

# Papel de los anticuerpos en el desarrollo de la infección por *Chlamydia trachomatis* y su utilidad en el diagnóstico

MARCELA LÓPEZ-HURTADO,<sup>a</sup> FERNANDO M. GUERRA-INFANTE<sup>b</sup>

## RESUMEN

Las bacterias del género *Chlamydia* se caracterizan por ser patógenos intracelulares que causan una amplia variedad de padecimientos, tanto en el hombre como en los animales. La respuesta inmunológica humoral ha sido considerada como no útil contra patógenos intracelulares. Sin embargo, hay evidencias convincentes de que los anticuerpos pueden proteger contra muchos de los microorganismos intracelulares o de sus productos. El reto actual es identificar qué antígenos pueden ser útiles para el desarrollo de anticuerpos y vacunas. El objetivo de esta revisión bibliográfica es conocer cómo los anticuerpos anti *Chlamydia* participan en la protección y en el diagnóstico de la enfermedad.

**PALABRA GUÍA:** Chlamydia, enfermedades de transmisión sexual, inmunología, vacunas.

## INTRODUCCIÓN

*Chlamydia trachomatis* es el microorganismo más frecuentemente encontrado en las infecciones de transmisión sexual, produce una variedad de enfermedades clínicas, tales como: tracoma, uretritis, cervicitis, epididimitis, embarazos ectópicos y enfermedad pélvica inflamatoria.<sup>1,2</sup> En Estados Unidos, cada año se informan alrededor de 250,000 casos de enfermedad pélvica inflamatoria, de los cuales 25,000 presentarán como secuela más importante

infertilidad por factor tubárico.<sup>3,4</sup> Este microorganismo también se ha asociado con el desarrollo de otros padecimientos, tales como: artritis reactiva y aterosclerosis, aunque esta última es más frecuente cuando la infección ocurre por *Chlamydia pneumoniae*.<sup>5,6</sup>

En el mundo, se cree que hay más de 50 millones de casos nuevos anualmente y las tasas de prevalencia son muy altas, sobre todo en países en vías de desarrollo (Martinica 26.7%, Senegal 14.6%), en contraste con lo que ocurre en los países desarrollados (Portugal 4.6%, Italia 6.4%, Francia 7.1% y Grecia 7.5%). Los datos publicados sobre su incidencia a nivel mundial (número de casos en millones de habitantes/año) en mujeres son: 2.3 en Norteamérica, 3.2 en Europa Occidental, 0.2 en Australia, 5.1 en América Latina y Caribe, 8.4 en África subsahariana, 1.3 en África del Norte y Oriente Medio, 2.9 en Europa del Este y Asia Central, 2.6 en Asia del Este y Pacífico y 20.3 en Asia del Sur y Sureste.<sup>2,7</sup>

<sup>a</sup> Investigador Asociado B de los Institutos de Salud, Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Perinatología.

<sup>b</sup> Profesor-Investigador de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN y miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Perinatología

*Correspondencia:*

Marcela López-Hurtado

Laboratorio de Virología del Instituto Nacional de Perinatología. Montes Urales 800, Col. Lomas de Virreyes, C.P. 11000, México, D.F. Tel. 55 20 99 00 Ext. 261; Fax: 55 20 00 34; Correo electrónico: fguerra\_96@yahoo.com

Recibido: 28 de agosto de 2002

Aceptado: 3 de octubre de 2002

Los microorganismos que pertenecen al género *Chlamydia* se caracterizan por ser intracelulares obligados, que requieren de adenosina trifosfato (ATP) para su crecimiento, infectan principalmente células epiteliales de las mucosas genitourinarias, respiratorias y conjuntivales, así como células endoteliales (principalmente *C. pneumoniae*) y células del sistema reticuloendotelial (monocitos y macrófagos).<sup>8,9</sup>

La respuesta inmunológica contra los patógenos intracelulares es llevada a cabo, principalmente, por la respuesta inmune mediada por células (IMC).<sup>10</sup> Mientras que la respuesta humoral, que es mediada por anticuerpos específicos, se considera que tiene poco o ningún papel contra los patógenos intracelulares. Esta consideración es:

- Primero, a que ha sido difícil demostrar que los anticuerpos tienen un papel en la protección contra las bacterias intracelulares clásicas, como *Mycobacterium tuberculosis*, *Listeria monocytogenes* y *Leishmania* sp.<sup>11,12</sup>
- Segundo, porque se han realizado estudios que demuestran que la inmunidad mediada por células es la más importante en la eliminación de estas bacterias.
- Tercero, porque existen evidencias de que hay una relación inversa entre la magnitud

de la respuesta humoral y la IMC, lo cual sugiere que los mecanismos inmunológicos de defensa son antagonistas, por lo que una respuesta hacia un microorganismo en particular es predominantemente humoral o celular y, en caso de la presencia de patógenos intracelulares, la respuesta humoral puede interferir con el desarrollo de una efectiva IMC.<sup>11,12</sup>

A pesar de esto, los anticuerpos pueden controlar la infección antes de que el patógeno entre a la célula huésped, siempre y cuando esta respuesta sea lo bastante vigorosa para prevenir la entrada del agente; para ello, el huésped debe haber estado expuesto con anterioridad a la infección y contar con una memoria inmunológica.<sup>10</sup> El conocimiento sobre el papel que juega la inmunidad mediada por anticuerpos, contra los patógenos intracelulares, es de importancia fundamental en la inmunología, en especial en el diseño de vacunas y en el desarrollo de inmunoterapias. Por lo anterior, el objetivo de esta revisión bibliográfica es conocer los avances sobre el conocimiento de cómo los anticuerpos participan en la protección y en el diagnóstico de las infecciones causadas por *C. trachomatis*.

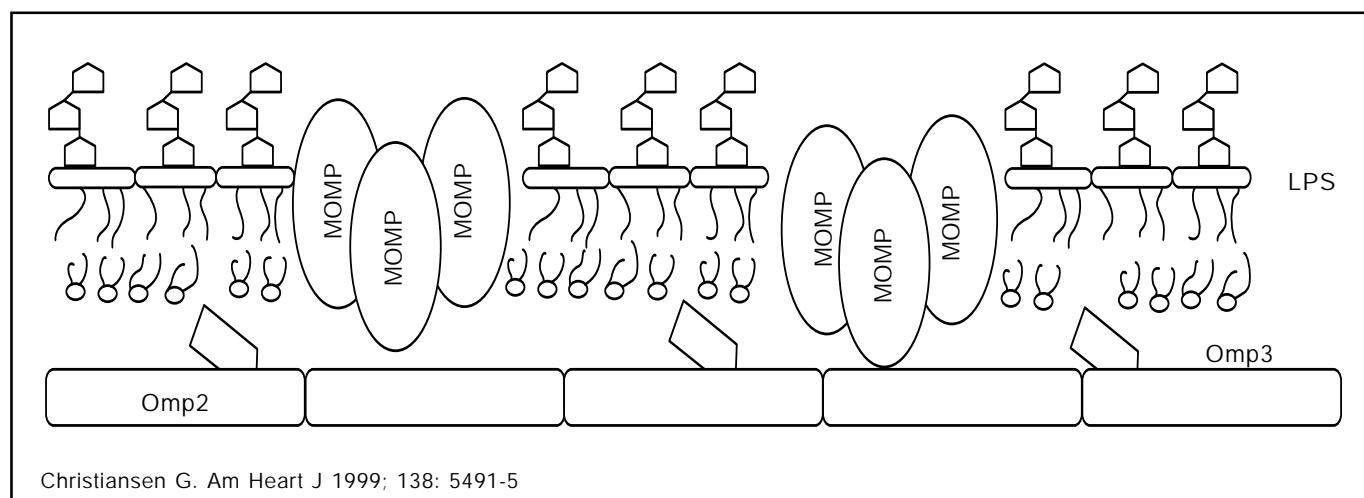


Figura 1

**Estructura de la membrana externa del género *Chlamydia*. Proteína principal de membrana externa (MOMP), Lipopolisacárido (LPS) y genes Omp2 y Omp3**



## ESTRUCTURA DE LA MEMBRANA EXTERNA DEL GÉNERO *CHLAMYDIA*

Al género *Chlamydia* se le considera como bacterias gramnegativas, ya que presentan una membrana externa y una pared celular que carece de ácido murámico (Figura 1). La membrana externa está constituida por: el lipopolisacárido (LPS, específico de género); las proteínas de superficie (codificadas por familias de genes *Omp*), las adhesinas (n-octil β-D-glucopiranósido); y el heparán sulfato (involucrada en la unión a la célula huésped), al igual que las bacterias gramnegativas clásicas, como las enterobacterias.<sup>9,13,14</sup>

Dentro de las proteínas codificadas por la familia de genes *Omp*, está la Proteína Principal de Membrana Externa (MOMP, por sus siglas en inglés) codificada por el gen *Omp1*, con un peso molecular de 40 kDa, la cual representa aproximadamente 60% del total de las proteínas de la membrana;<sup>2,9,13</sup> la MOMP presenta diversas funciones entre las que se encuentran: la integridad estructural de la membrana, la acción de porina (con límite de exclusión de 850 a 2,250 Da) y la de adhesión. Además, esta proteína es inmunogénica, ya que presenta epitopos inmunodominantes (específicos de especie), por lo que se ha considerado como una proteína útil para el desarrollo de vacunas, excepto para el caso de *C. pneumoniae*, ya que esta proteína no está expuesta sobre la superficie de la membrana externa, por lo que su detección mediante técnicas de Western Blot es difícil.<sup>13,14</sup>

Las proteínas de 60 kDa y 12 kDa (codificadas por los genes *Omp2* y *Omp3*) son proteínas ricas en cisteínas y se encuentran solamente en los cuerpos elementales. La proteína de 60 kDa ha sido considerada como el sitio de unión por el cual se une el heparán sulfato, sintetizado por el microorganismo y que está involucrado en la unión a la célula huésped.<sup>15</sup> Las proteínas de 98 kDa (complejo proteico codificado por el gen *Opm4-15*), cuya función es la resistencia al tratamiento con tripsina y proteinasa K (ésta solamente se encuentra en *C. pneumoniae*). Otras proteínas que han sido identificadas son: 18, 28 y 82 kDa, las cuales

tienen propiedades de adhesión (codificadas por un fragmento de 6.7 kb del DNA cromosómico). Además, la proteína de 82 kDa corresponde a un producto del gene *dnaK* de *Chlamydia* (genes de choque térmico con similitud a *groEL*) y que es homóloga a una proteína de choque térmico de 72 kDa (*hsp72*) de *Chlamydia* que se encuentra localizada sobre la membrana externa.<sup>13-15</sup>

## LA RESPUESTA INMUNOLÓGICA HUMORAL DURANTE LA INFECCIÓN POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

La infección por *Chlamydia*, tanto en los modelos animales como en el humano, induce una respuesta de anticuerpos específica. Por ejemplo, Brunham y col.<sup>16</sup> encontraron evidencias de que la infección cervical en mujeres induce la respuesta de anticuerpos IgM e IgG específicos, y que el incremento en el título de anticuerpos IgM séricos, se encuentra altamente asociado con el número de organismos encontrados en el cervix; mientras que el título de anticuerpos IgA de las secreciones cervicales, es inversamente proporcional al número de bacterias presentes en el cervix. Los resultados finalmente demostraron que la relación más importante, entre el número de bacterias y los anticuerpos, estuvo dada con la IgA secretora.

Los dos componentes más importantes de *Chlamydia*, que inducen la aparición inicial de la respuesta inmunológica humoral, son el LPS y la MOMP (*Omp1*). Ambas sustancias provocan la aparición de anticuerpos neutralizantes, de los cuales, unos bloquearán el efecto tóxico del LPS, y otros, la adhesión de la bacteria a su célula huésped (anticuerpos anti MOMP).<sup>17</sup>

Debido a las características estructurales del LPS, el cual consiste de un lípido A de una región central constituida por heterooligosacáridos (denominada core) y del antígeno O (unidades oligosacáridicas), lo hacen ser un antígeno tóxico y timo independiente.<sup>9,10,18</sup> Es tóxico, porque induce la producción de citocinas proinflamatorias como IL-1 y TNF, las cuales en grandes cantidades producen caquexia en el individuo; y es timo independiente, porque puede estimular directamente

a los linfocitos B, induciendo su diferenciación y producción de anticuerpos, esto debido principalmente a las unidades repetitivas de oligosacáridos, que presenta el antígeno O.<sup>9,10,18</sup>

En el caso de la MOMP, los antisueros y los anticuerpos monoclonales obtenidos de la inmunización de animales, han demostrado que existen diferentes dominios antigenicos en esta proteína, lo que ha generado que estos anticuerpos tengan una gran utilidad, tanto en el diagnóstico como en la serotipificación, ya que éstos han identificado 18 serovariiedades diferentes de *Chlamydia trachomatis*, que han sido clasificadas con letras de la A-L, y los cuales están asociados a los diversos padecimientos clínicos que produce este microorganismo (Tabla 1).<sup>19,20</sup> Además, se ha demostrado que los anticuerpos anti MOMP neutralizan la infección por *Chlamydia*, tanto en cultivo celular, como en los modelos animales.

Sin embargo, cabe señalar que los genes que codifican para esta proteína (*Omp1*) muestran un gran polimorfismo alélico que, al parecer, ocurre frecuentemente debido a las mutaciones puntuales y/o por eventos recombinantes.<sup>21</sup> Este tipo de polimorfismo puede representar un mecanismo de evasión por parte de la bacteria a respuesta inmune humoral, ya que el cambio de un solo aminoácido en la MOMP puede evadir la acción de los anticuerpos neutralizantes, lo que tiene implicaciones importantes para el desarrollo de vacunas, y que no ha sido analizado aún en modelos animales.

Recientemente han recibido una considerable atención los anticuerpos antiproteína de choque térmico (hsp) de 60 kDa de *C. trachomatis* (Chsp60). Esta Chsp60 es una proteína que

pertenece a la familia de Gro-El y que muestra una homología del 50% con las hsp humanas de 60 kDa.<sup>22,23</sup> De esta manera, una respuesta inmune iniciada por la infección por *Chlamydia* puede resultar en una reactividad cruzada con células y/o tejidos humanos.<sup>23-25</sup> Esto puede ser un mecanismo por el cual la bacteria puede inducir una respuesta inmune detrimental.

Varias investigaciones han demostrado que una alta proporción de mujeres con enfermedad pélvica inflamatoria presentan anticuerpos contra la Chsp60, de igual manera, se han evidenciado estos anticuerpos en mujeres que presentan infertilidad por factor tubárico o embarazos ectópicos.<sup>24-26</sup> Lo que demuestra que esta proteína participa de manera importante en el desarrollo del fenómeno inflamatorio y probablemente en el desarrollo de una autoinmunidad órgano específico, que se manifiesta posiblemente con el progreso de una obstrucción tubárica o la formación de adherencias. Esto debido quizás, a la gran homología que exhibe la Chsp60 con las hsp humanas, lo que además podría ser un mecanismo de evasión del microorganismo hacia los anticuerpos producidos por el huésped.<sup>24-26</sup>

Se ha observado que durante el curso de la infección por *Chlamydia*, la producción de anticuerpos específicos contra el LPS y la MOMP son primero del isotipo IgM, éstos se presentan aproximadamente de dos a tres semanas después del contacto con la bacteria y se mantienen de uno a dos meses para después inducir la producción de anticuerpos del tipo IgG. Sin embargo, este tipo de respuesta depende del serotipo de *Chlamydia*, localización

**Tabla 1**  
**Serotipos de *Chlamydia trachomatis* que producen enfermedades en el hombre**

Grupo	Serotipo	Enfermedad
LGV	L <sub>1</sub> , L <sub>2</sub> , L <sub>2a</sub> , L <sub>3</sub>	Linfogranuloma venéreo
TRIC	A, B, B <sub>a</sub> , C	Tracoma
TRIC	D, D <sub>a</sub> , E, F, G, H, I, I <sub>a</sub> , J, K	Conjuntivitis de inclusión (adultos y neonatos), infecciones de genitales (uretritis no gonocócica, epididimitis, cervicitis, salpingitis) y neumonía neonatal



y gravedad de la infección y del individuo infectado.<sup>27</sup>

Uno de los problemas importantes para el desarrollo de anticuerpos, y que ha sido comentado durante esta revisión, es que *Chlamydia* es un microorganismo intracelular, que va liberando antígenos de acuerdo con su ciclo de vida, que es de 48 a 72 horas. Otro problema es que el microorganismo puede infectar a la célula vecina mediante la formación de puentes intracitoplasmáticos, sin que se exponga la bacteria al espacio extracelular.<sup>9</sup>

Estudios en modelos experimentales han demostrado que la inmunidad humoral juega un papel importante en la resolución de la infección y en la protección contra una reinfección con esta bacteria, esto es debido a una mayor producción de anticuerpos, a diferencia de lo que ocurre en una infección primaria. Por ejemplo, en cobayos inoculados intravaginalmente con *C. psittaci*, éstos desarrollaron anticuerpos IgG séricos a los 12 días postinoculación, alcanzando un pico máximo entre los 20 y 30 días y persistiendo por dos años. Después de una reinfección, los niveles de anticuerpos alcanzan su pico máximo a los 14 días, mientras que la presencia de inclusiones en el tracto vaginal es negativa a los 21 días postinoculación, sugiriendo de esta manera que los anticuerpos juegan un papel importante en la protección del animal.<sup>28,29</sup>

En el caso de una infección crónica, los niveles de anticuerpos IgM e IgG se incrementan rápidamente y permanecen elevados los anticuerpos IgG durante los períodos de inoculación semanal. Los anticuerpos IgA se desarrollan más lentamente que los anticuerpos IgG (el pico óptimo es a los 56 días después de la primera inoculación), aunque ambos se mantienen elevados durante el curso de la infección experimental. Después del tratamiento con el antibiótico de elección los anticuerpos IgA desaparecen (posiblemente por la vida media que tiene esta inmunglobulina) mientras que los anticuerpos IgG perduran de manera elevada por años.<sup>28,29</sup>

A pesar de lo anterior, aún está en controversia la participación de la respuesta inmunológica humoral en la protección contra la infección por

*Chlamydia*, ya que la inmunización de ratones o monos con péptidos sintéticos de la MOMP (que incluyen epitopos para linfocitos T y B) inducen la producción de altos niveles de anticuerpos IgG, los cuales neutralizan al microorganismo *in vitro*, pero no protegen al animal inmunizado de la infección en las mucosas. Esta aparente paradoja no es explicada con el hecho de la presencia de una barrera epitelial de las mucosas, ya que la IgG es capaz de pasar a través de éstas mediante trasudación. La única explicación posible es que estos péptidos inducen anticuerpos no protectores, o que éstos no llegan a la zona de lesión. Por otro lado, los ratones que han sido tratados con anticuerpos anti- $\mu$  para la eliminación de linfocitos B, han mostrado que éstos pueden resolver la infección y protegerse de una reinfección por *Chlamydia*, lo que sugiere que los anticuerpos anti *Chlamydia* no son esenciales para una respuesta inmune protectora.<sup>30,31</sup>

Sin embargo, en ratones *knockout*, deficientes de anticuerpos, el número de unidades formadoras de inclusión (UFI) de *C. trachomatis* durante una infección cervical, es mayor en comparación con el grupo de ratones que pueden producir anticuerpos. También se ha evidenciado que en la reinfección en los ratones *knockout* hay un aumento en el número de UFI en comparación con el grupo control. El análisis sobre el isotipo de los anticuerpos séricos involucrados en la disminución de las UFI de los ratones normales fue: IgG2a, IgG2b e IgA. Estos últimos resultados sugieren que los anticuerpos pueden participar en la neutralización del cuerpo elemental posiblemente al bloquear su sitio de adhesión a la célula epitelial.<sup>31</sup>

## ANTICUERPOS DE REACCIÓN CRUZADA CON OTROS MICROORGANISMOS

El diagnóstico de infecciones por microorganismos intracelulares o bacterias de difícil crecimiento, frecuentemente se basa en la presencia de anticuerpos específicos contra el patógeno en cuestión, sin embargo, las pruebas serológicas deben de interpretarse con ciertas reservas debido a la posible reactividad cruzada con otros patógenos.

Desde finales de los años setenta se describió la reactividad cruzada entre el género *Chlamydia* y *Acinetobacter calcoaceticus* var *anitratus*, la cual está dada por la similitud que existe entre el LPS de ambas bacterias, principalmente en la región del "core".<sup>32</sup> Años después se reportó la reactividad cruzada con el LPS de mutantes rugosas de *Salmonella sp.*,<sup>33</sup> y en los últimos años se ha reportado contra el género *Bartonella*, *Yersinia enterocolitica* y *Proteus OX-19*, en donde los sueros de pacientes con infección por estos microorganismos también muestran niveles elevados de anticuerpos contra el género *Chlamydia*.<sup>34-36</sup> Aunque cuando estos sueros son absorbidos con estas bacterias, los títulos de anticuerpos contra *Chlamydia* se ven disminuidos, y en algunos casos llegan a ser negativos. El análisis por Western Blot de los sueros de pacientes con *C. pneumoniae* contra un extracto de *Bartonella quintana*, ha evidenciado que estos sueros reconocen proteínas de *B. quintana* con pesos moleculares que van de 34.9 a 84 kDa.<sup>34</sup> También se ha descrito la existencia de otros antígenos que pueden mostrar reactividad cruzada con el género *Chlamydia*, como es la hsp60 de *Chlamydia* que tiene alta homología con la hsp60 de *E. coli*.<sup>22</sup>

Con estos resultados se demuestra la importancia de caracterizar los antígenos de reactividad cruzada entre *Chlamydia* y otros patógenos cuando el diagnóstico se realiza por serología, esto, con el objetivo de evitar el uso de antígenos que muestran gran reactividad cruzada y dar resultados falsos positivos en aquellos pacientes que no presentan la infección por *Chlamydia*.

## **EL DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE INFECCIÓN POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS***

Las pruebas serológicas generalmente no son útiles en el diagnóstico de infección del tracto genital por *C. trachomatis*, debido a varias razones que se discutirán a continuación:

1. Aunque en décadas pasadas los métodos serológicos no han sido totalmente satisfactorios para el diagnóstico de infección por *Chlamydia*, aún existen controversias sobre

su utilidad, debido a que los niveles de anticuerpos IgG producidos durante una infección por *C. trachomatis* se encuentran elevados por mucho tiempo, por lo que una prueba de anticuerpos positiva no distinguiría una infección anterior de una infección actual.<sup>27,37</sup> A pesar de esto, el análisis de muestras de suero de pacientes en fase de convalecencia muestra que el título de anticuerpos se incrementa cuatro veces, siendo éstos predictores de una infección activa. Sin embargo, se requiere de al menos un mes o más, para llegar a estos títulos de anticuerpo.<sup>38</sup>

2. La presencia de anticuerpos IgM es un marcador inexacto de infección aguda en adolescentes y adultos, ya que este anticuerpo a menudo no está presente, presumiblemente porque estas personas han sido infectadas previamente con *C. trachomatis*, u otra especie de *Chlamydia* como *C. pneumoniae*, generando así una respuesta anamnética a una exposición reciente, por un lado, y por el otro, en 70% de los pacientes la infección cursa asintomática, por lo que los anticuerpos IgM ya no se encuentran presentes cuando se realiza el diagnóstico de infección. Sin embargo, dos excepciones han sido descritas en cuanto a la utilidad que muestran los anticuerpos IgM en el diagnóstico: la primera es en el caso de recién nacidos con neumonía por *C. trachomatis*, y la segunda, en pacientes con linfogranuloma venéreo (LGV).<sup>38,39</sup> Los pacientes con LGV desarrollan una infección sistémica con una alta respuesta de anticuerpos comparada con los pacientes que muestran infección genital localizada.

A pesar de esto, las pruebas serológicas han tenido mayor utilidad en la detección de pacientes con enfermedad pélvica inflamatoria o infertilidad por factor tubárico (adherencias u obstrucción tubo-ovárica), ya que estos padecimientos se encuentran asociados en un alto porcentaje con la infección previa por *C. trachomatis*. Debido a esta alta asociación, varios países industrializados han incluido en su clínica ginecológica las pruebas serológicas que identifican a los anticuerpos anti *Chlamydia*.



como métodos de diagnóstico para la detección de mujeres con infertilidad por factor tubárico o enfermedad pélvica inflamatoria,<sup>40-44</sup> antes de que se les realice una histerosalpingografía y/o una laparoscopia para confirmar su padecimiento.

El primer método serológico empleado para el diagnóstico de infección por *C. trachomatis* fue la prueba de fijación de complemento, que fue utilizada ampliamente en los años setenta por su alta sensibilidad en infecciones sistémicas.<sup>37</sup> Sin embargo, ésta cayó en desuso por su baja sensibilidad en infecciones locales y fue sustituida por la microinmunofluorescencia (MIF). La MIF fue desarrollada a principios de los años setenta como una herramienta útil en los estudios epidemiológicos de infección por *Chlamydia*, gracias a que cuenta con una serie de características, tales como: a) es la prueba serológica más sensible y es la única capaz de detectar la respuesta especie específica y serovar-específica; b) es el método de elección para detectar anticuerpos IgM anti *C. trachomatis* en neonatos con neumonía; y, c) es la prueba de mayor exactitud para detectar la presencia de anticuerpos IgG en cualquier tipo de paciente infectado con diferentes serovariiedades de *C. trachomatis*.<sup>20,37</sup> La desventaja de este método es que es una prueba laboriosa que emplea antígenos costosos que no están disponibles en el comercio.

Los antígenos que se emplean en la prueba de MIF consisten en cuerpos elementales crecidos en embrión de pollo o en cultivo celular y que son formalinizados y preparados en una suspensión del 1 al 3%. Este antígeno es depositado en forma de manchas sobre portaobjetos y distribuidos en forma de un conjunto de serovares. El conjunto de serovares está constituido por cuatro grupos: [L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> y L<sup>3</sup>], [B, E y D], [C, H, I y J] y [G, F y K], si en alguno hay reacción, se buscará el serotipo exacto, con laminillas que contienen manchas para cada uno de los serotipos de ese conjunto.<sup>20,37</sup> La prueba de MIF consiste en hacer diluciones seriadas de cada uno de los sueros que son colocados en cada una de las manchas, durante 30 minutos a una hora de incubación a 37 °C, posteriormente son

lavados, secados y teñidos con un segundo anticuerpo antiimmunoglobulinas humanas totales o específicas para cada isotipo (IgG, IgM o IgA) conjugado a fluoresceína. Los resultados se determinan basándose en cuál antígeno muestra una mayor fluorescencia a una mayor dilución.<sup>20,37</sup>

Aunque la prueba de MIF no está disponible en el comercio, existen otras pruebas que miden la presencia de anticuerpos, ya sea por el método de ELISA o por inmunofluorescencia indirecta (IFA, por sus siglas en inglés). La primera muestra una sensibilidad de 91% y la segunda de 97% con respecto a la técnica de MIF.<sup>43,44</sup> Sin embargo, su utilidad se limita solamente a detectar anticuerpos IgG o IgA.

La técnica de ELISA detecta anticuerpos contra antígenos específicos de género o LPS de cuerpos elementales o cuerpos reticulares. En los últimos años esta técnica ha mostrado avances sobre el tipo de antígeno que debe ser empleado para evitar la detección de anticuerpos de reactividad cruzada con otros patógenos. Gracias al conocimiento de la estructura molecular de la MOMP y de las hsp, se han diseñado métodos de ELISA que emplean péptidos sintéticos que evitarán la detección de anticuerpos de reacción cruzada, estas investigaciones ya se están realizando tanto en el diagnóstico de infección por *C. psittaci* en rumiantes como la infección por *C. trachomatis* en humanos, aunque aún están en periodo de evaluación,<sup>45,46</sup> por lo que aún no han sido considerados como métodos útiles en el diagnóstico de infección por *C. trachomatis*. En el caso de la detección de anticuerpos IgM anti *C. trachomatis* de recién nacidos con neumonía, aún está en controversia si el método de ELISA puede ser útil, ya que éste es menos sensible que la prueba de MIF, por lo que es necesario realizar un mayor número de estudios sobre este tema.<sup>37</sup>

La técnica de IFA tiene una mayor sensibilidad que la prueba de ELISA, ya que puede detectar cuerpos elementales o reticulares o toda la inclusión, y es muy parecida a la prueba de MIF, ya que su evaluación consiste en detectar el título de anticuerpos, en donde aún hay fluorescencia. Algunos estudios han

sugerido que esta prueba es útil para detectar una infección activa, tanto como una prueba de PCR para detectar DNA plasmídico (con una sensibilidad del 100% y una especificidad del 81%).<sup>19,37,44</sup> En términos generales, con la prueba de IFA para una sola muestra de suero se considera que títulos entre 1:8 a 1:64 pueden ser indicativos de una infección pasada; mientras que títulos  $\geq 1:128$  sugieren que estos pacientes tienen una infección activa. Sin embargo, un estudio epidemiológico finlandés ha demostrado que 4.1% de las mujeres donadoras de sangre aparentemente sanas presentan títulos de anticuerpos anti *Chlamydia*  $\geq 1:128$ ; mientras que 1.6%  $\geq 1:256$ , indican que semejantes títulos de anticuerpos IgG se pueden mantener elevados.<sup>47</sup> Posiblemente esta elevación esté dada por una reactividad cruzada contra *C. pneumoniae*, en donde la prevalencia por este microorganismo se ha calculado que es de 50 a 70% en los países industrializados.<sup>47</sup>

En México no se conoce la prevalencia de anticuerpos anti *Chlamydia trachomatis* en población abierta. Estudios realizados por nuestro grupo de investigación demuestran que 80% de los sueros de pacientes que asisten a la clínica de infertilidad del Instituto Nacional de Perinatología presentan anticuerpos anti *Chlamydia* con títulos que van de 1:8 a 1:1024<sup>48</sup> y en donde las pacientes con infección activa mostraron títulos de anticuerpos  $\geq 1:128$ , los cuales fueron significativos ( $p < 0.01$ ), además de que corroboraron con la infección, en comparación con el grupo control.

Debido a que 70% de las infecciones pélvicas con este microorganismo ocurren de manera asintomática<sup>1,2,7</sup> la prueba de IFA ha sido empleada como una prueba no invasiva para detectar el daño ginecológico provocado por la infección previa con *Chlamydia trachomatis*. Los datos en la literatura describen que 75% de las mujeres con infertilidad por factor tubárico (diagnosticado por laparoscopia y/o histerosalpingografía [HSG]) muestran títulos significativamente elevados de anticuerpos anti

*Chlamydia* comparado con 20 a 40% de las mujeres fértiles.<sup>38,40,42</sup> Estos títulos de anticuerpos han sido considerados tan predictivos como la técnica de HSG en el diagnóstico de infertilidad por factor tubárico (IFT). Por lo anterior algunos países desarrollados han introducido pruebas serológicas que identifican la presencia de anticuerpos anti *Chlamydia* como un método simple para la detección de mujeres con IFT,<sup>38,40,42</sup> de hecho la detección de anticuerpos anti *Chlamydia* es una prueba que se ha asociado con la presencia de altos títulos de anticuerpos y el desarrollo de adherencias.<sup>40</sup> A pesar de lo anterior, estas pruebas no han sido evaluadas en mujeres latinoamericanas con IFT, por lo que es necesario validarlas para considerarlas útiles en el diagnóstico de IFT.

Aunque falta mucho por investigar sobre la asociación entre los niveles de anticuerpos anti *Chlamydia* y la presencia de una IFT en la población de mujeres mexicanas, los resultados obtenidos en pacientes con infertilidad que asisten al Instituto Nacional de Perinatología han evidenciado que el empleo de la prueba IFA para el diagnóstico de IFT, es de una sensibilidad y una especificidad de 45 y 80%, respectivamente (con respecto a los datos laparoscópicos), sólo en aquellas mujeres que presentaron adherencias tubáricas ( $p < 0.05$ ), y que mostraron títulos de anticuerpos IgG anti *Chlamydia*  $\geq 1:512$ .<sup>49</sup>

Aunque la prueba de IFA pudiera ser útil en el diagnóstico de infección activa por *Chlamydia* o en la detección de pacientes con IFT, se debe evaluar esta prueba en diferentes poblaciones de pacientes que sufren infertilidad o infecciones de transmisión sexual, tanto en México como en Latinoamérica, debido a que existe un alto porcentaje de personas que sufren infecciones por *Salmonella* o que están frecuentemente en contacto con esta bacteria, lo que generaría el desarrollo de niveles elevados de anticuerpos de reacción cruzada anti *Chlamydia* y por lo tanto daría un alto porcentaje de resultados falsos positivos.

## ABSTRACT

One of the main characteristics of *Chlamydia* genus is to be intracellular pathogens that cause a great variety of disorders in animals and people in worldwide. The humoral immunity against intracellular microorganisms has been considered as an immune response not useful to eliminate these microorganisms. However, there are evidences about antibodies that can protect against several intracellular microorganisms or their products. Up to date the challenge is to identify antigens that could be useful for the development of antibodies and vaccines. The aim of this bibliographical revision is to know as the anti *Chlamydia* antibodies participate in the protection and diagnosis against the Chlamydial infections.

**KEY WORDS:** Chlamydia, sexual infections, immunology, vaccine.

## REFERENCIAS

1. Cates W, Wasserheit J. Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. Am J Obstet Gynecol 1991; 164 (6 Pt2): 1771-81.
2. Stam W E. *Chlamydia trachomatis* infections: Progress and problems. J Infect Dis 1999; 179 (Suppl 2): S380-3.
3. Curran JW. Economic consequences of pelvic inflammatory disease in the United States. Am J Obstet Gynecol 1980; 138(7 Pt2): 848-51.
4. Centers for Disease Control: Pelvic inflammatory disease: guidelines for prevention and management. Morb Mortal Wkly Rep 1991; 40: 1-25.
5. Sieper J, Kingsley G. Recent advances in the pathogenesis of reactive arthritis. Immunol Today 1996; 17: 160-3.
6. Ewald PW, Cochran GM. *Chlamydia pneumoniae* and cardiovascular disease: An evolutionary perspective in infectious causation and antibiotic treatment. J Infect Dis 2000; 181 (Suppl 3): S394-401.
7. Cacho J, Sanz F, Blanco MA. La enfermedad silenciosa por *Chlamydia trachomatis*: necesidad urgente de detección y tratamiento en mujeres. Enferm Infect Microbiol Clin 2001; 19: 419-21.
8. Kiviat NB, Peterson M, Kinney-Thomas E, Tam M, Stamm WE, Holmes KK. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. II. Confirmation of *Chlamydia trachomatis* infection by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies. JAMA 1985; 253: 997-1000.
9. Guerra-Infante FM, López-Hurtado M. Mecanismos inespecíficos en la eliminación de *Chlamydia trachomatis*. Perinatol Reprod Hum 1999; 13: 205-13.
10. Guerra-Infante FM, Arredondo-García JL. Mecanismos inmunológicos en las enfermedades infecciosas. Perinatol Reprod Hum 1994; 8:12-9.
11. Mosmann TR, Sad S. The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2, and more. Immunol Today 1996; 17: 138-46.
12. Stephens RS. Molecular mimicry and *Chlamydia trachomatis* infection of eukaryotic cells. Trends Microbiol 1994; 2: 99-101.
13. Bavoil PM. Determinants of chlamydial pathogenesis and immunity. In: Molecular genetics of bacterial pathogenesis. Miller VL, Kaper JB, Portnoy DA, Isberg RR. (Eds). Washington: American Society for Microbiology; 1994, p. 295-308.
14. Christiansen G, Boesen T, Hjernø K, Daugaard L, Mygind P, Madsen AS, Knudsen K, Falk E, Birkelund S. Molecular biology of *Chlamydia pneumoniae* surface proteins and their role in immunopathogenicity. Am Heart J 1999; 138: S491-5.
15. Birkelund S, Mygind P, Holm A, Larsen B, Beck F, Christiansen G. Characterization of two conformational epitopes of the

- Chlamydia trachomatis* serovar L2 DnaK immunogen. Infect Immun 1996; 64: 810-7.
16. Brunham RC, Kuo CC, Cles L, Holmes KK. Correlation of host immune response with quantitative recovery of *Chlamydia trachomatis* from human endocervix. Infect Immun 1983; 39: 1491-4.
  17. Rank R. Role of the immune response. In: Microbiology of *Chlamydia*. Boca Raton, Florida: Barron AL (Eds). CRC Press; 1988, p. 218-34.
  18. Casadevall A. Antibody-mediated protection against intracellular pathogens. Trends Microbiol 1998; 6: 102-7.
  19. Lan J, Walboomers JMM, Roosendaal R, van Doornum GJJ, MacLaren DM, Meijer LM, van den Brule AJC. Direct detection and genotyping of *Chlamydia trachomatis* in cervical scrapes by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin Microbiol 1993; 31: 1060-5.
  20. Wang SP, Grayston JT. Immunologic relationship between genital TRIC, lymphogranuloma venereum, and related organisms in a new microtiter indirect immunofluorescence test. Am J Ophthalmol 1970; 70: 367-74.
  21. Sothard DR, Boguslawski G, Jones RB. Phylogenetic analysis of the *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein and examination of potential pathogenic determinants. Infect Immun 1998; 66: 3618-25.
  22. Cerrone MC, Jeffrey JMA, Stephens RS. Cloning and sequence of the gene for heat shock protein 60 from *Chlamydia trachomatis* and immunological reactivity of the protein. Infect Immun 1991; 69: 79-90.
  23. Witkin SS, Jeremias J, Toth M, Ledger WJ. Cell-mediated immune response to the recombinant 57-kDa heat-shock protein of *Chlamydia trachomatis* in women with salpingitis. J Infect Dis 1993; 167: 1379-83.
  24. Dieterle S, Wollenhaupt J. Humoral immune response to the chlamydial heat shock proteins hsp60 and hsp70 in *Chlamydia*-associated chronic salpingitis with tubal occlusion. Hum Reprod 1996; 11: 1352-6.
  25. De Haro-Cruz MJ, Flores-Medina S, Zamora-Ruiz A, López-Hurtado M, Guerra-Infante FM. Presencia de anticuerpos antiproteínas de útero en suero de pacientes con problemas ginecológicos. An Esc Nac Cienc Biol Méx 1999; 45: 37-50.
  26. Witkin SS, Ledger WJ. Antibodies to *Chlamydia trachomatis* in sera of women with recurrent spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol 1992; 167: 135-9.
  27. Williams DM. Stimulation of immune response. In: Microbiology of *Chlamydia*. Barron AL (Eds). Boca Raton, Florida: CRC Press; 1988, p. 209-16.
  28. Batteiger BE, Rank RG. Analysis of the humoral immune response to chlamydial genital infections in guinea pigs. Infect Immun 1987; 55: 1767-73.
  29. Rank RG, Barron AL. Humoral immune response in acquired immunity to chlamydial genital infection of female guinea pigs. Infect Immun 1983; 39: 463-5.
  30. Ramsey KH, Soderberg LSF, Rank RG. Resolution of *Chlamydial* genital infection in B-cell-deficient mice and immunity to re-infection. Infect Immun 1988; 56: 1320-5.
  31. Su H, Feilzer K, Caldwell HD, Morrison RP. *Chlamydia trachomatis* genital tract infection of antibody-deficient gene knockout mice. Infect Immun 1997; 65: 1993-9.
  32. Brade H, Brunner H. Serological cross-reactions between *Acinetobacter calcoaceticus* and *Chlamydiae*. J Clin Microbiol 1979; 10: 819-23.
  33. Brade L, Nano FE, Schlecht S, Schramek and Brade H. Antigenic and immunogenic properties of recombinants from *Salmonella typhimurium* and *Salmonella minnesota* rough mutants expressing in their lipopolysaccharide a genus-specific chlamydial epitopes. Infect Immun 1987; 55: 482-6.
  34. Maurin M, EB F, Etienne J, Raoult D. Serological cross-reaction between *Bartonella* and *Chlamydia* species: implications for diagnosis. J Clin Microbiol 1997; 35: 2283-6.
  35. Lahesmaa-Rantala R, Stahlberg TH, Granfors K, Kuusisto P, Toivanen A. Serological cross-reactions against *Yersinia enterocolitica* in patients infected with other



- arthritis-associated microbes. *Clin Exp Rheumatol* 1990; 8: 5-9.
36. Rivera-Méndez M, Guerra-Infante FM, Hernández-Méndez JT, Sumano-Avendaño E. Presencia de anticuerpos IgA anti *Chlamydia* con reactividad cruzada a otros microorganismos. XXV Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2000 (Suppl); 20: 10.
37. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10: 160-84.
38. Land JA, Evers JLH, Goossens VJ. How to use *Chlamydia* antibody testing in subfertility patients. *Hum Reprod* 1998; 13: 1094-8.
39. Thomas K, Coughlin L, Mannion PT, Haddad NG. The value of *Chlamydia trachomatis* antibody testing as part of routine infertility investigations. *Hum Reprod* 2000; 15: 1079-82.
40. Mol BWJ, Collins JA, Van der Veen F, Bossuyt PMM. Cost-effectiveness of hysterosalpingography, laparoscopy and *Chlamydia* antibody testing in subfertile couples. *Fertil Steril* 2001; 75: 571-80.
41. Schachter J, Dawson CR (Eds). Laboratory diagnosis. In: Human *Chlamydial* infections. Massachusetts: PSG Publishing Company, Littleton; 1978, p. 181-220.
42. Tanikawa M, Harada T, Katagiri C, Onohara Y, Yoshida S, Terakawa N. *Chlamydia trachomatis* antibody titres by enzyme-linked immunosorbent assay are useful in predicting severity of adnexal adhesion. *Hum Reprod* 1996; 11: 2418-21.
43. Mattila A, Miettinen A, Heinonen PK, Teisala K, Punnonen R, Paavonen J. Detection of serum antibodies to *Chlamydia trachomatis* in patients with chlamydial and Nonchlamydial pelvic inflammatory disease by the IPAzyme *Chlamydia* and enzyme immunoassay. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 998-1000.
44. Chernesky M, Luinstra K, Sellors J, Schachter J, Moncada J, Caul O, Paul I, Mikaelian L, Toye B, Paavonen J, Mahony J. Can serology diagnose upper genital tract *Chlamydia trachomatis* infection? *Sex Transm Dis* 1998; 25: 14-9.
45. Kaltenboeck B, Heard D, DeGraves FJ, Schmeer N. Use of synthetic antigens improves detection by enzyme-linked immunosorbent assay of antibodies against abortigenic *Chlamydia psittaci* in ruminants. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2293-8.
46. Bas S, Muzzin P, Ninet B, Bornand JE, Scieux C, Vischer TL. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassay using different recombinant proteins as antigens. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1368-77.
47. Tuominen T, Varjo S, Ingman H, Weber T, Oksi J, Viljanen M. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* immunoglobulin G and A antibodies in a healthy Finnish population as analyzed by quantitative enzyme immunoassays. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 734-8.
48. Hubacher D, Lara-Ricalde R, Taylor DJ, Guerra-Infante F, Guzmán-Rodríguez R. Use of cooper intrauterine devices and the risk of tubal infertility among nulligravid women. *New Eng J Med* 2001; 345: 561-7.
49. Guerra-Infante FM, Carballo-Perea R, López-Hurtado M, Zamora-Ruiz A, Flores-Medina S. Evaluación de la prueba serológica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) anti *Chlamydia trachomatis* para el diagnóstico de infertilidad por factor tubárico en mujeres mexicanas. X Congreso de la Asociación Panamericana de Infectología. *Enferm Infect Microbiol Clin* 2001 (Suppl); 21: S145.