faringitis, proporcionaron

evidencias serológicas de que *C. trachomatis* es un agente etiológico importante de esta enfermedad; no obstante, investigaciones más recientes llevadas a cabo por Huss y Jungkind (77) sugieren que esta bacteria no desempeña un papel fundamental en el desarrollo de este padecimiento, en virtud de que no pudieron aislarla a partir de exudados faríngeos que se practicaron a individuos afectados. Estos últimos autores tratan de apoyar su deducción planteando la posibilidad de que el elevado título de anticuerpos anti-clamidia al que hace referencia Komaroff, se deba a que el microorganismo se encuentre ocasionando infección asintomática en otras regiones anatómicas y no necesariamente en la faringe (77).

Sin embargo, como ya se ha mencionado, son muchos los investigadores que han comprobado la capacidad de esta especie para causar afecciones en todo el tracto respiratorio (15, 152, 154, 181, 201).

Neumonía.

Estudios efectuados en niños que adquirieron conjuntivitis por inclusión en el momento del parto, han revelado que un gran número de ellos desarrolla cuadros de neumonía a los 3 ó 4 meses de edad, los cuales por lo general se acompañan por rinitis, faringitis y otitis (74, 93, 115, 152, 154). Schachter y cols (151) confirmaron este fenómeno al

aislar a *C. trachomatis* tanto de esputo como de raspados nasofaríngeos estableciendo que ello puede deberse al drenaje del exudado conjuntival por la nasofaringe o bien, a la aspiración de las secreciones oftálmicas.

En cuanto a los síntomas del padecimiento, los autores han coincidido en señalar que los más frecuentes son taquipnea, cianosis, vómito y accesos tusígenos similares a los que provoca *B. pertussis* pero sin el estertor característico; además, ocasionalmente pueden detectarse ruidos crepitantes en los pulmones y ronquera. Las radiografías del tórax muestran infiltrados intersticiales, hiperventilación y en algunos casos, derrame pleural uni o bilateral; refiriéndose a los análisis de sangre, éstos manifiestan una eosinofilia aproximada de 300 células/mm³. Es importante mencionar que cuando se trata de recién nacidos de bajo peso, la sintomatología es aún más acentuada llegando inclusive a provocar displasia broncopulmonar (7).

Por su parte, otros investigadores han publicado que la neumonía puede presentarse como infección primaria en niños que, habiendo estado expuestos al microorganismo durante su nacimiento, no desarrollaron el padecimiento ocular (153,144).

Cabe señalar que los pacientes con esta enfermedad suelen experimentar trastornos gastrointestinales como

consecuencia de la deglución de las secreciones pulmonares (131,152).

Sin embargo, no sólo los neonatos son afectados por esta entidad clínica: a la fecha, se han reportado numerosos casos de adultos e incluso ancianos que han sufrido neumonías por *C. trachomatis* (15,117,174) cuya sintomatología es similar a la antes mencionada con la diferencia de que ocasionalmente puede haber fiebre elevada (174).

Perihepatitis.

El síndrome de Fitz-Hugh-Curtis o perihepatitis, incluye la inflamación de la superficie del hígado y el peritoneo que recubre a la pared abdominal adyacente y normalmente se relaciona con la EIP (68,127). Es originada por el desplazamiento transperitoneal de la bacteria, desde los órganos genitales hasta la zona mencionada (160).

Hace algunos años, se pensaba que el único microorganismo responsable de este padecimiento era *N. gonorrhoeae*, sin embargo, a partir de 1978 se sabe que es *C. trachomatis* la causante de la mayoría de los casos (127,160).

Mediante estudios laparoscópicos practicados a pacientes enfermas, se logró observar que, en el estadio agudo de la enfermedad, el hígado y el peritoneo se encuentran

enrojecidos y cubiertos por pequeños puntos blancos de fibrina o por placas fibrinosas, mientras que en el crónico se desarrollan adherencias entre la superficie hepática y la pared abdominal. Por otra parte, las radiografías revelan una reducción en la movilidad del diafragma asociada generalmente con un aumento en la cantidad de fluido intrapleural y los análisis de sangre denotan una elevación en el número de glóbulos blancos, así como un incremento en el índice de eritrosedimentación (68).

En cuanto a los intentos por cultivar al agente etiológico, es importante mencionar que en 1982 se logró aislar por primera vez a *C. trachomatis* a partir de muestras provenientes del hígado (198).

Por otro lado, las biopsias de este órgano permiten detectar un engrosamiento de su tejido superficial y la proliferación de capilares. También puede verificarse la existencia de una gran infiltración de leucocitos polimorfonucleares y células plasmáticas (68). Con respecto a la sintomatología, se ha observado que se presenta un dolor intenso en el cuadrante superior derecho del abdomen, el cual se acentúa con los movimientos corporales comunes, tales como la torsión del tronco y los que se originan al toser, reír, respirar, estornudar, etc. En ocasiones, este malestar puede extenderse hasta el hombro e incluso imposibilitar el empleo adecuado del brazo (68,160).

Síndrome uretral.

Es un padecimiento que se presenta en la mujer y se define como una infección del tracto urinario inferior que no involucra a la vejiga (24,48,129). Sus síntomas característicos son micción frecuente, disuria y piuria (24,129). Puede manifestarse en forma aguda, en la cual los signos clásicos surgen espontáneamente y se mantienen durante varios días, o bien, como afección crónica, en la que la sintomatología aparece y desaparece durante meses o años (24).

Las investigaciones realizadas acerca de la frecuencia de la enfermedad demuestran que *C. trachomatis* es causante del 50% de los casos de síndrome uretral agudo y que no figura entre los agentes etiológicos importantes de la forma crónica (24).

Enfermedad de Reiter.

Las entidades clínicas que caracterizan a esta afección son artritis, uretritis y conjuntivitis, sin embargo, existen otras manifestaciones menos frecuentes entre las que destacan la balanitis (inflamación del glande y prepucio), lesiones en la mucosa oral y en las uñas, queratodermia blenorragica (hipertrofia de la piel con la presencia de un flujo mucoso), uveítis (inflamación de la región pigmentada del ojo) y

algunas complicaciones de los sistemas nervioso y cardiovascular (92).

El padecimiento puede ser precedido en algunas ocasiones por una enteritis causada por *Salmonella*, *Shigella flexneri*, *Yersinia sp.* y *Campylobacter fetus subsp jejuni*, o bien, como sucede generalmente, por alguna infección urogenital de transmisión sexual como la uretritis no gonocócica (92,108).

Los estudios efectuados por Martin y cols demuestran que cuando *C. trachomatis* se encuentra ocasionando UNG, suele desencadenar posteriormente la enfermedad de Reiter en personas susceptibles (108).

Los primeros intentos por aislar a este microorganismo de diversas muestras de los pacientes afectados por este padecimiento, fueron realizados por Siboulet y Galistin en 1962; estos investigadores lograron cultivarlo en huevos embrionados inoculados con especímenes provenientes de la conjuntiva o de la uretra, pero no fue sino hasta 1965 cuando Amor lo recuperó después de sembrar líquido sinovial. Desde esta fecha, se han reportado numerosos trabajos en los que se ha obtenido el desarrollo de la bacteria (92).

Desafortunadamente, otras publicaciones aseguran que la especie en cuestión está involucrada en otras artropatías graves tales como la espondilitis anquilopoyética (disminución de la movilidad de la columna vertebral debida a

procesos inflamatorios en sus articulaciones) y en la enfermedad de Bechterew o espondilitis deformante (inflamación de las vértebras que ocasiona deformación de la columna vertebral)(92).

Finalmente, cabe señalar que se han encontrado evidencias de que *C. trachomatis* puede ser agente causal de afecciones comunmente debidas a otros microorganismos; en este contexto, se debe considerar a la endocarditis, coroiditis, meningoencefalitis y algunas alteraciones de la piel tales como eritema nodoso y la pitiriasis rosada (117).

5. Inmunidad.

Numerosos trabajos han proporcionado información relacionada con el hecho de que *C. trachomatis* induce en el huésped una respuesta inmune humoral y celular (19,23,75,126, 152,154).

En cuanto a la primera, se ha demostrado que las infecciones clamidiales por lo general estimulan la producción de anticuerpos tanto de las clases IgG e IgM (detectables en el suero) como de IgA local (que puede ponerse de manifiesto en las lágrimas y las secreciones oculares y genitales)(19,44,90,92,96,107,152,165,201).

Considerando la evolución de la enfermedad, puede señalarse que aproximadamente una semana después del

establecimiento del microorganismo, existe un rápido incremento de IgM, si bien ésta disminuye en los 10 días siguientes cuando, por cierto, empieza a aparecer la IgG. El continuo contacto de la bacteria con el sistema inmunológico de la persona ocasiona una elevación de esta última que se mantiene por varios meses (10). Lo anterior sugiere que la presencia de IgA local y de altas concentraciones de IgM es indicativa de infección activa, mientras que los valores altos de IgG implican la posibilidad de padecimientos anteriores, o bien, de que el paciente se encuentra en período de convalecencia (131,152).

Por otro lado, Osser y Persson comprobaron que la IgG sérica confiere relativa protección durante algún tiempo, al observar que las pacientes que habían padecido cervicitis, no desarrollaban salpingitis posterior a los legrados tal como sucedía a las que nunca sufrieron aquella enfermedad. Sin embargo, se han encontrado evidencias de que esta inmunidad temporal es de alguna manera específica, ya que sólo protege contra cepas homólogas a las que produjeron la afección primaria (126); de hecho, es común que se presenten reinfecciones por otros serotipos (62,75,131).

En el caso particular de la neumonía neonatal, se ha demostrado que existen niveles elevados de IgM sérica anti-*C. trachomatis* y ello constituye la base para efectuar su diagnóstico. En contraste, en las entidades clínicas tales

como la coroiditis, meningoencefalitis y dermatitis, es la IgG la que manifiesta incrementos considerables (74,96,117, 152,154,155).

Por lo que se refiere a la infertilidad ocasionada por esta especie bacteriana, las investigaciones revelan que el suero de las mujeres afectadas contiene títulos elevados de anticuerpos IgG dirigidos contra un antígeno clamidial de 57,000 daltons; sin embargo, la detección de este fenómeno inmunológico no confirma que *C. trachomatis* sea la causante de la anomalía (22).

Es importante señalar que las personas afectadas por salpingitis pueden presentar autoanticuerpos antinucleares u otros que reaccionan con músculo liso. La razón por la que tiene lugar este proceso autoinmune se desconoce, pero se piensa que puede deberse a que microorganismo y huésped comparten alguna determinante antigénica (6,107,173).

Por lo que respecta a la respuesta inmune celular, es interesante hacer notar que es poco lo que se conoce, no obstante, hasta la fecha se ha recopilado la siguiente información:

- *C. trachomatis* puede inducir una elevación en el número de linfocitos B periféricos y estimular su diferenciación a células plasmáticas productoras de IgG e IgM policlonales; empero, sólo el 1% de éstas

- está dirigido en contra de antígenos clamidiales (8,97,173).
- Los linfocitos T asesinos o citotóxicos no actúan destruyendo a las células del huésped que contienen clamidias (125,137).
 - Los leucocitos polimorfonucleares requieren de la previa opsonización del parásito para poder fagocitarlo (67).
 - *Chlamydia* muestra efectos quimiotácticos sobre leucocitos polimorfonucleares como resultado de su capacidad para activar el complemento y, por ende, de inducir la formación del factor C_{3a} (113).
 - En padecimientos oculares endémicos tales como el tracoma, en los que existe en contacto continuo con el microorganismo, parecen estimularse los linfocitos T supresores, los cuales evitan la proliferación de leucocitos mononucleares periféricos; en consecuencia, se produce una notable disminución de la respuesta inmune celular y, como ésta es esencial para que sane este tipo de afecciones, lo anterior podría constituir el motivo de la tendencia que muestran éstas hacia la cronicidad (200).

III. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO.

Como es sabido, el diagnóstico de laboratorio se clasifica en directo e indirecto. El primero, se caracteriza por el empleo de técnicas encaminadas a poner de manifiesto al agente causal en las muestras provenientes de los tejidos afectados; en contraste, el segundo intenta establecer la etiología de una enfermedad, fundamentándose en la detección o cuantificación de anticuerpos séricos dirigidos contra antígenos extracelulares y/o superficiales del(los) microorganismo(s) sospechoso(s) (38,96).

1. Diagnóstico directo.

Durante mucho tiempo el único recurso diagnóstico con el que contaban los laboratorios para detectar a *C. trachomatis* consistía en preparar extendidos de los raspados que se obtenían de las lesiones, los cuales se teñían mediante los métodos de Giemsa y/o yodo; posteriormente, buscando elevar la sensibilidad, se introdujeron las técnicas de inmunofluorescencia, sin embargo, éstas no proporcionaron los resultados esperados, aunque evidenciaron cierta mejoría en relación con los anteriores. Así, surgió la necesidad de incorporar los cultivos celulares para que el microorganismo se multiplicara antes de que se practicaran las tinciones mencionadas (177).

En la actualidad, se cuenta con pruebas tales como el inmunoensayo enzimático (EIA) y la de inmunofluorescencia con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína, que son casi tan sensibles como el cultivo pero más específicas, rápidas y costeables (16,50,106,133,145,159,179,180,196).

1.1. Recolección, transporte y almacenamiento de las muestras.

Tal como sucede en otro tipo de enfermedades, el éxito del diagnóstico de las infecciones clamidiales depende no sólo de la sensibilidad, confiabilidad y manejo de las técnicas seleccionadas, sino también de que las muestras sean recolectadas, transportadas y almacenadas en condiciones óptimas (1,38,86,96,104,184,196).

En cuanto a la recolección, los raspados con hisopo se consideran efectivos para obtener especímenes en los cuales se pueden investigar padecimientos tales como cervicitis, uretritis, faringitis e inclusive tracoma y conjuntivitis por inclusión, ya que la utilización de la espátula de Kimura suele resultar traumática para el paciente (38,83).

Con la finalidad de que dichos raspados sean representativos se recomienda:

- Llevar a cabo la previa limpieza del área

involucrada para eliminar secreciones que puedan contener anticuerpos o cualquier otra sustancia que inhiba el desarrollo de la bacteria en cuestión ; con esta finalidad, se pueden emplear hisopos estériles humedecidos con solución salina isotónica (96).

- Utilizar hisopos estériles de dacrón, algodón o rayón, con mango de plástico o aluminio, ya que tanto los aplicadores de madera como los que se confeccionan con alginato de calcio son tóxicos para *Chlamydia* (104).
- Frotar vigorosamente las regiones afectadas para que las células epiteliales en cuyo interior se encuentran los microorganismos sean desprendidas del tejido (38).

En resumen, una muestra adecuada es aquella que incluye un número suficiente de células epiteliales infectadas.

En el caso de la cervicitis, es importante realizar el raspado en la zona de transición de epitelios ubicada en el cuello uterino; en las uretritis, el hisopo se introduce 3 a 5 cm a través de la uretra y, en las oculares, es conveniente invertir el párpado superior y frotar la conjuntiva tarsal. Por lo que toca a la proctitis, el raspado debe provenir de las lesiones detectadas por anoscopia (38,83,96).

Para investigar salpingitis y/o endometritis, deben obtenerse biopsias del tejido afectado mediante laparoscopia; no obstante, cuando se carece del equipo y la práctica necesaria, puede recurrirse al lavado uterino con SSI estéril, ya que éste constituye una opción medianamente aceptable para extraer clamidias del endometrio (38).

Por tradición, el espécimen que se analiza para diagnóstico de linfogranuloma venéreo corresponde al pus que se encuentra dentro de los bubones; éste se succiona con una jeringa cuya aguja se introduce en el nódulo linfático inflamado (96).

Por lo que se refiere al transporte de las muestras, está comprobado que resulta indispensable utilizar ciertos medios cuando aquéllas no se van a procesar inmediatamente después de su recolección. En este sentido, los autores han coincidido en señalar que el que preserva durante mayor tiempo la viabilidad de *C. trachomatis* es el 2-sacarosa-fosfato (2-SP) suplementado con 5 a 10% de albúmina sérica bovina, 20 a 40% de suero fetal de ternera, 50 µg/ml de estreptomycin, 100 µg/ml de vancomicina y 25U/ml de Nistatin; los antibióticos emencionados no muestran actividad anti-clamidial y sí inhiben o eliminan microorganismos contaminantes (1,38).

Otro medio recomendado por los investigadores es el

sacarosa-fosfato-glutamato (SPG)(1).

Cabe destacar la imperiosa necesidad de mantener los medios de transporte inoculados en refrigeración o, en su defecto, en un recipiente con hielo cuando las muestras se van a procesar antes de 48 h. En el caso de que dicho tiempo se prolongue, deben almacenarse a -70°C o en nitrógeno líquido (-176°C)(1).

1.2. Análisis de las muestras.

1.2.1. Detección de las inclusiones intracitoplásmicas.

Como ya se ha mencionado, *C. trachomatis* origina la formación de inclusiones intracitoplásmicas en la célula dentro de la cual se reproduce; por esta razón, varias de las técnicas empleadas para efectuar el diagnóstico directo se basan en la detección de dichas estructuras. En este contexto, la tinción con yoduro y la de Giemsa figuran entre las más utilizadas (38,96).

Una vez obtenida la muestra, se preparan extensiones en portaobjetos; éstas se dejan secar al aire y después se fijan introduciéndose en metanol absoluto durante 30 minutos; finalmente se tifen mediante el método seleccionado (96).

Si se elige la tinción de Giemsa, las preparaciones se sumergen en el colorante correspondiente y una hora después

se sacan para enjuagarlas rápidamente con alcohol etílico al 95%; ya que secan, pueden observarse con el objetivo de inmersión: los CE's se tiñen de púrpura, los CR's de azul y las inclusiones resaltan en el citoplasma grisáceo contrastando también el núcleo rosa de la célula huésped (38).

Por su parte, la técnica del yoduro se fundamenta en el hecho de que los CR's sintetizan gran cantidad de glucógeno, el cual se tiñe con compuestos yodurados. Luego entonces, se adicionan unas gotas de lugol sobre el extendido y se dejan reaccionar durante 3 a 5 minutos; posteriormente se coloca un cubreobjetos y se efectúa la observación: las inclusiones aparecen como una masa pardo rojiza visible a poco aumento. Este es el método menos sensible (38,96).

1.2.2. Tinción de los CE's con anticuerpos policlonales marcados con fluoresceína.

Las técnicas que incluyen el empleo de anticuerpos fluorescentes, se fundamentan básicamente en la especificidad de la reacción antígeno-anticuerpo y de las propiedades fisicoquímicas especiales de ciertos colorantes conocidos como fluorocromos; estos últimos tienen la capacidad de absorber luz de pequeña longitud de onda y emitir instantáneamente una luz de longitud de onda mayor. Los fluorocromos que habitualmente se emplean para marcar

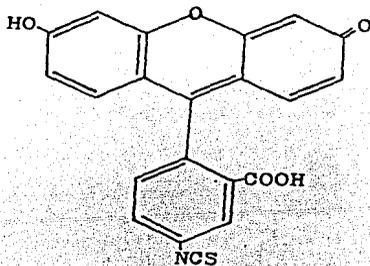
(conjugar) anticuerpos son fluoresceína y rodamina (generalmente bajo la forma de isotiocianatos) y producen una fluorescencia amarillo verdosa y rojo naranja, respectivamente (figura 2); aún cuando ambos proporcionan buenos resultados, el isotiocianato de fluoresceína tiene dos ventajas importantes sobre el de rodamina (51):

- el ojo humano es más sensible a la fluorescencia amarillo verdosa
- es más común observar autofluorescencia de tono rojizo que amarillo verdoso.

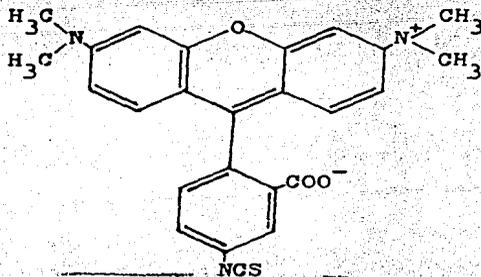
Las pruebas de inmunofluorescencia involucran tanto métodos directos como indirectos; en general, los primeros se aplican para identificar antígenos desconocidos, mientras que los segundos pueden emplearse para efectuar la detección de anticuerpos séricos y también investigar antígenos.

Para llevar a cabo la técnica directa (figura 3), las extensiones de la muestra problema se cubren con el anticuerpo específico marcado con fluoresceína; una vez que transcurre el tiempo de incubación adecuado, el anticuerpo que no reaccionó, se elimina mediante lavados y, posteriormente se procede a examinar la preparación al microscopio de luz UV para establecer la presencia o ausencia del antígeno correspondiente.

Por otro lado, el método indirecto (figura 4), se



Isotiocianato de fluoresceína



Isotiocianato de tetrametilrodamina

Figura 2. Fluorocromos más empleados en las reacciones de inmunofluorescencia.



Figura 3. Inmunofluorescencia directa.

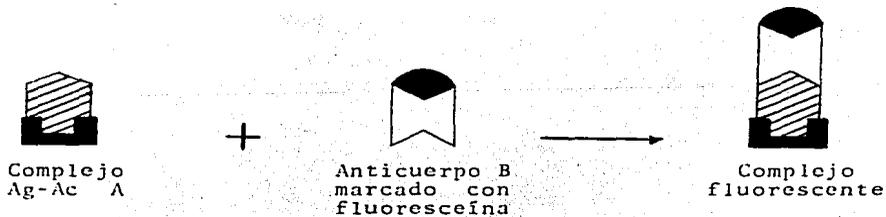


Figura 4. Inmunofluorescencia indirecta.

realiza en dos etapas: en la primera, se hace reaccionar al antígeno con su anticuerpo y, en la segunda, se adiciona otro anticuerpo (anti-gammaglobulina) marcado con fluoresceína, que permitirá revelar la reacción antígeno-anticuerpo inicial y, con ello detectar la presencia del antígeno o anticuerpo en estudio según sea el caso (51,142).

De cualquier manera, tanto en la prueba directa como en la indirecta, se preparan varias extensiones de la muestra en la que se sospecha que se encuentra *C. trachomatis* y, ya que han secado al aire, se fijan con acetona fría (-20°C). Es importante subrayar que si dichos frotis no van a utilizarse de inmediato, deben almacenarse a temperaturas de -20 a -70°C (96).

Inmunofluorescencia directa.

En esta técnica, las preparaciones se cubren directamente con 20 µl de suero anti-*C. trachomatis* marcado con fluoresceína; posteriormente se incuban durante 30 minutos en cámara húmeda, se lavan con PBS (pH=7.2) y se montan antes de observarse al microscopio de fluorescencia (148).

Inmunofluorescencia indirecta.

El método indirecto se considera más apropiado porque

los reactivos se distribuyen comercialmente y suele proporcionar mayor sensibilidad al diagnóstico.

Su realización inicia con la adición de 20 µl de suero policlonal anti-*C. trachomatis* preparado en conejo sobre los extendidos y éstos se incuban 30 minutos en cámara húmeda; previo lavado con PBS, se añaden 20 µl de suero anti-gammaglobulina de conejo (obtenido en cabra) marcado con fluoresceína y después de incubarse y lavarse como en los pasos anteriores, se montan y observan al microscopio de fluorescencia (38,96).

En ambas pruebas la visualización de fluorescencia es indicativa de la presencia del microorganismo.

1.2.3. Aislamiento de *C. trachomatis* en cultivos celulares.

Indudablemente, entre los métodos empleados para efectuar el diagnóstico de las enfermedades ocasionadas por *C. trachomatis*, el de mayor confiabilidad consiste en aislar a dicho microorganismo en cultivos celulares (139,143,146); de hecho, tanto las pruebas antiguas como las más recientes y sofisticadas han sido evaluadas por los investigadores tomándolo como referencia y, a la fecha, ninguna ha rebasado su gran efectividad; por ejemplo, comparadas con el aislamiento, las tinciones directas de las muestras con anticuerpos policlonales y Giemsa muestran una sensibilidad

aproximada de 50 y 35% respectivamente y en la más aceptada de las técnicas modernas dicho valor varía entre 95 y 97% (99,167,197).

Por lógica, el alto índice de detección que proporciona el cultivo tiene origen en el siguiente planteamiento: "aunque la muestra contenga sólo algunas clamidias viables, después de 48 a 72 h de incubación, el número de éstas se habrá incrementado a un grado tal, que no quedarán dudas acerca de su presencia".

Sin embargo, no todos los laboratorios cuentan con los recursos suficientes para adoptar este método diagnóstico, ya que su costo es elevado y requiere de personal especializado (50,133,180,185).

La muestra se saca del refrigerador o el congelador (según sea el caso) y ya que haya alcanzado la temperatura ambiente, se agita 1 min en Vórtex; posteriormente, se centrifuga 3 min a 600g, se descarta el sobrenadante y, con una pipeta Pasteur se extraen entre 0.2 y 0.5 ml del sedimento para distribuirlos sobre las monocapas de células Mc Coy ; los portaobjetos en los que se encuentran los cultivos celulares inoculados se introducen en frascos viales dentro de los cuales se centrifugan a 2,500g durante 1 h, se enjuagan con PBS, se les adiciona el medio de reproducción (mínimo esencial de Eagle o el 199 suplementados con

cicloheximida) y se incuban a 35°C durante 48-72 h. Una vez transcurrido ese tiempo, las monocapas se lavan con PBS y se tiñen por alguna de las tres técnicas de tinción descritas anteriormente (Giemsa, yoduro o inmunofluorescencia); como se recordará, éstas se consideran poco sensibles pero ello se refiere a la tinción directa de las muestras del paciente (38,96,133,185,197).

Cabe mencionar que el empleo de cultivos celulares ha desplazado a la inoculación en saco vitelino de huevos embrionados en lo que respecta a diagnóstico; actualmente, ésta sólo se utiliza para obtener antígenos que participan en varios métodos de diagnóstico indirecto (58,96,152).

1.2.4. Detección de CE's con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína.

Tanto el fundamento como la técnica de esta prueba coinciden plenamente con lo descrito para la de inmunofluorescencia directa; la única variante significativa radica en el hecho de que, en este caso, se emplean anticuerpos monoclonales dirigidos contra la MOMP de *C. trachomatis*, lo cual aporta una gran especificidad y exactitud al diagnóstico, hasta el extremo de que el porcentaje de falsos negativos es casi despreciable (106,196).

Tal como se ha hecho notar con anterioridad, la eficiencia de los métodos se mide de acuerdo al grado de correlación que existe entre sus resultados y los que se obtienen mediante el aislamiento del microorganismo en cultivos celulares. En este sentido, a la prueba de inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales se le concede una sensibilidad del 95 al 97% en relación a la técnica reconocida como referencia, pero la supera en los siguientes aspectos:

- es más rápida, costeable y no requiere de personal altamente especializado (16,179).
- no necesita que las muestras sean transportadas ni almacenadas bajo condiciones especiales porque detecta a los CE's aunque ya hayan perdido su viabilidad (145,150).
- sus resultados son altamente reproducibles aunque las muestras incluyan sustancias que suelen ser tóxicas para los cultivos celulares (136,150,196).

Otras de sus notables ventajas son: es útil para diagnosticar de manera precisa cualquiera de las entidades clínicas ocasionadas por *C. trachomatis*, si bien, el linfogranuloma venéreo también puede investigarse confiablemente con pruebas serológicas ya que, como se mencionó en la sección de inmunidad (cap. II), éste es el único padecimiento clamidial en el que el adulto manifiesta títulos muy elevados de

anticuerpos séricos dirigidos contra el agente etiológico; puede aplicarse para efectuar encuestas epidemiológicas, pues su notable sensibilidad y especificidad permiten detectar portadores y enfermos asintomáticos. Finalmente, suele representar el recurso de elección en los bancos de semen para efectuar el control microbiológico de este tipo de especímenes, debido a que si éstos contienen CE's, las inseminaciones artificiales se traducirán en probables lesiones genitales de origen clamidial en la mujer y, por si fuera poco, el neonato podría adquirir alguno de los trastornos oculares durante el parto y posteriormente neumonía (136,145,159,179,197).

1.2.5. Detección de CE's mediante Ensayo Inmunoenzimático (EIA).

Sin lugar a dudas, el desarrollo de métodos inmunoenzimáticos ha incrementado el número de recursos confiables para establecer el diagnóstico de diversas enfermedades. Estos se basan en el empleo de antígenos o anticuerpos marcados con una enzima, cuya actividad catalítica sobre un sustrato específico facilita la identificación y cuantificación del antígeno o anticuerpo en estudio. Las enzimas que generalmente se utilizan para este propósito son: fosfatasa alcalina y peroxidasa (51).

En esta prueba, el antígeno contenido en la muestra

reacciona con un exceso de anticuerpos adsorbidos previamente a la fase sólida (esferas de poliestireno); posteriormente, se lava en forma adecuada y se adiciona un segundo anticuerpo dirigido contra el antígeno bajo investigación (preparado en conejo). Después de incubar y lavar se agrega un tercer anticuerpo anti-gammaglobulina de conejo marcado con la enzima correspondiente (producido en cabra) y, a continuación (previo lavado), se incorpora el sustrato específico para cuantificar el producto de reacción. En este caso, la concentración del producto de la reacción enzimática es directamente proporcional a la del antígeno presente en la muestra problema (142)(figura 5).

La muestra se trata como se describió en la sección 1.2.3. excepto que no se centrifuga, es decir, inmediatamente después de haberse agitado en Vórtex se distribuyen alícuotas de 10 μ l en varias cavidades de las placas de plástico que vienen incluidas en el estuche comercial. El paso siguiente consiste en adicionar las esferas (a las cuales están adsorbidos anticuerpos anti-*C. trachomatis*) a todos los pozos con espécimen y transcurrido el primer periodo de incubación (45 min a 37°C) aquéllas se lavan con agua destilada; posteriormente se les agregan 200 μ l de suero anti-*C. trachomatis* preparado en conejo. Una vez que se ha incubado y lavado en las mismas condiciones por segunda ocasión, se añaden 200 μ l de suero anti-gammaglobulina de

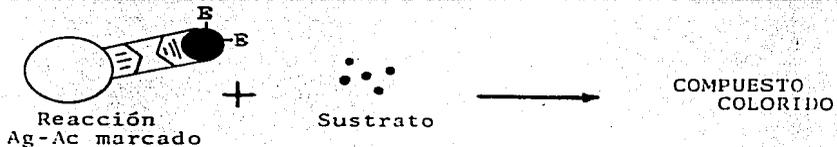
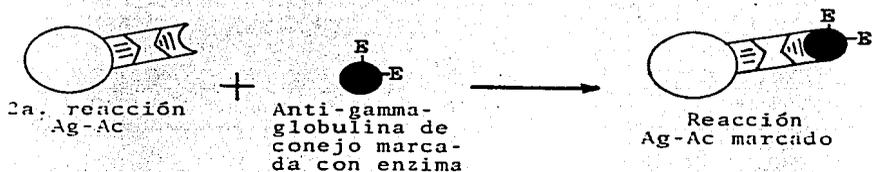
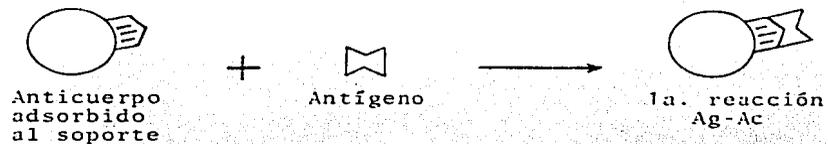


Figura 5: Ensayo inmunoenzimático.

conejo marcado con peroxidasa; se vuelve a incubar y a lavar y se adicionan 300 µl de sustrato (H_2O_2 + o-fenilendiamina : HCL); la reacción se detiene con 1 ml de H_2SO_4 1N después de someterse a una última incubación de 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se determina la absorbancia de las muestras a 492 nm y la prueba se considera positiva cuando la óptica excede como mínimo a la de los controles negativos + 0.1 (5,66).

2. Diagnóstico indirecto.

Aunque se han logrado adoptar varias técnicas que detectan anticuerpos séricos anti-*C. trachomatis*, lo cierto es que su valor es limitado. Esta afirmación se basa en el hecho de que los pacientes afectados por enfermedades graves debidas a la variedad TRIC, no poseen títulos de anticuerpos notablemente mayores que la gran cantidad de personas que experimenta enfermedades subclínicas o simples contactos con el microorganismo (más del 60% de la población sexualmente activa)(14,38,84,91,96).

Sin embargo, estas pruebas tienen aplicación en lo que se refiere a encuestas epidemiológicas y, desde el punto de vista diagnóstico, para detectar confiablemente dos enfermedades: linfogranuloma venéreo y neumonía neonatal; ello se debe a que éstas son las únicas entidades clamidiales en las que se eleva considerablemente el título de

anticuerpos (38, 44, 80, 96, 134, 148, 149, 181).

2.1. Cuantificación de anticuerpos séricos anti-*C. trachomatis* mediante la reacción de fijación del complemento.

Según se ha podido comprobar, este método sólo tiene aplicación en el diagnóstico de linfogranuloma venéreo; en este sentido, el reconocimiento del cuadro clínico característico y un título de 1:64 o mayor, establecen la existencia de la enfermedad (38, 96).

Como la técnica involucra el empleo del antígeno clamidial de género, se considera poco específica, ya que también reditúa resultados positivos cuando la persona ha entrado en contacto con *C. psittaci* (199).

La prueba se basa en la capacidad que tienen los complejos antígeno-anticuerpo para fijar el complemento.

Diluciones seriadas del suero del paciente se enfrentan a cantidades constantes de antígeno purificado y de complemento; previa incubación, se adicionan glóbulos rojos de carnero sensibilizados para revelar la reacción. El título de anticuerpos séricos corresponderá a la máxima dilución del suero del paciente que no presente hemólisis (38).

2.2. Detección y cuantificación de anticuerpos séricos anti-
C. trachomatis mediante microinmunofluorescencia
indirecta.

La técnica y el fundamento de esta prueba son, en esencia, los mismos que los descritos en Inmunofluorescencia Indirecta, sección 1.2.2. Las diferencias significativas se enumeran a continuación (149,177):

- Las preparaciones se realizan con antígenos conocidos (*C. trachomatis* cultivada en saco vitelino de embriones de pollo).
- La anti-gammaglobulina de conejo marcada con fluoresceína se sustituye por suero de Coombs conjugado con dicho fluorocromo.
- En lugar del suero preparado en conejo debe adicionarse el del paciente.
- Una prueba positiva indica la existencia de anticuerpos anti-*C. trachomatis* en el suero del individuo investigado.

Aplicando este método, varios autores han intentado establecer las concentraciones de anticuerpos séricos que se relacionan con las diferentes entidades clínicas ocasionadas por este microorganismo (148). Así, se ha sugerido que en la cervicitis el título indicativo es de 1:64, en la salpingitis de 1:128, en UNG 1:32 y en linfogranuloma venéreo de 1:256. Sin embargo, persiste la necesidad de efectuar más estudios

sobre el particular, ya que aún predominan los investigadores que cuestionan el valor diagnóstico indirecto en la mayoría de estas enfermedades (38,96,148).

Por otro lado, cabe destacar el hecho de que esta técnica se aplica regularmente en la realización de encuestas epidemiológicas ya que es útil para determinar el(los) serotipo(s) que afecta(n) a una cierta población; en este contexto, diluciones seriadas del suero del paciente se adicionan a varias preparaciones, cada una de las cuales contiene a un serotipo diferente. Aquella que manifieste fluorescencia con la dilución más alta determinará el serotipo de *C. trachomatis* que infecta al individuo cuyo suero se ha analizado (38,96).

2.3. Detección de anticuerpos anti-*C. trachomatis* mediante ensayo inmunoenzimático (EIA).

A la fecha, esta prueba sólo se aplica para efectuar el diagnóstico de la neumonía neonatal (134).

Tanto la metodología como sus principios biológicos coinciden, en general, con lo señalado en la sección 1.2.5. No obstante, presenta las siguientes variantes:

- El antígeno, en este caso la MOMP, ya viene adsorbido en las esferas de poliestireno.
- El suero del paciente sustituye al anti-

C. trachomatis preparado en conejo.

- En lugar del suero de cabra se emplea uno de Coombs conjugado con peroxidasa.
- Los resultados positivos indicarán presencia de anticuerpos séricos dirigidos contra la especie en cuestión y, si el cuadro clínico corresponde, el diagnóstico revelará neumonía.

2.4. Detección de anticuerpos anti-*C. trachomatis* por contrainmunolectroforesis (CIEF).

Esta técnica únicamente se emplea para establecer el diagnóstico del linfogranuloma venéreo y, en este sentido, se considera más confiable que la reacción de fijación del complemento y menos que la microinmunofluorescencia indirecta. Según se ha comprobado, sólo detecta a los correspondientes anticuerpos cuando éstos se encuentran en títulos de 1:256 o mayores, pero ello no constituye mayor problema porque las personas que padecen la mencionada enfermedad generalmente manifiestan concentraciones mucho más elevadas de anticuerpos anti-*C. trachomatis* (28).

La prueba se basa en el corrimiento electroforético del antígeno (una proteína de membrana de 155,000 daltons extraída de los CE's) y el anticuerpo, los cuales se colocan en pozos practicados en un gel de agar, dispuestos uno frente al otro; al efectuarse la reacción correspondiente, en la

zona de equivalencia se formarán bandas de precipitación que indicarán homología. Este método puede emplearse para muchos sistemas distintos pero requiere de que los antígenos migren hacia el ánodo, porque los anticuerpos se dirigen hacia el cátodo debido al efecto de electroendósmosis (51).

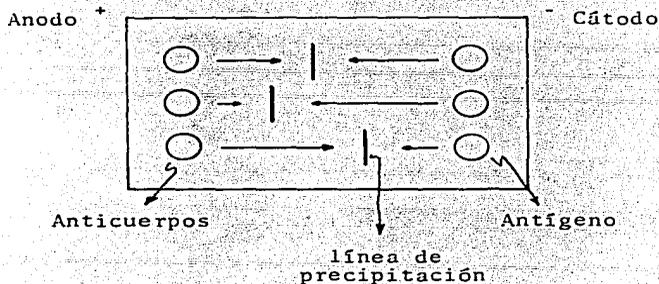


Figura 6. Contrainmunolectroforesis.

IV. TRATAMIENTO.

A la fecha, se han realizado numerosas investigaciones acerca de la efectividad de diversos antibióticos en el tratamiento de las infecciones producidas por *C. trachomatis*; en este sentido, es importante subrayar que, para evaluar su utilidad, se deben llevar a cabo tanto estudios *in vitro* (con el objeto de establecer su concentración mínima inhibitoria -CMI-) como *in vivo* (para determinar la dosis necesaria y analizar su actividad biológica)(95).

Por lo que respecta a la susceptibilidad de *Chlamydia* a los diferentes antimicrobianos, éstos se han clasificado de la siguiente manera tomando en cuenta su CMI (65, 81, 102, 120, 176):

- De baja actividad anticlamidial; este grupo incluye a los aminoglucósidos (gentamicina, kanamicina, espectinomina, estreptomina), las cefalosporinas (cefotaxina, cefaloridina, cefuroxima), las lincosaminas (lincomicina, clindamicina), los nitroimidazoles (metronidazol), bacitracina, vancomicina, trimetoprim y los ácidos nalidíxico y oxolínico.
- De mediana actividad anticlamidial; aquí destacan los fenicoles (tiamfenicol, cloranfenicol), las beta-lactaminas (penicilina, cefaloridina, ampicilina, amoxicilina) y la cicloserina.

- De alta actividad anticlamidial; a éste pertenecen las tetraciclinas (oxitetraciclina, doxiciclina, minociclina) y los macrólidos (rifampicina, rosaramicina, eritromicina).

A continuación se señalan los valores correspondientes a la CMI de algunos antibióticos (152):

ANTIBIOTICO	CMI (µg/ml)
Doxiciclina	0.050-0.20
Eritromicina	0.008-1.00
Oxitetraciclina	0.020-1.00
Minociclina	0.015-0.03
Rifampicina	0.007-0.25
Rosaramicina	0.015-4.00
Ampicilina	0.25
Penicilina	1.000-10.0
Espectinomicina	32.00
Gentamicina	500.0
Vancomicina	1000

En general, puede asegurarse que los antimicrobianos más efectivos son las tetraciclinas, aunque la eritromicina proporciona resultados satisfactorios (23,42,55,70,81,95,121,152,154,175,181).

Sin embargo, son numerosos los estudios cuya finalidad

es la de establecer los esquemas terapéuticos más efectivos para cada entidad clínica. En este contexto, Jerve (81) propone que, en el caso de la cervicitis, el síndrome uretral agudo y la UNG, es conveniente administrar 500 mg de tetraciclina por vía oral, 4 veces al día durante una semana; no obstante, Schachter (152) cuestiona el planteamiento anterior aduciendo que debe ser 1 gr diario hasta por 14 ó 21 días ya que, de esta manera, se elimina la posibilidad de recidivas. Por su parte, otros investigadores (24) han observado que 100 mg de doxiciclina por vía oral, cada 12 horas durante 7 días, o bien, la misma dosis de minociclina, pero por 21 días, son igualmente eficaces para erradicar al microorganismo.

En el caso de que las tetraciclinas no sean toleradas por el paciente o cuando exista alguna contraindicación, se deberá recurrir a la eritromicina (500 mg por vía oral) 4 veces diarias durante una semana (24,152) ó 2gr/día de trimetoprim-sulfametoxazol durante 10 días (81).

Por lo que se refiere a la epididimitis y salpingitis, el tratamiento óptimo incluye el suministro de tetraciclina a razón de 2 gr diarios durante 2 semanas como mínimo (121,175) mientras que, para la prostatitis, es de 3 mg cada 12 horas durante 7 días y después de suspenderlo 1 semana, se repite el mismo esquema (121). En el caso de la salpingitis, es necesario someter a cirugía a las mujeres que manifiesten

abscesos adyacentes a la cavidad uterina y a las que padezcan de obstrucciones en las trompas de Falopio (175).

Cuando se trata de personas embarazadas se recomienda una dosis de 500 mg de eritromicina cada 6 horas durante 7 días (81).

Como ya se mencionó anteriormente (sección II), es muy frecuente que se presenten infecciones mixtas por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*. Cuando este sea el caso, es importante la aplicación de un antibiótico que elimine a las dos bacterias; en este sentido, Stamm (166) ha demostrado que la tetraciclina y el trimetoprim-sulfametoxazol cumplen satisfactoriamente. Sin embargo, otros autores (42) mencionan que es preferible erradicar primero al gonococo y posteriormente a *Chlamydia*; así, en un principio administran penicilina y después tetraciclina.

En cuanto a las enfermedades clamidiales de los neonatos, se ha comprobado que tanto para la conjuntivitis por inclusión, como para la neumonía, la terapia consiste en 50 mg/Kg diarios de eritromicina durante 14 días. La oxitetraciclina está contraindicada para este tipo de pacientes debido a que produce decoloración de los dientes (7,37); no obstante, puede suministrarse a los bebés que no muestren mejoría con la eritromicina.

Por otro lado, con respecto al linfogranuloma venéreo,

el antimicrobiano de elección es también la tetraciclina a razón de 50 mg cada 6 horas durante 3 semanas (181), aunque también se obtienen buenos resultados con minociclina y rifampicina. Es importante señalar que ya existen numerosas cepas resistentes a este último, por lo cual su utilidad es limitada (181).

En muchas ocasiones es necesario realizar cirugías para corregir lesiones anatómicas causadas por este padecimiento (181).

Finalmente, cabe destacar que en los últimos años se han publicado algunos trabajos en los que se investiga la posibilidad de emplear gamma-interferón humano como tratamiento de las enfermedades clamidiales; pero, a la fecha no hay nada establecido y se requieren más estudios para demostrar su efectividad (109,141,158).

V. PROFILAXIS.

1. Prevención de los padecimientos oculares.

En general, puede establecerse que las afecciones oculares se relacionan directamente con los hábitos de higiene y, en un gran número de casos, éstos se asocian con el nivel socioeconómico y cultural de los individuos (140).

Lo antes mencionado puede aplicarse al tracoma, el cual se denomina "enfermedad de los pobres" en los países desarrollados, debido a que su mayor incidencia se encuentra entre la población marginada (140).

Definitivamente, la medida principal para erradicar ésta y otras muchas entidades clínicas de origen infeccioso, consiste en difundir conocimientos básicos acerca de la existencia y las vías de transmisión de los microorganismos; sin embargo, las campañas correspondientes tienden a fracasar continuamente porque, por lógica, están dirigidas a personas cuyas únicas finalidades son la de procurarse el alimento diario y lograr olvidarse de las incontables dificultades que afrontan para subsistir.

Concientes de dicho razonamiento, las autoridades de la Organización Mundial de la Salud han extendido convocatorias para promover entre los investigadores, el diseño y la manufactura de vacunas que protejan contra el tracoma; sin

embargo, hasta el momento no se ha logrado obtener el éxito esperado. Mac Donald y cols (103) produjeron una a partir de cultivos de *C. trachomatis* en embrión de pollo e inactivada con formalina, la cual se probó inoculándola en la conjuntiva de monos; los resultados revelaron que, lejos de conferir una inmunidad protectora, puede provocar procesos de hipersensibilidad; es decir, después de administrarse la vacuna, el contacto posterior con el parásito suele derivar en cuadros patológicos más severos que los que tienen lugar cuando aquélla no se aplica.

En cuanto a la conjuntivitis por inclusión, se sabe que ésta afecta generalmente a los adultos que padecen infecciones genitales por *C. trachomatis* y a los neonatos cuyas madres se la transmiten durante el parto. En este contexto, la prevención de esta enfermedad radica en establecer un rápido y oportuno tratamiento de la afección que hace las veces de foco metastásico (131).

2. Prevención de las enfermedades de transmisión sexual.

Desafortunadamente, los factores que determinan la propagación de las enfermedades de transmisión sexual no pueden controlarse con las medidas clásicas de salud pública, debido a que se encuentran estrechamente relacionados con la conducta de los individuos; luego entonces, existe la necesidad de diseñar y emplear técnicas educativas porque, no

obstante, las afecciones en cuestión no dejan de constituir padecimientos transmisibles para los cuales se deben aplicar los métodos profilácticos correspondientes (20,35,57).

En este sentido, las medidas del caso se clasifican de acuerdo a diferentes niveles: la prevención primaria se contempla en la fase prepatogénica y, la secundaria, cuando el(ia) paciente ya se encuentra afectado (61,172).

Entre las medidas propuestas para el nivel primario destaca la educación de las comunidades en cuanto a higiene y a aspectos sexuales, ya que ello puede influir decisivamente en la conducta de las personas (53,187). La ignorancia de conceptos sexuales que originan las enfermedades venéreas funge como responsable de su frecuencia. Sin embargo, no basta con que las personas obtengan los conocimientos, ya que el proceso suele involucrar elementos afectivos que varían con la personalidad de los sujetos (20,53,61).

De hecho, la única fórmula infalible radica en la abstinencia, pero considerando que ésta es inaceptada por la gran mayoría, la monogamia constituye la opción más recomendable. Así mismo, los individuos sexualmente activos pueden reducir los riesgos si detectan a tiempo la presencia de lesiones, erupciones y/o descargas anormales en los genitales de la pareja (56,172).

Los dispositivos contraceptivos tales como los condones

y diafragmas y las sustancias espermicidas, confieren protección relativa; el uso de condones reduce el riesgo de infecciones tanto por microorganismos transferidos por el semen (*Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis*), como por *Treponema pallidum*, *Haemophilus ducreyi* y el virus del herpes genital, que se transmiten generalmente por contacto directo con la piel o membranas afectadas. Por su parte, los diafragmas y espermicidas, los cuales suelen utilizarse como métodos anticonceptivos asociados, proporcionan cierta protección contra las enfermedades de transmisión sexual, pues la acción mecánica de los primeros probablemente se ve reforzada con la propiedad de los segundos, disminuyendo la cantidad de microorganismos y espermatozoides (172).

Se considera que la micción y la ducha postcoitales pueden manifestar una acción mecánica de arrastre pero, en general, su efectividad no es tan elevada como sería de desearse (172).

Por lo que se refiere a la administración de antimicrobianos como medida profiláctica, ya sea antes o después del contacto sexual, ésta no es muy recomendable, ya que puede ocasionar reacciones alérgicas al individuo y/o el surgimiento de cepas resistentes; además, es probable que la bacteria transmitida no sea sensible al antibiótico elegido (172).

Por otro lado, es importante subrayar que tanto las prácticas heterosexuales atípicas como las homosexuales, incrementan las posibilidades de que se adquiera este tipo de padecimientos; por ejemplo, el coito ano-rectal origina afecciones en virtud de que el epitelio rectal es más delicado que el vaginal y se lesiona más frecuentemente proporcionando a los microorganismos las condiciones adecuadas para establecerse (56).

En cuanto a las medidas preventivas a nivel secundario, cabe señalar que el diagnóstico temprano y el tratamiento precoz constituyen los principios básicos para el control de las enfermedades de transmisión sexual (53). Desde luego, una de las prioritarias consiste en localizar a los contactos de los enfermos para someterlos al tratamiento adecuado; sin embargo, dicha búsqueda no siempre es exitosa, ya que, aún contándose con una buena organización y el personal capacitado, existen obstáculos psicológicos y sociales, tales como (20,36,100): la insuficiente colaboración de los enfermos, la negativa actitud del personal hacia los pacientes que padecen enfermedades de transmisión sexual y lo inconsistente de las denuncias por parte de los médicos privados.

VI. CONCLUSIONES.

1. En cuanto a la especie *C. trachomatis*:

- Es un parásito intracelular estricto debido a que no sintetiza ATP, algunas enzimas esenciales, ni purinas y pirimidinas.
- De las dos formas celulares que presenta: CR (cuerpo reticular) y CE (cuerpo elemental), sólo la segunda manifiesta capacidad infectante.
- Posee antígenos específicos de género, especie y serotipo, por lo que se le puede caracterizar en forma precisa mediante serología.
- La capacidad infectante de los CE's depende en gran medida de una molécula proteica a la cual se le ha asignado el nombre de "ligando".
- Se divide en tres variedades (TRIC, LGV y la causante de neumonitis al ratón) y 15 serotipos.

2. Por lo que se refiere a los padecimientos ocasionados por *C. trachomatis*:

- El tracoma cursa en forma crónica, es de evolución lenta y constituye la causa principal de ceguera previsible.

- El linfogranuloma venéreo se encuentra situado entre los de menor prevalencia.
- Los de mayor incidencia son conjuntivitis por inclusión, síndrome uretral, cervicitis y uretritis no gonocócica. Inclusive, la de los dos últimos es similar o superior que la de la gonorrea.
- Los que involucran al tracto genital se transmiten por contacto sexual.
- Entre el 40 y 50% de los de transmisión sexual son asintomáticos y ello se refleja en los altos índices de propagación.
- La enfermedad inflamatoria pelviana, la salpingitis y la epididimitis provocan infertilidad a un elevado número de pacientes.
- De las que afectan al recién nacido, la conjuntivitis por inclusión es la más frecuente y la neumonía suele ser la más grave.

3. Por lo que respecta al diagnóstico de laboratorio, las técnicas que detectan a *C. trachomatis* en las muestras de pacientes y portadores son más sensibles y exactas que las que investigan anticuerpos séricos. De aquéllas, el aislamiento en cultivos celulares, la de

inmunofluorescencia directa con anticuerpos monoclonales y la del ensayo inmunoenzimático, son las más confiables.

4. Las tetraciclinas constituyen el tratamiento de elección de las enfermedades clamidiales, aunque la eritromicina también es efectiva.
5. Las vacunas elaboradas con CE's inactivados con formalina o trifluorotricloroetano hasta el momento no han proporcionado resultados exitosos. Sería interesante preparar y analizar alguna otra constituida por "ligandos".

VII. BIBLIOGRAFIA.

1. Aarnaes, S.L., Peterson, E.M., et al. "The effect of media and temperature on the storage of *Chlamydia trachomatis*". Am J Clin Pathol 81: 237-239. (1984).
2. Abrams, A.J. "Lymphogranuloma Venereum". JAMA 205: 199-202. (1968).
3. Adger, H., Sweet, R.L., Shafer, M.A., et al. "Screening for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in Adolescent males: value of first-catch urine examination". Lancet 2: 944-945. (1984).
4. Allan, I., Cunningham, T.M., Lovett, M.A. "Molecular cloning of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*". Infect Immun 45: 635-641. (1984).
5. Amortegui, A.J., Meyer, H.P. "Enzyme immunoassay for detection of *Chlamydia trachomatis* from the cervix". Obstet & Gynecol 65: 523-526. (1985).
6. Andersen, P., Moller, B.R. "Autoantibodies in patients with acute salpingitis caused by *Chlamydia trachomatis*". Scand J Infect Dis 14: 19-22. (1982).
7. Attenburrow, A.A., Barker, C.M. "Chlamydial pneumonia in the low birthweight neonate". Arch Dis Chil 60: 1169-1172. (1985).

8. Bard, J., Levitt, D. "*Chlamydia trachomatis* stimulates human peripheral blood B lymphocytes to proliferate and secrete immunoglobulins in vitro". *Infect Immun* 43: 84-92. (1984).
9. Batteiger, B.E., Newhall, W.J., Jones, R. "Differences in outer membrane proteins of the lymphogranuloma venereum and Trachoma biovars of *Chlamydia trachomatis*". *Infect Immun* 50: 488-494. (1985).
10. Battin, D.A., Barnes, R.B., Hoffman, D.I., et al. "*Chlamydia trachomatis* is not an important cause of abnormal postcoital tests in ovulating patients". *Fertil Steril* 42: 233-236. (1984).
11. Bavoil, P., Ohlin, A., Schachter, J. "Role of disulfide bonding in outer membrane structure and permeability in *Chlamydia trachomatis*". *Infect Immun* 44: 479-485. (1984).
12. Becker, Y., Asher, Y. "Synthesis of trachoma agent proteins in emetine-treated cells". *J Bacteriol* 109: 966-970. (1972).
13. Benes, S., McCormack, W.M. "Comparison of methods for cultivation and isolation of *Chlamydia trachomatis*". *J Clin Microbiol* 16: 847-850. (1982).
14. Bergan, T. "Biology of *Chlamydia*". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 11-15. (1982).

15. Bernstein, D.I., Hubbard, T., et al. "Mediastinal and supraclavicular lymphadenitis and pneumonitis due to *Chlamydia trachomatis* serovars L₁ and L₂". N Engl J Med 311: 1543-1546. (1984).
16. Berron, S., Vázquez, J., Fenoll, A. "Rapid detection of *Chlamydia trachomatis*". Lancet 1: 109-110. (1984).
17. Brade, L., Nurminen, M., Makela, P.H., Brade, H. "Antigenic properties of *Chlamydia trachomatis* lipopolysaccharide". Infect Immun 48: 569-572. (1985).
18. Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer, J. "Enfermedades Infecciosas". Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. (1984).
19. Braude, A.I., Davis, C.E., Fierer, J. "Microbiología Clínica". Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. (1984).
20. Brown, W.J. "El control de las enfermedades venéreas en Estados Unidos de América". Salud Pública de México 1: 55-58. (1968).
21. Brunham, R.C., Kuo, C., Chen, W. "Systemic *Chlamydia trachomatis* infection in mice: a comparison of Lymphogranuloma Venereum and Trachoma biovars". Infect Immun 48: 78-82. (1985).

22. Brunham, R.C., McClean, I.W., Binns, B., Peeling, R.W. "*Chlamydia trachomatis*: its role in tubal infertility". J Infect Dis 152: 1275-1282. (1985).
23. Buchanan, R.E., Gibbons, N.E. "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology". The Williams & Wilkins Co. Baltimore. (1984).
24. Bump, R.C., Copeland, W.R. "Urethral isolation of the genital mycoplasmas and *Chlamydia trachomatis* in women with chronic urologic complaints". Am J Obstet Gynecol 152: 38-41. (1985).
25. Bushel, A.C., Hobson, D. "Effect of cortisol on the growth of *Chlamydia trachomatis* in Mc Coy cells". Infect Immun 21: 946-953. (1978).
26. Byrne, G.I., Moulder, J.W. "Parasite-specified phagocytosis of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci* by HeLa cells". Infect Immun 19: 598-606. (1978).
27. Caldwell, H.D., Kuo, C., Kenny, G.E. "Antigenic analysis of Chlamydiae by two-dimensional immunoelectrophoresis I. Antigenic heterogeneity between *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci*". J Immunol 115: 963-975. (1975).
28. Caldwell, H.D., Kuo, C. "Serologic diagnosis of Lymphogranuloma Venereum by Counterimmunoelectrophoresis with a *Chlamydia trachomatis* protein antigen". J Immunol

- 118: 442-445. (1977).
29. Caldwell, H.D., Kuo, C. "Purification of a *Chlamydia trachomatis* specific antigen by immunoabsorption with monospecific antibodies". J Immunol 118: 437-441. (1977).
 30. Caldwell, H.D., Kromhout, J., Schachter, J. "Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*". Infect Immun 31: 1161-1176. (1981).
 31. Caldwell, H.D., Schachter, J. "Antigenic analysis of the major outer membrane protein of *Chlamydia spp.*" Infect Immun 35: 1024-1031. (1982).
 32. Caldwell, H.D., Judd, R.C. "Structural analysis of Chlamydial major outer membrane proteins". Infect Immun 38: 960-968. (1982).
 33. Caldwell, H.D., Perry, L.J. "Neutralization of *Chlamydia trachomatis* infectivity with antibodies to the major outer membrane protein". Infect Immun 38: 745-754. (1982).
 34. Caldwell, H.D., Hitchcock, P.J. "Monoclonal antibodies against a genus-specific antigen of *Chlamydia* species: location of the epitope on Chlamydial lipopolysaccharide". Infect Immun 44: 306-314. (1984).
 35. Callin, A.E. "Las repercusiones económicas de las

enfermedades venéreas". Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana LXX: 95-100. (1971).

36. Campos, S. "Situación actual del control de las enfermedades venéreas en México". El Médico, diciembre (1965).
37. Chacko, M.R., Lovchick, J.C. "*Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents: prevalence and risk factors". Pediatrics 73: 836-840. (1984).
38. Clyde, W.A., Kenny, G.E., Schachter, J. "Laboratory diagnosis of Chlamydial and Mycoplasmal infections". Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology". American Society for Microbiology. Washington D.C. (1984).
39. Collen, S., Mardh, P.A. "Complicated infections of the male genital tract with emphasis on *Chlamydia trachomatis* as an etiological agent". Scand J Infect Dis Suppl 32: 93-99. (1982).
40. Collins, A.R., Barron, A.L. "Demonstration of group- and species-specific antigens of Chlamydial agents by gel diffusion". J Infect Dis 121: 1-8. (1970).
41. Conway, D., Caul, E.O., Hull, M.G.R., et al. "Chlamydial serology in fertile and infertile women". Lancet 1: 191-193. (1984).

42. Csango, P.A., Salvesson, A., Gundersen, T. "Treatment of acute gonococcal urethritis in men with simultaneous infection with *Chlamydia trachomatis*". Br J Vener Dis 60: 95-98. (1984).
43. Darougar, S., Cubitt, S., Jones, B.R. "Effect of high-speed centrifugation on the sensitivity of irradiated Mc Coy cell culture for the isolation of *Chlamydia*". Br J Vener Dis 50: 308. (1974).
44. Davis, B.D., Dulbecco, R., et al. "Tratado de Microbiología". Salvat Editores. Barcelona, España. (1977).
45. Dhir, S.P., Hakomori, S., Kenny, G.E., Grayston, L.T. "Immunochemical studies on Chlamydial group antigen (presence of a 2-keto-3-deoxycarbohydrate as immunodominant group)". J Immunol 109: 116-121. (1972).
46. Evans, R.T., Robinson, D.T. "Comparison of various Mc Coy cell treatment procedures used for detection of *Chlamydia trachomatis*". J Clin Microbiol 10: 198-201. (1979)
47. Fairbanks, G., Steck, T.L., Wallach, D. "Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane". Biochemistry 10: 2607. (1971).
48. Forster, G., Munday, P.E. "Urethral Syndrome in women attending an STD clinic". Br J Vener Dis 60: 65-67.

(1984).

49. Friis, R.R. "Interaction of L cells and *Chlamydia psittaci*; entry of the parasite and host responses to its development". J Bacteriol 110: 706-721. (1972).
50. Friis, B., Kuo, C., Wang, S., et al. "Rapid diagnosis of *Chlamydia trachomatis* pneumonia in infants". Acta Microbiol Immunol Scand Sect 92: 139-143. (1984).
51. Fudenberg, H.H., Wells, J.V., Stites, D.P. "Inmunología Básica y Clínica". 4a Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México, D.F. (1983).
52. Galanos, B., et al. "Isolation, purification and chemical analysis of the lipopolysaccharide and lipi A of *Acinetobacter calcoaceticus*". Eur J Biochem 122: 233-237. (1982).
53. García, J.C. "Aspectos psicológicos, sociales y culturales de las enfermedades venéreas". Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana LXX: 79-91. (1971).
54. Gibson, M., Gump, D., Ashikaga, T., Hall, B. "Patterns of adnexal inflammatory damage: *Chlamydia*, the intrauterine device and history of pelvic inflammatory disease". Fertil Steril 41: 47-51. (1984).
55. Gjonnaess, H. "Treatment of *Chlamydia trachomatis*

- infections of the female lower genital tract". Scand J Infect Dis Suppl 32: 177-181. (1982).
56. Goldsmith, M.F. "Sexually transmitted diseases may reverse the revolution" JAMA 255: 1665-1667 y 1672. (1986).
57. González, G. "Aspectos socioculturales de la transmisión de las enfermedades venéreas". La Prensa Médica Mexicana XLII No. 11. (1977).
58. Gordon, F.B., Harry, M.D., Dressler, R. "Relative sensitivity of cell culture and yolk sac for detection of TRIC infection". Am J Ophthalmol. Trachoma and Allied Diseases: 1044-1048. (1967).
59. Gordon, I.B., Dressler, H.R., Quan, A.L., et al. "Effect of ionizing irradiation on susceptibility of Mc Coy cell cultures to *Chlamydia trachomatis*". Appl Microbiol 23: 123-129. (1972).
60. Grayston, J.T., Wang, S. "New knowledge of Chlamydiae and the diseases they cause". J Infect Dis 132: 87-105. (1975).
61. Grimes, D.A. "Deaths due to sexually transmitted diseases" JAMA 255: 1727-1729. (1986).
62. Gump, D.W., Gibson, M. "Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in cervical secretions and serum: effect of

- blood in such secretions". *Fertil Steril* 43: 814-815. (1985).
63. Hackstadt, T., Caldwell, H.D. "Effect of proteolytic cleavage of surface-exposed proteins on infectivity of *Chlamydia trachomatis*" *Infect Immun* 48: 546-551. (1985).
64. Hackstadt, T., Todd, W.J., Caldwell, H.D. "Disulfide-mediated interactions of the Chlamydial major outer membrane protein: role in the differentiation of Chlamydiae?". *J Bacteriol* 161: 25-31. (1985).
65. Hagddrup, H., Kristensen, J., Scheibel, J. "Failure of pivampicillin in treating Chlamydial infections". *Br J Vener Dis* 60: 204-205. (1984).
66. Hambling, M.H., Kurtz, J.B. "Preliminary evaluation of an enzyme immunoassay test for the detection of *Chlamydia trachomatis*". *Lancet* 1: 53. (1985).
67. Hammerchlag, M.R., Fikrig, S., et al. "The effect of *Chlamydia trachomatis* on luminol-dependent chemiluminescence of human polymorphonuclear leukocytes: requirements for opsonization". *J Infect Dis* 151: 1045-1051. (1985).
68. Hanssen, P.W., Westrom, L., Mardh, P.A. "Chlamydial perihepatitis". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 77-82. (1982).

69. Hansson, H., Danielsson, D. "Epidemiology of sexually transmitted diseases in the Scandinavian countries". Scand J Infect Dis Suppl 32: 149-156. (1982).
70. Harrison, H.R., Phil, D., Riggin, R.M., Et al. "In vitro activity of clindamycin against strains of *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* isolate from pregnant women". Am J Obstet & Gynecol 149: 477-480. (1984).
71. Harrison, H.R., Boyce, W.T., Wang, S., et al. "Infection with *Chlamydia trachomatis* Immunotype J associated with Trachoma in an area previously endemic for Trachoma". J Infect Dis 151: 1034-1036. (1985).
72. Hatch, T.P., Allan, I., Pearce, J.H. "Structural and polypeptide differences between envelopes of infective and reproductive life cycle forms of *Chlamydia spp.*" J Bacteriol 157: 13-20. (1984).
73. Heggel, A.D., Jaffe, A.G., Stuart, L.A., et al. "Topical sulfacetamide vs oral erythromycin for neonate Chlamydial conjunctivitis". AJDC 139: 564-566. (1985).
74. Heling, I., Mardh, P.A. "Mother-to-infant transmission of *Chlamydia trachomatis* and its consequences for the baby". Scand J Infect Dis Suppl 32: 135-140. (1982).
75. Honkonen, E., Punnonen, R., Terho, P. "*Chlamydia*

- trachomatis* in term pregnancy, isolation and serological study with a case report". Int J Gynaecol Obstet 21: 473-476. (1983).
76. Howard, L.V. "Neutralization of *Chlamydia trachomatis* in cell culture". Infect Immun 11: 698-703. (1975).
77. Huss, H., Jungkind, D., Amadio, P., Rubenfeld, I. "Frequency of *Chlamydia trachomatis* as the cause of pharyngitis". J Clin Microbiol 22: 858-860. (1985).
78. Ingerslev, H.J., Moller, B.R., Mardh, P.A. "*Chlamydia trachomatis* in acute and chronic endometritis". Scand J Infect Dis Suppl 32: 59-63. (1982).
79. Jawetz, E., Rose, L., Hanna, L. "Experimental inclusion conjunctivitis in man" JAMA 194: 150-162. (1965).
80. Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. "Microbiología Médica". 10a Edición. Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V. México D.F. (1983).
81. Jerve, F. "Treatment of genital tract infections due to *Chlamydia trachomatis*". Acta Otolaryngol Suppl 407: 62-66. (1984).
82. Johanison, G., Lowhagen, G.B., Wilson, S. "*Chlamydia trachomatis* and urethritis in men". Scand J Infect Dis Suppl 32: 87-92. (1982).

83. Jones, D.B., Liesegang, T.J., Robinson, N.M. "Laboratory diagnosis of ocular infection". Cumulative Techniques and Procedures in Clinical Microbiology. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1981).
84. Jones, M.F., Smith, T.F., Huglum, A.J. "Detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimens by the Chlamydiazyme test". J Clin Microbiol 20: 465-467. (1984).
85. Joseph, T., Nano, I.E., Garon, C.F., Caldwell, H.D. "Molecular characterization of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydia psittaci* plasmids". Infect Immun 51: 699-703. (1986).
86. Kallings, I., Mardh, P.A. "Sampling and Specimen Handling of genital *Chlamydia trachomatis* infections". Scand J Infect Dis Suppl 32: 21-24. (1982).
87. Karayianis, P., Hobson, D. "Amino acid requirements of *Chlamydia trachomatis* genital strain in Mc Coy cell cultures". J Clin Microbiol 13: 427-432. (1981).
88. Keski-Oja, J., Paavonen, J. "Isolation of *Chlamydia trachomatis* in untreated MMC-E mouse epithelial cells". J Clin Microbiol 16: 391-394. (1982).
89. Kingsbury, D.T. "Estimate of genome size of various microorganisms". J Bacteriol 98: 1400-1401. (1969).

90. Komaroff, A.L., Aronson, M.D., et al. "Serologic evidence of Chlamydial and Mycoplasmal pharyngitis in adults". Science 222: 927-929. (1983).
91. Kordová, N., Wilt, J.V., Sekla, L., et al. "Prevalence of antibodies to *Chlamydia trachomatis* in healthy population groups in Manitoba". Can Med Assoc J 129: 1111-1114. (1983).
92. Kousa, M. "Evidence of Chlamydial involvement in the developments of arthritis". Scand J Infect Dis Suppl 32: 116-121. (1982).
93. Kuo, C., Chen, W.-J. "A mouse model of *Chlamydia trachomatis* pneumonitis". J Infect Dis 141: 198-202. (1980).
94. La Scolea, L.J., Keddell, J.E. "Efficacy of various cell culture procedures for detection of *Chlamydia trachomatis* and applicability to diagnosis of pediatric infections". J Clin Microbiol 13: 705-708. (1981).
95. Lassus, A., Juvakoski, T. "Treatment of uncomplicated genital *Chlamydia trachomatis* infections in men". Scand J Infect Dis Suppl 32: 169-172. (1982).
96. Lennette, E.H., Balows, A., et al. "Manual of Clinical Microbiology". 4a. Edición. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1985).

97. Levitt, D., Newcomb, R.W., Beem, M.O. "Excessive numbers of peripheral blood B cells in infants with *Chlamydia trachomatis* pneumonia". Clin Immun Immunopathol 29: 424-432. (1983).
98. Lewis, V.J., Thacker, W.L., Mitchell, S.H. "Demonstration of Chlamydial endotoxin-like activity". J Gen Microbiol 114: 214-215. (1979).
99. Lindner, L.E., Geerling, S., Nettum, B.S., et al. "Identification of *Chlamydia* in cervical smears by immunofluorescence: technique, sensitivity and specificity". Am J Clin Pathol 85: 180-185. (1986).
100. Llopis, A. "Enfermedades venéreas en las Américas". Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana LXX: 44-56. (1971).
101. Lucer, M.E., Kuo, C. "Neutralization of *Chlamydia trachomatis* infection by serovar-specific monoclonal antibodies". Infect Immun 50: 595-597. (1985).
102. Lycke, E. "Assaying antichlamydial drugs in vitro". Scand J Infect Dis Suppl 32: 38-41. (1982).
103. Mac Donald, A.B., Mc Comb, D., Hoard, L. "Immune response of owl monkeys to topical vaccination with irradiated *Chlamydia trachomatis*". J Infect Dis 149: 439-442. (1984).

104. Mahony, J.B., Chernesky, M.A. "Effect of swab type and storage temperature on the isolation of *Chlamydia trachomatis* from clinical specimens". J Clin Microbiol 22: 865-867. (1985).
105. Malaty, R., Zaki, S., Said, M.E., et al. "Extraocular infections in children in areas with endemic trachoma". J Infect Dis 143: 853. (1981).
106. Mallison, H., Turner, G.C., Carey, P.B. "Rapid detection of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies". Lancet 2: 1180-1181. (1984).
107. Mardh, P.A., Svensson, L. "Chlamydial salpingitis". Scand J Infect Dis Suppl 32: 64-72. (1982).
108. Martin, D.H., Pollock, D., Kuo, C., et al. "*Chlamydia trachomatis* infections in men with Reiter's Syndrome". Ann Int Med 100: 207-213. (1984).
109. Maza, L.M. de la, Peterson, E.M., Goebel, J.M. "Interferon-induced inhibition of *Chlamydia trachomatis*: dissociation from antiviral and antiproliferative effects". Infect Immun 47: 719-722. (1985).
110. Maza, L.M. de la, Peterson, R.M. "Interaction of *Chlamydia trachomatis* with host cells". J Infect Dis 153: 374. (1986).

111. Mc Cormack, W.M., Rosner, B., et al. "Infection with *Chlamydia trachomatis* in female college students". Am J Epidemiol 121: 107-114. (1985).
112. McGee, Z.A., Horn, R.G. "Phagocytosis of gonococci by nonprofessional phagocytic cells". Microbiology. Edited by Schlessinger, D. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1979).
113. Megran, D.W., Stiver, H.G., Bowie, W.R. "Complement activation and stimulation of chemotaxis by *Chlamydia trachomatis*". Infect Immun 49: 670-673. (1985).
114. Moiler, B.R. "Demonstration of Chlamydial inclusions in exfoliated cells". Scand J Infect Dis Suppl 32: 16-20. (1982).
115. Moss, T.R., Saxena, R.N. "Infant Chlamydial pneumonia". Br Med J 287: 1629-1630. (1983).
116. Moulder, J.W. "Interaction of *Chlamydia* with host cells". Microbiology. Edited by Schlessinger, D. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1979).
117. Myhere, E., Mardh, P.A. "Unusual manifestations of *Chlamydia trachomatis* infections". Scand J Infect Dis Suppl 32: 122-126. (1982).
118. Nano, F.E., Barstad, P.A., Mayer, L.W., et al. "Partial

- amino acid sequence and molecular cloning of the encoding gene for the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*". *Infect Immun* 48: 372-377. (1985).
119. Nano, F.E., Caldwell, H.D. "Expression of the Chlamydial genus-specific lipopolysaccharide epitope in *Escherichia coli*". *Science* 228: 742-744. (1985).
120. Nielsen, P.B., Christensen, J.D., Frentz, G. "A comparison of oxytetracycline and trimetoprim in the treatment of *Chlamydia trachomatis* urethritis". *Infection* 12: 274-275. (1984).
121. Nilsson, S., Johanisson, G., Lycke, E. "Treatment of complicated infections of the male genital tract, with emphasis on *Chlamydia trachomatis*". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 173-176. (1982).
122. Nurminen, M., Leinonen, M., et al. "The genus-specific antigen of *Chlamydia*: resemblance to the lipopolysaccharide of enteric bacteria". *Science* 220: 1279-1281. (1983).
123. Nurminen, M., Wahlstrom, E., Kleemola, M., et al. "Immunologically related ketodeoxyoctonate-containing structures in *Chlamydia trachomatis*. Re mutants of *Salmonella* species and *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus*". *Infect Immun* 44: 609-613. (1984).

124. Nurminen, M., Rietschel, E.T., Brade, H. "Chemical characterization of *Chlamydia trachomatis* lipopolysaccharide". Infect Immun 48: 573-575. (1985).
125. Onsrud, M., Qvigstad, E. "Natural killer cell activity after gynecologic infections with *Chlamydia*". Acta Obstet Gynecol Scand 63: 613-615. (1984).
126. Osser, S., Persson, K. "Postabortal pelvic infection with *Chlamydia trachomatis* and the influence of humoral immunity". Am J Obstet Gynecol 150: 699-703. (1984).
127. Paavonen, J., Saikku, P., Wang, S.P. "Association of infection with *Chlamydia trachomatis* with Fitz-Hugh-Curtis syndrome" J Infect Dis 144: 176-177. (1981).
128. Paavonen, J., Vesterinen, E., Mardh, P.A. "Infertility as a sequela of Chlamydial pelvic inflammatory disease". J Infect Dis Suppl 32: 45-54. (1982).
129. Paavonen, J., Vesterinen, E. "*Chlamydia trachomatis* in cervicitis and urethritis in women" Scand J Infect Dis Suppl 32: 73-76. (1982).
130. Peeling, R., Mc Clean, J.W., Brunham, R.C. "In vitro neutralization of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies to an epitope on the major outer membrane protein". Infect Immun 46: 484-488. (1984).

131. Persson, K., Ronnerstam, R. "Neonatal eye infections caused by *Chlamydia trachomatis*". Scand J Infect Dis Suppl 32: 141-145. (1982).
132. Peterson, E.M., Maza, L.M. de la "Characterization of Chlamydial DNA by restriction endonuclease cleavage". Infect Immun 41: 604-608. (1983).
133. Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, C.H., Caul, E.O. "Rapid diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections in patients attending an ophthalmic casualty department". Br J Ophthalmol 70: 677-680. (1986).
134. Puolakkainen, M., Saikku, P., et al. "Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants". J Infect Dis 149: 598-604. (1984).
135. Purola, E., Paavonen, J. "Routine cytology as a diagnostic aid in Chlamydial cervicitis". Scand J Infect Dis Suppl 32: 55-58. (1982).
136. Quinn, T.C., Warfield, P., et al. "Screening for *Chlamydia trachomatis* infection in an inner-city population: a comparison of diagnostic methods". J Infect Dis 152: 419-423. (1985).
137. Qvisgtad, E., Hirschberg, H. "Lack of cell-mediated cytotoxicity towards *Chlamydia trachomatis* infected target cells in humans". Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect C

131. Persson, K., Ronnerstam, R. "Neonatal eye infections caused by *Chlamydia trachomatis*". Scand J Infect Dis Suppl 32: 141-145. (1982).
132. Peterson, E.M., Maza, L.M. de la "Characterization of Chlamydial DNA by restriction endonuclease cleavage". Infect Immun 41: 604-608. (1983).
133. Potts, M.J., Paul, I.D., Roome, C.H., Caul, E.O. "Rapid diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections in patients attending an ophthalmic casualty department". Br J Ophthalmol 70: 677-680. (1986).
134. Puolakkainen, M., Saikku, P., et al. "Chlamydial pneumonitis and its serodiagnosis in infants". J Infect Dis 149: 598-604. (1984).
135. Purola, E., Paavonen, J. "Routine cytology as a diagnostic aid in Chlamydial cervicitis". Scand J Infect Dis Suppl 32: 55-58. (1982).
136. Quinn, T.C., Warfield, P., et al. "Screening for *Chlamydia trachomatis* infection in an inner-city population: a comparison of diagnostic methods". J Infect Dis 152: 419-423. (1985).
137. Qvisgtad, E., Hirschberg, H. "Lack of cell-mediated cytotoxicity towards *Chlamydia trachomatis* infected target cells in humans". Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect C

92: 153-159. (1984).

138. Rettig, P.J. "Chlamydial infections in pediatrics: not for babies only". *J Pediatr* 104: 82-83. (1984).
139. Ripa, K.T. "Biological principles of the culture of *Chlamydia trachomatis* in cell monolayers". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 25-29. (1982).
140. Ronnerstam, R., Persson, K. "Chlamydial eye infection in adults". *Scan J Infect Dis Suppl* 32: 111-115. (1982).
141. Roosbroeck, R.J.V., Provinciael, D.R. "Activity of the newer quinolones against *Chlamydia trachomatis*". *Br J Vener Dis* 60: 350. (1984).
142. Rose, N.R., Friedman, H. "Manual of Clinical Immunology" 2a. Edición. American Society for Microbiology. Washington D.C. (1980).
143. Rota, T.E., Nichols, R.L. "Infection of cell cultures by Trachoma agente: enhancement by DEAE-dextran". *J Infect Dis* 124: 419-420. (1971).
144. Rudd, P.T., Carrington, D. "A prospective study of Chlamydial, Mycoplasmal and viral unfections in a neonate intensive care unit". *Arch Dis Child* 59: 120-125. (1984).
145. Ruijs, G., Kraai, E.J., et al. "Rapid detection with

- monoclonal antibodies of *Chlamydia trachomatis* in urethral smears and urine sediments". *Lancet* 2: 960-961. (1984).
146. Sabet, S.F., Simmons, J., Caldwell, H.D. "Enhancement of *Chlamydia trachomatis* infectious progeny by cultivation in HeLa 229 cells treated with DEAE-dextran and cicloheximide". *J Clin Microbiol* 20: 217-222. (1984).
147. Sacks, D.L., Mac Donald, B.A. "Isolation of a type-specific antigen from *Chlamydia trachomatis* by sodium dodecyl sulfate polyacrilamide gel electrophoresis". *J Immunol* 122: 136-139. (1979).
148. Saikku, P. "Chlamydial Serology". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 34-37. (1982).
149. Schachter, J., Smith, D.E., Davison, C., et al. "Lymphogranuloma Venereum: I. Comparison of the Frei test, complement fixation test and isolation of the agent". *J Infect Dis* 120: 372-375. (1969).
150. Schachter, J., Chander, P.D., et al. "Evaluation of laboratory methods for detecting acute TRIC agent infection". *Am J Ophthalmol* 70: 375-380. (1970).
151. Schachter, J., Lum, L., Gooding, C.A. "Pneumonitis following inclusion blennorrhoea" *J Pediatr* 87: 779-783. (1975).

152. Schachter, J. "Chlamydial Infections". N Engl J Med 298: 428-435. 490-495, 540-549. (1978).
153. Schachter, J., Holt, J., Goodner, E., et al. "Prospective study of Chlamydial infection in neonates". Lancet 2: 377-380. (1979).
154. Schachter, J. "Chlamidiae", Ann Rev Microbiol 34: 285-309. (1980).
155. Schachter, J., Grossman, M., Azimi, P.H. "Serology of *Chlamydia trachomatis* in infants". J Infect Dis 146: 530-535. (1982).
156. Schmeer, N., Krauss, H. "Purification of genus-specific antigen and its separation into several components by ion-exchange chromatography". J Clin Microbiol 15: 830-834. (1982).
157. Schuch, R.J., Musich, J.R., Nelson, R.L. "Chlamydial proctitis-unusual presentation as a symptomatic vaginal mass". Obstet & Gynecol 63: 132-135. (1984).
158. Shemer, Y., Sarov, I. "Inhibition of growth of *Chlamydia trachomatis* by human gamma-interferon". Infect Immun 48: 592-596. (1985).
159. Sherman, J.K., Jordan, G.W. "Cryosurvival of *Chlamydia trachomatis* during cryopreservation of human spermatozoa".

- Fertil Steril 43: 664-666. (1985).
160. Simson, J.N.L. "Chlamydial perihepatitis (Curtis-Fitz-Hugh syndrome) after hydrotubation". Br Med J 289: 544-545. (1984).
161. Sneddon, J.M., Wenman, W.M. "The effect of ions on the adhesion and internalization of *Chlamydia trachomatis* by HeLa cells". Can J Microbiol 31: 371-374. (1985).
162. Soderlund, G., Kihlstrom, E. "Physicochemical surface properties of elementary bodies from diferents serotypes of *Chlamydia trachomatis* and their interaction with mouse fibroblast". Infect Immun 36: 893-899. (1982).
163. Somogyi, T., Fuentes, L., Murillo, F. "Evidencia de infección por *Chlamydia trachomatis* en Costa Rica". Rev Lat Amer Microbiol 28: 117-120. (1986).
164. Sompolinsky, D., Richmond, S. "Growth of *Chlamydia trachomatis* in Mc Coy cells treated with cytochalasin B". Appl Microbiol 28: 912-914. (1974).
165. Southgate, L.J., Treharne, J.D., Forsey, T. "*Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections in women attending inner city general practices". Br Med J 287: 879-881. (1983).
166. Stamm, W.E., Harrison, H.R., et al. "Diagnosis of

- Chlamydia trachomatis* infections by direct immunofluorescence staining of genital secretions". Ann Int Med 101: 638-641. (1984).
167. Stamm, W.E., Guinan, M.E., Johnson, C., et al. "Effect of treatment regimens for *Neisseria gonorrhoeae* on simultaneous infection with *Chlamydia trachomatis*". N Engl J Med 310: 545-549. (1984).
168. Stamm, W.E., Koutsky, L.A., Benedetti, J.K., et al. "*Chlamydia trachomatis* urethral infections in men". Ann Int Med 100: 47-51. (1985).
169. Stephens, R.S., Tamm, R.M., Kuo, C., et al. "Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization". J Immun 123: 1083-1089. (1982).
170. Stephens, R.S., Kuo, C. "*Chlamydia trachomatis* species specific epitope detected on mouse biovar outer membrane protein". Infect Immun 45: 790-791. (1984).
171. Stephens, R.S., Kuo, C., Newport, G., Agabian, N. "Molecular cloning and expression of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein antigens in *Escherichia coli*". Infect Immun 47: 713-718. (1985).
172. Stone, K.M., Grimes, D.A., Magder, L.S. "Primary

- prevention of sexually transmitted diseases". JAMA.255: 1763-1766. (1986).
173. Stutman. H.R., Philip, M.D., Rettig, M.D., et al. "*Chlamydia trachomatis* as a cause of pneumonitis and pleural effusion". J Pediatr 104: 588-591. (1984).
174. Sundkvist. T., Mardh. B.A. "Serological evidence of *Chlamydia trachomatis* infection in non-immunocompromised adults with pneumonia". J Infect 9: 143-147. (1984).
175. Svensson. L., Mardh. P.A. "Treatment of acute salpingitis with special reference to *Chlamydia trachomatis*". Scand J Infect Dis Suppl 32: 182-188. (1982).
176. Sweet. R.L., Schachter, J., Bowie, M.O. "Failure of beta-lactam antibiotics to eradicate *Chlamydia trachomatis* in the endometrium despite apparent clinical cure of acute salpingitis". JAMA 250: 2641-2645. (1983).
177. Tam. M.R., Stamm, W.E., Handsfield, H.H. "Culture independent diagnosis of *Chlamydia trachomatis* using monoclonal antibodies". N Engl J Med 310: 1146-1150. (1984).
178. Taylor. H.R., Kolarzyk, R.A., et al. "Effect of bacterial secondary infection in an animal model of Trachoma" Infect Immun 44: 614-616. (1984).

179. Taylor, H.R., Rapoza, P.A., Kiessling, L.A. "Rapid detection of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies". *Lancet* 1: 38. (1984).
180. Thomas, B.J., Evans, R.T., Hawkins, D.A. "Sensitivity of detecting *Chlamydia trachomatis* elementary bodies in smears by use of a fluorescein labelled monoclonal antibody: comparison with conventional Chlamydial isolation". *J Clin Pathol* 37: 812-816. (1984).
181. Thorsteinsson, S.B. "Lymphogranuloma Venereum: review of clinical manifestations, epidemiology, diagnosis and treatment". *Scand J Infect Dis Suppl* 32: 127-131. (1982).
182. Todd, W.J., Storz, J. "Ultrastructural cytochemical evidence for the activation of lysosomes in the cytotoxic effect of *Chlamydia psittaci*". *Infect Immun* 1: 259-262. (1975).
183. Todd, W.J., Caldwell, H.D. "The interaction of *Chlamydia trachomatis* with host cells: ultrastructural studies of the mechanisms of release of a biovar 11 strain from HeLa 229 cells". *J Infect Dis* 151: 1037-1044 (1985).
184. Ulstrup, J.C. "*Chlamydia trachomatis*, epidemiology and diagnosis". *Acta Otolaryngol Suppl* 407: 59-61. (1984).
185. Uyeda, C.T., Welborn, P., Birang, N.E., et al. "Rapid diagnosis of Chlamydial infections with the microtrak

- direct test". J Clin Microbiol 20: 948-950. (1984).
186. Vedros, N.A. "Species-specific antigens from Trachoma and Inclusion conjunctivitis (Chlamydial) agents". J Immunol 99: 1183-1189. (1967).
187. Vilchis, V. "El problema de las enfermedades venéreas en México 112: 3. (1976).
188. Wahl, R.W. "*Chlamydia*, repair and intraepithelial neoplasia". Obstet & Gynecol 28: 89. (1984).
189. Wallin, J. "Urethritis in men". Scand J Infect Dis Suppl 32: 85-86. (1982).
190. Wang, S.P., Grayston, J.Y., Alexander, E.R. "Trachoma vaccine studies in monkeys". Am J Ophthalmol. Trachoma and Allied Diseases: 1615-1629. (1967).
191. Wang, S.P., Grayston, J.T. "Immunologic relationship between genital TRIC, LGV and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test". Am J Ophthalmol 70: 367. (1970).
192. Wang, S.P., Kuo, C., Barnes, R.V., Stephens, R.S. "Immunotyping of *Chlamydia trachomatis* with monoclonal antibodies". J Infect Dis 152: 791-800. (1985).
193. Wentworth, B.B., Alexander, E.R. "Isolation of *Chlamydia trachomatis* by use of 5-iodo-2-deoxyuridine-treated

- cells". Appl Microbiol 27: 912-916. (1974).
194. Westrom, L., Svensson, L., Mardh, P.A. "Chlamydial and gonococcal infections in a defined population of women". Scand J Infect Dis Suppl 32: 157-162. (1982).
195. Williams, D.M., Schachter, J. et al. "Pneumonia due to *Chlamydia trachomatis* in the immunocompromised mouse". J Infect Dis 143: 238-241. (1981).
196. Williams, T., Maniar, A.C., Bruham, R.C. "Identification of *Chlamydia trachomatis* by direct immunofluorescence applied in specimens originating in remote areas". L Clin Microbiol 22: 1053-1054. (1985).
197. Wingerson, L. "Two new tests for *Chlamydia* get quick results without culture". JAMA 250: 2257-2259. (1983).
198. Wolner, H.P., Svensson, L., Mardh, P.A. "Isolation of *Chlamydia trachomatis* from the liver capsule of a patient with Fitz-Hugh-Curtis Syndrome". N Engl J Med 306: 113-120. (1982).
199. Yong, E.C., Chinn, J.S., Caldwell, H.D., Kuo, C. "Reticulate bodies as single antigen in *Chlamydia trachomatis* serology with microimmunofluorescence". J Clin Microbiol 10: 351-356. (1979)
200. Young, E., Taylor, H.R. "Immune mechanisms in Chlamydial

eye infection: cellular immune responses in chronic and acute disease" J Infect Dis 150: 745-751. (1984).

201. Zinsser, H., Joklik, W.K., et al. "Microbiología". 18a. Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. (1986).