

Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en mujeres del Hospital General de Zona No. 29

Aportación original
Vol. 59
Núm. 4

Chlamydia trachomatis prevalence in women from the Hospital General de Zona No. 29

Marcos Ramses Escobedo-Guerra^{1a}, Marcela López-Hurtado^{2b}, Rodrigo Gutiérrez-Trujillo^{2c}, Fernando Martín Guerra-Infante^{2d}

Resumen

Introducción: la *Chlamydia trachomatis* es la principal causa de infecciones bacterianas de transmisión sexual a nivel mundial. Se estima que cada año se producen 131 millones de casos. Cursa de manera asintomática, pero la infección ascendente en mujeres puede conducir a la enfermedad inflamatoria pélvica, embarazo ectópico e infertilidad.

Objetivo: determinar la prevalencia de *C. trachomatis* en mujeres de población abierta que acuden al Hospital General de Zona No. 29.

Material y métodos: se realizó la identificación de *C. trachomatis* por pruebas de PCR a 200 muestras de exudado vaginal y se determinó su genotipo. Paralelamente, se realizó el diagnóstico microbiológico de rutina.

Resultados: la prevalencia de *C. trachomatis* fue del 8.5% (17/200) con una concomitancia significativa de $p = 0.006$ con *Gardnerella vaginalis* (riesgo relativo de 2.871, IC95%: 1.574-5.236). Asimismo, se identificó *C. trachomatis* en cinco muestras como el único agente etiológico. Dieciséis cepas de *C. trachomatis* pertenecieron al genotipo F. Una cepa identificada de *C. trachomatis* presentó motivos genéticos similares a la variante mexicana reportada en 2019.

Conclusiones: la prevalencia de *C. trachomatis* en la población estudiada nos indica la necesidad de implementar técnicas de diagnóstico para esta bacteria. El uso de la PCR permite realizar una determinación genotípica rápida, que explicaría el comportamiento epidemiológico de la *C. trachomatis* y representaría una mejora significativa de la calidad de vida de la paciente.

Abstract

Background: *Chlamydia trachomatis* is the main cause of sexually transmitted bacterial infections worldwide. An estimated of 131 million cases occur each year. It is asymptomatic, but ascending infection in women can lead to pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, and infertility.

Objective: To determine the prevalence of *C. trachomatis* in open population women who attend the Hospital General de Zona No. 29.

Material and methods: Identification of *C. trachomatis* was carried out by PCR testing of 200 vaginal exudate samples and its genotype was determined. In parallel, a routine microbiological diagnosis was carried out.

Results: The prevalence of *C. trachomatis* was 8.5% (17/200) with a significant concomitance of $p = 0.006$ with *Gardnerella vaginalis* (relative risk of 2.871, 95%CI: 1.574-5.236). Likewise, *C. trachomatis* was identified in 5 samples as the only etiological agent. Sixteen strains of *C. trachomatis* belong to genotype F. An identified strain of *C. trachomatis* presented genetic motifs similar to the Mexican variant reported in 2019.

Conclusions: The prevalence of *C. trachomatis* in the studied population indicates the need to implement diagnostic techniques for this bacterium. The use of PCR allows a rapid genotypic determination that would explain the epidemiological behavior of *C. trachomatis* and would represent a significant improvement in the quality of life of the patient.

¹Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional La Raza, Hospital General "Dr. Gaudencio González Garza", Laboratorio de Urgencias. Ciudad de México, México

²Secretaría de Salud, Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes, Departamento de Infectología. Ciudad de México, México

ORCID: 0000-0002-4353-2117^a, 0000-0001-5742-7214^b, 0000-0002-5810-2080^c, 0000-0001-8730-0484^d

Palabras clave

Chlamydia trachomatis
Enfermedades de Transmisión Sexual
Reacción en Cadena de la Polimerasa
Genotipo

Keywords

Chlamydia trachomatis
Sexually Transmitted Diseases
Polymerase Chain Reaction
Genotype

Fecha de recibido: 02/03/2021

Fecha de aceptado: 12/05/2021



Comunicación con:
Marcos Ramses Escobedo Guerra



Teléfono:
55 5520 9900
extensión: 261



Correo electrónico:
syramses@yahoo.com

Introducción

La *Chlamydia trachomatis* es una bacteria considerada como uno de los principales agentes etiológicos de las infecciones de transmisión sexual (ITS). La Organización Mundial de la Salud estima de 4 a 5 millones de casos de infección por *C. trachomatis* por año y que cerca de 50 millones de mujeres se encuentran infectadas a nivel mundial.¹ Asimismo, las características asintomáticas de la infección y su cronicidad son los principales problemas en el diagnóstico, ya que derivan en problemas de salud pública pues se generan secuelas ginecológicas como la enfermedad pélvica inflamatoria, la obstrucción tubo-ovárica y, finalmente, la infertilidad.²

El diagnóstico de las ITS es uno de los retos de la medicina actual tanto para mejorar la calidad de vida del paciente como la reducción de los costos del tratamiento. Las técnicas microbiológicas rutinarias no son funcionales para la identificación de *C. trachomatis* debido a que se trata de un microorganismo intracelular.³ Para su identificación se requiere del cultivo celular y técnicas inmunológicas como la inmunofluorescencia directa, pero estas presentan una baja sensibilidad y especificidad, además se requiere de personal calificado.⁴ Actualmente existen métodos comerciales basados en la amplificación de ácidos nucleicos (NAAT, *Nucleic Acid Amplification Techniques*) para la identificación de *C. trachomatis*, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de punto final, la PCR en tiempo real, la hibridación de sondas, entre otras. Sin embargo, el diagnóstico de la infección por *C. trachomatis* se subestima en el ambiente clínico al considerarse un microorganismo atípico.

En México, la prevalencia reportada de *C. trachomatis* es del 4 al 18% pero son datos de estudios que se han realizado en hospitales de especialidad en ginecología y obstetricia.⁵ La prevalencia de *C. trachomatis* en mujeres en población abierta generalmente se desconoce.⁶ Asimismo, existe el problema de que la mayoría de los centros de salud de este país carecen de los recursos materiales y económicos para incluir este tipo de estudios de manera rutinaria. Sin embargo, en algunos países la incorporación de estas pruebas de diagnóstico tiene un impacto en la salud pública mejorando considerablemente la calidad de vida del paciente.⁷

Considerando los antecedentes nuestro objetivo es la implementación del diagnóstico molecular por PCR para *C. trachomatis* y así obtener la prevalencia de la infección en pacientes de población abierta. Asimismo, realizar los estudios que nos permitan identificar los genotipos de *C. trachomatis* en muestras endocervicales de mujeres que asisten a la clínica ginecológica del Hospital General de

Zona No. 29 “Belisario Domínguez” del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

Material y métodos

Muestras de estudio

La selección de las pacientes se realizó bajo un muestreo sistemático con una progresión aritmética de 4. Se tomó muestra de exudado endocervical a 200 mujeres que presentaban signos clínicos de ITS que fueron atendidas y valoradas por el servicio médico de Ginecología del Hospital General No. 29 del IMSS de la Ciudad de México entre los meses de enero a junio de 2018. Las pacientes recibieron una carta de consentimiento informado, en la que se le informó a cada participante los detalles del proyecto y de su participación en el mismo, aceptando libremente las condiciones, derechos, responsabilidades, riesgos, beneficios y retribuciones, que conllevaban su participación en la investigación. Se incluyeron todas aquellas pacientes con diagnóstico presuntivo de ITS y que aceptaron su participación en el estudio.

De manera general mostraban sintomatología como: flujo vaginal atípico, ardor, dolor, comezón y mal olor. Los exudados endocervicales se conservaron en el medio de transporte Stuart/Amies Transport (Becton Dickinson, NJ, EE. UU.) y fueron almacenadas a 4 °C hasta su análisis.

Extracción de ADN total

Se extrajo el ADN total de las muestras endocervicales utilizando el reactivo de purificación Tripure™ de acuerdo con las especificaciones del fabricante (Boehringer Mannheim, Ingelheim, Alemania). Asimismo, el probable ADN plasmídico presente en las muestras se aisló con el sistema QIAprep Miniprep Kit (Qiagen™, Hilden, Alemania).

Identificación de *C. trachomatis* por PCR

La identificación de *C. trachomatis* se realizó mediante la prueba de la PCR del ORF2 del plásmido críptico. Para esta región se utilizaron los cebadores KL1 y KL2 (sintetizados por IDT®, Coralville, IA, EE. UU.) con un producto de amplificación de 241 pb.⁸ La mezcla de reacción consistió en TaqPCR Máster Mix Kit (Qiagen™), 10 pM de cada iniciador y 5 µL del ADN plasmídico. Para cada ensayo de PCR se utilizó como control positivo el ADN plasmídico de *C. trachomatis* (ATCC® LGV Serovar L2 434 / Bu) y como control negativo el ADN de células HeLa. La amplificación se

realizó en un termociclador PTC-100 (MJ Research Inc™, Hercules, CA, EE. UU.) con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos (95 °C/45 seg, 59 °C/45 seg y 72 °C/1 min) y con una extensión final a 72 °C durante 10 minutos. Los productos de la PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%.

Análisis genotípico de *C. trachomatis*

Para el análisis genotípico se realizó la búsqueda de solo la variante reportada con delección en el ORF1 del plásmido críptico.⁹ Los productos de 742 pb indican un ORF1 completo y de 365 pb un ORF1 con delección.⁹ Se realizó la PCR con 10 pmol de los iniciadores DelC, 2.75 µM de MgCl₂, 0.4 µM de dNTP, 1.0 U de Taq polimerasa (Qiagen™) y 200 ng del ADN plasmídico. La amplificación se llevó a cabo con una desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos (95 °C/45 seg, 60 °C/45 seg y 72 °C/1 min) y una extensión final a 72 °C por espacio de 5 minutos. Para los ensayos de PCR se utilizó como control positivo el ADN plasmídico de *C. trachomatis* variante mexicana (GenBank: KY474387, KY474388 y KX300216). Los productos de la PCR se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%.

La identificación complementaria de las probables variantes o cepas silvestres de *C. trachomatis* se realizó mediante amplificación completa del gen *ompA* y parcial del gen *pmpH* para su posterior genotipificación de las cepas. Se desarrolló la PCR utilizando los cebadores *omp1* y *omp2* (sintetizados por IDT®) para el gen *ompA* con un producto de amplificación de 1183 pb,¹⁰ y en el caso del gen *pmpH*, los oligonucleótidos *pmpHr* y *pmpHf* (sintetizados por MacroGen Inc. CA, EE. UU.) se emplearon para obtener un producto de 392 pb.⁹ La mezcla de reacción para la PCR incluyó 10 pmol de cada oligonucleótido, 2.5 µM de MgCl₂, 0.4 µM de dNTP, 2.0 U de polimerasa Taq (Qiagen™) y 200 ng del ADN total de cada muestra. Se utilizó como control positivo el ADN total de *C. trachomatis* ATCC® VR-902B y como control negativo el ADN de células HeLa. Las condiciones de amplificación consistieron en una desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, seguido de 30 ciclos (95°C/45 seg, 59°C/45 seg y 72°C/1 min) con una extensión final a 72°C durante 10 minutos. Los productos se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa (2%).

Los productos de PCR de los genes *ompA* y *pmpH* se purificaron con el sistema NucleoSpin (Macherey-Nagel™, Düren, Alemania) y se enviaron al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) para su secuenciación mediante el secuenciador ABI PRISM (Applied Biosystems, Waltham, MA, EE. UU.). Las secuencias de los genes *ompA* y *pmpH* se analizaron con el soft-

ware de Chromas (Technelysum Pty Ltd, South Brisbane QLD, Australia), identificado por BLASTn (NCBI, MD, EE. UU.)^{11,12} y alineado con el software ClustalW,¹³ y Multalin (versión 5.4.1, alineación de secuencia múltiple con agrupamiento jerárquico, Francia).¹⁴

Análisis microbiológico

Se inocularon placas de gelosa sangre, chocolate y agar Thayer Martin, MacConkey, Biggy y caldo BBLTrichosol (Becton Dickinson, NJ, EE. UU.). Para el aislamiento específico y selectivo de los probables patógenos, las placas inoculadas se manejaron con condiciones diferentes. La gelosa sangre, chocolate y agar Thayer Martin se incubaron a 37 °C en atmósfera parcial de CO₂ durante 18 horas, aquellas sin crecimiento se mantuvieron hasta las 48 horas y 72 horas en el caso de Thayer Martin. El agar MacConkey se incubó a 37 °C y el Biggy a 28 °C, ambos medios se revisaron a las 18 horas y fueron desechados si no hubo crecimiento. El caldo BBL Trichosol para el cultivo de *Trichomonas vaginalis* se incubó a 37 °C por espacio de 72 horas.

Se prepararon suspensiones bacterianas de las cepas en 3 mL solución salina estéril (NaCl 0.45% a 0.5%, pH 4.5 a 7). La turbidez se ajustó a 0.50-0.63 U con el densitómetro DensiChek™ (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Francia). Las suspensiones bacterianas y las tarjetas de identificación se insertaron en el equipo VITEK® 2 Compact (Biomérieux). La identificación se basó en la comparación de los patrones bioquímicos de los resultados obtenidos con los de referencia (cepas ATCC, American Type Culture Collection).

Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos en este estudio se evaluó con el programa SPSS Statistics 24 (IBM, NY, EE. UU.). Se emplearon las tablas 2 por 2 para determinar la asociación entre las variables y obtener el riesgo relativo de los eventos en presencia del factor respecto al riesgo del evento en ausencia del factor con la prueba Chi cuadrada de Pearson y la prueba exacta de Fisher.

Resultados

Descripción de la población

De las 200 muestras analizadas, el 55.5% de las mujeres presentó datos clínicos de cervicovaginitis, el 8.5% de vaginosis bacteriana y el 7% presentó infección de vías urinarias (IVU). Además, se registraron casos de sangrado

uterino (4%), amenorrea (3.5%), miomatosis uterina (3%), cistocele (1.5%), VIH (1%), VPH (0.5%) e infertilidad (0.5%). Asimismo, se estudiaron muestras de pacientes que presentaban ITS que acudieron a los diferentes controles de la clínica de salud del hospital, como el control durante el embarazo (8%), el control del posparto (4%) y el control en el climaterio (3%).

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis*

La prevalencia detectada por PCR en este trabajo de *C. trachomatis* fue del 8.5% (17/200). De las 17 pruebas positivas, 12 mostraron una concomitancia con otro agente patógeno y 5 se encontraron como el único agente etiológico causante de la infección endocervical en muestras con reporte microbiológico negativo (microbiota normal). En las infecciones múltiples encontradas se observó una

coinfeción con *G. vaginalis* en el 47.05% (8/17), *Streptococcus agalactiae* en el 11.76% (2/17), *Candida sp.* en el 5.88% (1/17) y *E. coli* en el 5.88% (1/17). La identificación de *C. trachomatis* se basó en la amplificación del ORF2 del plásmido críptico con un producto de 241 pb (figura 1). Los datos obtenidos, además de mostrarnos las coinfecciones, también indican 5 pruebas positivas a *C. trachomatis* que por estudios de laboratorio convencionales se emitieron como resultados negativos o con presencia de microbiota normal o no patógena.

Identificación complementaria de *Chlamydia trachomatis*

Solo una cepa de las 17 identificadas de *C. trachomatis* presentó la delección de 377 pb del ORF1 del plásmido críptico, característica principal de las variantes sueca y mexicana que han sido reportadas recientemente⁹ (figura 2). El

Figura 1 En la imagen se muestra el desarrollo electroforético representativo de los productos de PCR para la identificación de *C. trachomatis*

En el carril A se encuentra el control negativo (PCR con ADN de células HeLa), de los carriles B al F muestras clínicas aleatorias con amplicón de 241 pb, en el carril G se encuentra el control positivo, producto de PCR de 241 pb, que pertenece a la amplificación del ORF2 del plásmido de la cepa de *C. trachomatis* ATCC® VR-902B. Carril H, marcador de tamaño molecular de 100 pb (Biobasic™, Markham, Ontario, Canadá)

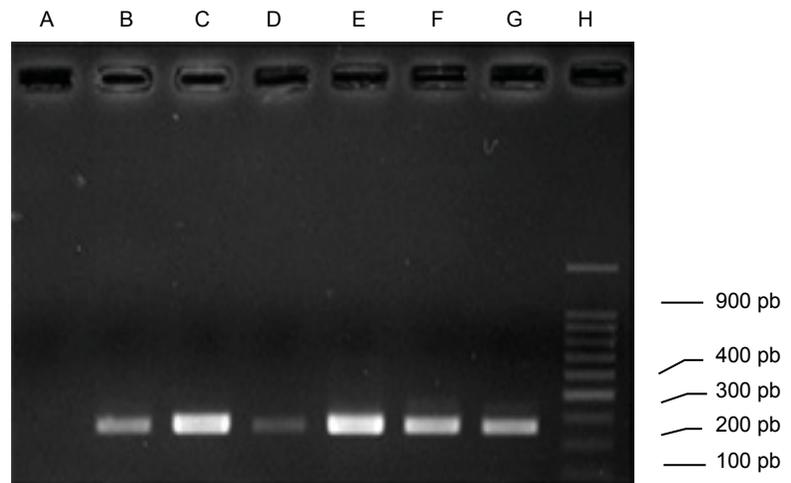
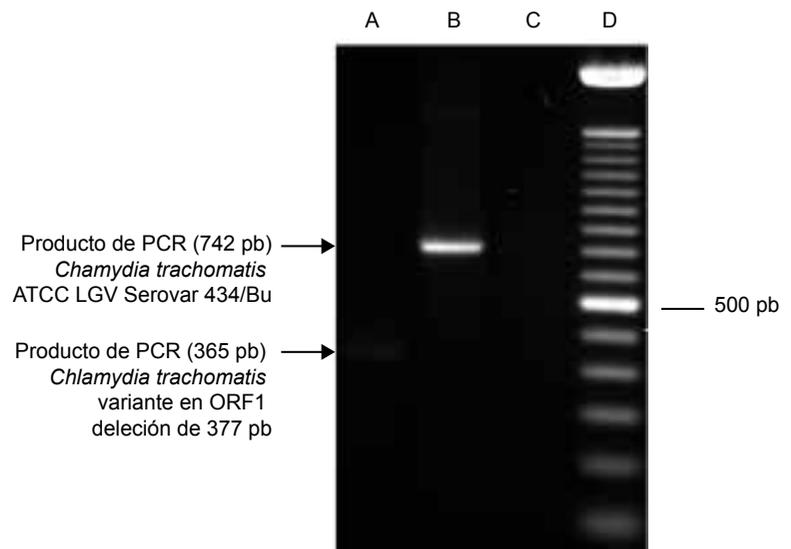


Figura 2 En la imagen se muestra el desarrollo electroforético de la amplificación de ORF1 y la detección de la delección de 377pb

En el carril A se observa la cepa silvestre ATCC® LGV Serovar 434/Bu sin delección en el ORF1 del plásmido críptico de *C. trachomatis*; en el carril B se observa la variante con delección de 377 pb con un producto final de amplificación de 365 pb; en el carril C se encuentra el control negativo (PCR con ADN de células HeLa), y en el carril D se observa el marcador de tamaño molecular de 100 pb (Invitrogen™, CA, EE. UU.)



estudio complementario de las secuencias de los genes *ompA* y *pmpH* y el análisis bioinformático mostraron que la variante aislada pertenece al genotipo D (figura 3) y al patotipo genitourinario (figura 4), que son motivos genéticos característicos de la cepa mexicana de *C. trachomatis*. Las cepas restantes pertenecen al genotipo F y al patotipo genitourinario con base en los análisis informáticos.

Prevalencia de microorganismos en la secreción vaginal

El análisis microbiológico demostró la presencia de un microorganismo patógeno en el 61% de las muestras, y con microbiota normal en el resto (39%). Los microorganismos predominantes fueron *E. coli* en el 30.8%, *G. vaginalis* en

Figura 3 Análisis filogenético del gen *ompA* de las cepas de *Chlamydia trachomatis*

En la figura se puede observar el alineamiento y asociación al cluster formado por las secuencias de *C. trachomatis* genotipo D reportadas en el GenBank y de la muestra clínica con la cepa variante de *C. trachomatis*. El análisis de las secuencias se basó en los algoritmos de los programas de ClustalW y Multalin y de la alineación por matrices Fitch para filogenia

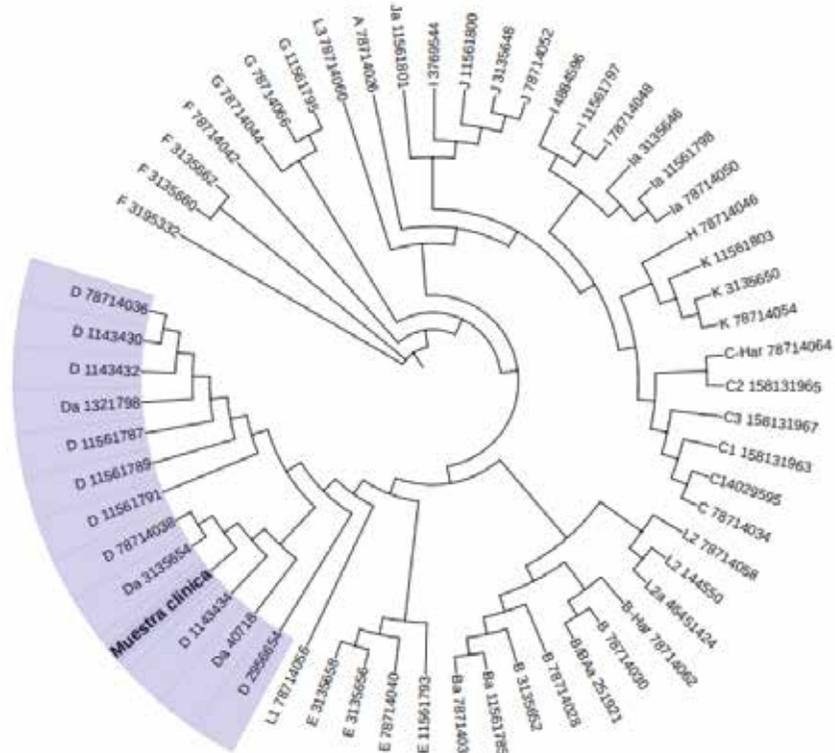
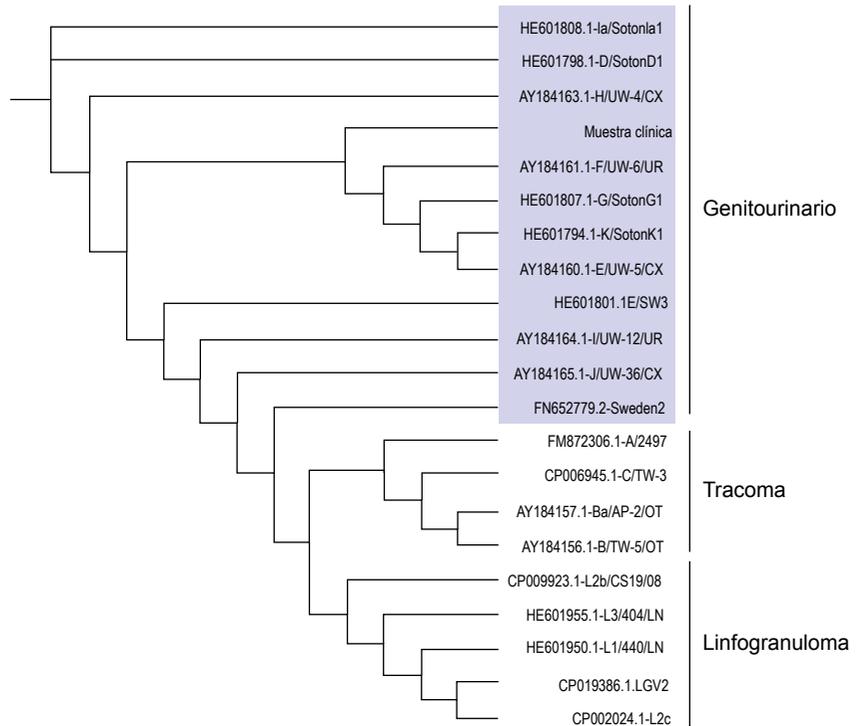


Figura 4 Análisis filogenético del gen *pmpH* de *Chlamydia trachomatis*

En la figura se muestra que la muestra clínica se incluyó en el cluster del patotipo genitourinario con base a las secuencias del gen *pmpH* registradas y publicadas en el GenBank



el 28.3%, *C. albicans* en 12.5% y *Candida sp.* en el 10%. Solo en dos muestras se detectó la presencia de *T. vaginalis* (1%). De manera similar, se identificaron otras especies bacterianas como patógenos primarios: *Proteus mirabilis* con un 3.27%, *Kokuria kristinae* con un 2.45%, *Streptococcus agalactiae* con un 1.63% al igual que *Sphingomonas paucimobilis* y con un 0.82% de los casos a *C. glabrata*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter koseri*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*. Asimismo, se observó en 13 muestras el crecimiento y reconocimiento de dos o más microorganismos infecciosos (10.6%). En el 8.8% se encontraron dos patógenos (*C. albicans* en el 2.4%, *Candida sp.* en el 2.4% y *G. vaginalis* en el 4%) y en el 1.8% a tres patógenos específicos (*C. albicans*).

Discusión

El diagnóstico clínico microbiológico en México es limitado debido a que los recursos económicos otorgados solo cubren las necesidades esenciales. En la actualidad, el número de casos de *C. trachomatis* y otros microorganismos infecciosos como *Mycoplasma sp.*, *Neisseria* y *Haemophilus* es elevado.¹⁵ La aparente prevalencia de microorganismos atípicos compromete la salud óptima de la población vulnerable, por lo que un diagnóstico inadecuado afecta el tratamiento oportuno y eficaz.¹⁶ Asimismo, la derivación de complicaciones por infección crónica por el limitado diagnóstico realizado representa un desafío directo para los sistemas de salud locales en este país.

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos son una herramienta útil para el diagnóstico de microorganismos que son difíciles de crecer en medios convencionales o que no pueden ser cultivados.⁷ La técnica de PCR se ha aplicado eficazmente para el diagnóstico de una amplia gama de microorganismos, además estos métodos presentan una gran sensibilidad, especificidad y reproducibilidad.⁸ Los expertos en enfermedades infecciosas han recomendado la PCR para identificar a los microorganismos que no pueden cultivarse *in vitro*, o en casos en los que las técnicas de cultivo existentes son insensibles o necesitan tiempos de incubación prolongados. Otras limitaciones del diagnóstico incluyen pruebas adicionales y especiales que caracterizan a los patógenos, como la identificación de subespecies, la clasificación por serotipos, reconocimiento de factores de virulencia y determinación de resistencia a los antimicrobianos.

En este estudio, la prevalencia de *C. trachomatis* fue del 8.5%. Este hallazgo concuerda con el 8.5% reportado en África Oriental, así como con el 6.9% en África Meridional

y el 6.1% en África Occidental/Central. De igual manera, existen estudios en otras partes del mundo, pero con datos más dispersos en donde la prevalencia de *C. trachomatis* se determinó en 4.9 a 14% en China, 0.1 a 35.9% en India, 5.7 a 16.2% en Tailandia, 19.3% en Mongolia y 41 a 44% en Bangladesh.¹⁷ Asimismo, la prevalencia detectada en este estudio es ligeramente superior a la prevalencia total en Australia, que es del 4.6%¹⁸ y en Europa, donde varía entre el 1.7 al 17% según el país.¹⁹ Este hallazgo también es ligeramente superior a la prevalencia total en los EE. UU., que es del 5%.²⁰

De manera relevante en este trabajo se identificó que al 6.4% de las pacientes se le da un diagnóstico erróneo. Desafortunadamente, las técnicas convencionales de microbiología implementadas en el laboratorio son insuficientes e inadecuadas para la identificación de microorganismos atípicos, como es el caso de *C. trachomatis*. En este estudio se logró identificar la *C. trachomatis* por PCR en cinco muestras que se reportaron como microbiota normal, lo que implica un diagnóstico erróneo con repercusión en la calidad de vida de la paciente. Asimismo, algunos estudios han afirmado que al analizar una serie de muestras clínicas con cultivo negativo se ha detectado la presencia de ADN bacteriano. De hecho, un porcentaje significativo de estas muestras de cultivo negativo (14%) contenían ADN bacteriano, utilizando cebadores universales y específicos contra enterobacterias.²¹ Este porcentaje de muestras de cultivo negativo y PCR positivo aumentó al 27% cuando solo se consideraron las infecciones sintomáticas.²²

Los datos anteriores muestran que no solo las técnicas de PCR o NAAT son útiles para la identificación de microorganismos no cultivables o de difícil crecimiento, sino que también se pueden utilizar en el diagnóstico de microorganismos comunes, que por su carga microbiológica o ubicación son difíciles de aislar e identificar. Algunos estudios sugieren que la PCR dirigida al gen del rRNA16S ha sido útil para la detección e identificación de bacterias vivas o muertas en casos de infección en pacientes sometidos a antibioticoterapia o en pacientes sintomáticos con informe microbiológico negativo.²¹ Asimismo, en algunos trabajos se ha observado que los reportes microbiológicos de cultivo negativo son frecuentes en infecciones sintomáticas en algunas áreas del cuerpo (espacio pleural, hueso y endocardio), pero son positivas por PCR.²³

Las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos no solo nos permiten realizar una identificación general de los microorganismos, también se pueden obtener datos de genotipos y variantes de la misma bacteria. En este estudio se observó que de las 17 muestras con *C. trachomatis*, 16 pertenecen al genotipo F y una de ellas al D. Sin embargo, este último hallazgo es importante ya que mostró caracte-

terísticas genéticas similares a la *C. trachomatis* variante mexicana. Estos motivos genéticos que se presentan en estas variables son la delección de 377 pb del ORF1 y la ausencia de 44 pb en la región tándem del ORF3 del plásmido críptico.⁹

Los estudios de los genotipos de *C. trachomatis* en México son escasos y frecuentemente son de poblaciones cautivas de hospitales de especialidad ginecológica. En la Ciudad de México, en 2011, estudios en mujeres con infertilidad determinaron por técnicas de RFLP y de secuenciación que el genotipo F fue el más prevalente (54.2%), seguido del E (8.7%), G (8.7%), K (8.7%) y LGV (8.7%), y los serovares restantes D, H e la (4.2% cada uno).²⁴ Asimismo, en Jalisco en 2017 se detectaron ocho genotipos de *C. trachomatis*: E (39.6%), F (29.2%), D (15.6%), K (6.3%), L2 (3.1%), G, J e I (2.1% cada uno) en muestras de pacientes de clínicas de ginecología del estado.²⁵ Alternativamente, en 2021 se realizaron estudios en hombres con infertilidad asociada a la presencia de *C. trachomatis* en donde se identificaron cinco genotipos: F en un 51%, D en un 12.2%, E en un 12.2%, L2 en un 6.1% e la en un 4.1%.²⁶ De manera importante, en estos tres estudios y el nuestro, se observa que el genotipo F se identifica de manera predominante en los casos de infección genitourinaria y de infertilidad. Además, el análisis del gen *pmpH* alojó a esta cepa en el patotipo genitourinario en donde se agrupan los genotipos D, E, F, G, H e I asociados al desarrollo de infecciones en los aparatos genital y urinario.

Finalmente, estos resultados hacen imperativo no solo el diagnóstico por PCR de *Chlamydia*, sino también su geno-

tificación. Nosotros vemos que el método más factible es la secuenciación del gen *ompA* por su sensibilidad, especificidad y costo, con respecto a técnicas como el RFLP que necesitan de una PCR anidada dirigida al mismo gen y la posterior digestión con la enzima *Alu I*; sin embargo, este método además de encarecerse presenta problemas de sensibilidad (se requieren producto de PCR suficiente) y de especificidad, ya que hay genotipos que presentan patrones similares de corte.

Las consecuencias de estas variaciones aún se desconocen, pero se ha observado que el plásmido regula más de una docena de genes cromosómicos, incluido los genes implicados en la síntesis de glucógeno,²⁷ lo que explica la falta de acumulación de glucógeno en inclusiones de clamidias sin plásmido,²⁸ así como la colonización de tejidos.

Paralelamente, además de la identificación de *C. trachomatis* por PCR se encontró que 12 muestras mostraron una coinfección con otros microorganismos como *Streptococcus agalactiae*, *Candida sp.* y *E. coli*, pero sin significancia. Sin embargo, se observó que existe una relación significativa con *G. vaginalis* (cuadro I).

Los valores calculados indican que cuando se aísla e identifica la *G. vaginalis* existe un riesgo relativo de 2.871 (IC95%: 1.574-5.236) de que *C. trachomatis* esté presente. Asimismo, la identificación de *C. trachomatis* por PCR da un riesgo relativo de 3.789 para que esté presente *G. vaginalis* (IC95%: 1.565-9.177). Los datos calculados además indican una relación significativa entre ambos microorganismos con una $p = 0.006$. Esta asociación también ha sido demos-

Cuadro I Asociación de microorganismos y riesgo relativo

Microorganismo	p	Riesgo relativo	Intervalo de confianza	Concomitancia
Levaduras	0.000	10.333	6.661-16.029	<i>Candida sp.</i>
	0.000	9.000	5.369-15.085	<i>Candida albicans</i>
	0.012	0.138	0.019-0.976	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	0.006	2.871	1.574-5.236	<i>Chlamydia trachomatis</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0.006	3.789	1.565-9.177	<i>Gardnerella vaginalis</i>

Datos obtenidos de la prueba Chi cuadrada de Pearson y la prueba exacta de Fisher. Para los microorganismos *Candida sp.*, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Proteus mirabilis*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Kokuria kristiane*, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter krusei*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri*, *Streptococcus anginosus*, *Candida glabrata*, *Klebsiella pneumoniae*, *Sphingomonas paucimobilis* y *Trichomonas vaginalis*

Los valores calculados no fueron significativos o independientes

trada e indica que existe un mayor riesgo de desarrollar una ITS por *C. trachomatis* cuando la paciente tiene vaginosis bacteriana con aislamiento de *G. vaginalis*.²⁹ Además, se sugiere que las ITS y la vaginosis ocurren simultáneamente cuando se adquiere una infección por *C. trachomatis* o *N. gonorrhoeae*.³⁰ Por lo tanto, estos estudios indican que la microbiota vaginal anormal podría modular la susceptibilidad y ser un factor de riesgo para contraer ITS.

Conclusiones

Finalmente, este trabajo es un precedente para el análisis microbiológico en los centros de salud, ya que se manifiesta la importancia del uso e implementación de las pruebas

de amplificación de ácidos nucleicos en la identificación de los agentes etiológicos y en la prevención en la emisión de resultados falsos negativos. Así mismo, la calidad de vida del paciente mejoraría al contar con un diagnóstico rápido, eficaz y específico y por lo tanto un tratamiento oportuno. Además, se ha observado que en laboratorios que han implementado este tipo de pruebas el costo-beneficio es alto al proporcionar mecanismos de detección rápidos y confiables.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

- Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global estimates of the prevalence and incidence of four curable sexually transmitted infections in 2012 based on systematic review and global reporting. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143304. Disponible en: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0143304>.
- Workowski KA, Stevens CE, Suchland RJ, Holmes KK, Eschenbach DA, Pettinger MB, et al. Clinical manifestations of genital infection due to *Chlamydia trachomatis* in women: differences related to serovar. *Clin Infect Dis*. 1994;19:756-60. doi: 10.1001/jama.285.1.47.
- Elwell C, Mirrashidi K, Engel J. *Chlamydia* cell biology and pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology*. 2016;14:385-400. doi: 10.1038/nrmicro.2016.30.
- Welsh LE, Quinn TC, Gaydos CA. Influence of endocervical specimen adequacy on PCR and direct fluorescent-antibody staining for detection of *Chlamydia trachomatis* infections. *J Clin Microbiol*. 1997;35(12):3078-81. Disponible en: <https://doi:10.1128/JCM.35.12.3078-3081.1997>.
- Yeow TC, Wong WF, Sabet NS, Sulaiman S, Shahhosseini F, Tan GM, et al. Prevalence of plasmid-bearing and plasmid-free *Chlamydia trachomatis* infection among women who visited obstetrics and gynecology clinics in Malaysia. *BMC Microbiol*. 2016;16:45. doi: 10.1186/s12866-016-0701-z.
- Guerra-Infante F, Flores-Medina S, Arteaga-Troncoso G, Zamora-Ruiz A, López-Hurtado M, Ortiz-Ibarra FJ. Risk factors and reproductive sequelae associated with *Chlamydia trachomatis* infection in infertile women. *Salud Pública Mex*. 2003;45:672-80.
- Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, Van der Pol B. Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. *MMWR Recomm Rep*. 2014;63:1-19.
- Mahony JB, Luinstra KE, Sellors JW, Jang D, Chernesky MA. Confirmatory polymerase chain reaction testing for *Chlamydia trachomatis* in first void urine from asymptomatic and symptomatic men. *J Clin Microbiol*. 1992;30:2241-45. doi: 10.1128/JCM.30.9.2241-2245.1992.
- Escobedo-Guerra MR, Katoku-Herrera M, Lopez-Hurtado M, Villagrana-Zesati JR, de Haro-Cruz MJ, Guerra-Infante FM. Identification of a new variant of *Chlamydia trachomatis* in Mexico. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2019;37(2):93-9. doi: 10.1016/j.eimce.2018.02.024.
- Yang CL, Maclean I, Brunham RC. DNA sequence polymorphism of the *Chlamydia trachomatis* omp1 Gene. *J Infect Dis*. 1993;168:1225-30. doi: 10.1093/infdis/168.5.1225.
- Zhang Z, Schwartz S, Wagner L, Miller W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J Comput Biol*. 2000;7:203-14. doi: 10.1089/10665270050081478.
- Morgulis A, Coulouris G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffer AA. Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*. 2008;24:1757-64. doi: 10.1093/bioinformatics/btn322.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties, and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*. 1994;22:4673-80. doi: 10.1093/nar/22.22.4673.
- Corpet F. Multiple sequence alignment with hierarchical clustering. *Nucleic Acids Res*. 1988;16:10881-90. doi: 10.1093/nar/16.22.10881.
- Molenaar MC, Singer M, Ouburg S. The two-sided role of the vaginal microbiome in *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma genitalium* pathogenesis. *J Reprod Immunol*. 2018;130:11-17. doi: 10.1016/j.jri.2018.08.006.
- Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health external icon. *Sex Transm Dis*. 2007;34(11):864-9. doi: 10.1097/OLQ.0b013e318074e565.
- Adachi K, Nielsen-Saines K, Klausner JD. *Chlamydia trachomatis* infection in pregnancy: the global challenge of preventing adverse pregnancy and infant outcomes in sub-Saharan Africa and Asia. *Biomed Res Int*. 2016;2016:9315757. doi: 10.1155/2016/9315757.
- Vajdic CM, Middleton M, Bowden FJ, Fairley CK, Kaldor JM. The prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* in Australia 1997-2004: a systematic review. *Sex Health*. 2005;2(3):169-83. doi: 10.1071/SH05018.

19. Wilson J, Honey E, Templeton A, Paavonen J, Mårdh P-A, Stary A, et al. A systematic review of the prevalence of Chlamydia trachomatis among European women. Hum Reprod Update. 2002;8(4):385-94. doi: 10.1093/humupd/8.4.385
 20. Scholes D, Satterwhite CL, Yu O, Fine D, Weinstock H, Berman S. Long-term trends in Chlamydia trachomatis infections and related outcomes in a US managed care population. Sex Transm Dis. 2012;39(2):81-8. doi: 10.1097/OLQ.0b013e31823e3009.
 21. Lleo MM, Ghidini V, Tafi MC, Castellani F, Trento I, Boaretti M. Detecting the presence of bacterial DNA by PCR can be useful in diagnosing culture-negative cases of infection, especially in patients with suspected infection and antibiotic therapy. FEMS Microbiology Letters. 2014;354(2):153-60. doi: 10.1111/1574-6968.12422.
 22. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. Clin Microbiol Rev. 2010;23(1):235-51. doi: 10.1128/CMR.00043-09.
 23. Nii-Trebi NI. Emerging and neglected infectious diseases: Insights, advances, and challenges. BioMed Research International. 2017;2017:1-15. doi: 10.1155/2017/5245021.
 24. De Haro-Cruz MJ, Deleón-Rodríguez I, Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Ortiz-Ibarra FJ, et al. Genotyping of Chlamydia trachomatis from endocervical specimens of infertile Mexican women. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011;29(2):102-8. doi: 10.1016/j.eimc.2010.08.014.
 25. Casillas-Vega N, Morfín-Otero R, García S, Llaca-Díaz J, Rodríguez-Noriega E, Camacho-Ortiz A, et al. Frequency and genotypes of Chlamydia trachomatis in patients attending the obstetrics and gynecology clinics in Jalisco, Mexico and correlation with sociodemographic, behavioral, and biological factors. BMC Womens Health. 2017;17(1):83. doi: 10.1186/s12905-017-0428-5.
 26. López-Hurtado M, Escarcega-Tame MA, Escobedo-Guerra MR, de Haro-Cruz MJ, Guerra-Infante FM. Identification of Chlamydia trachomatis genotypes in Mexican men with infertile women as sexual partners. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2021;S0213-005X(21)00043-4. doi: 10.1016/j.eimc.2021.02.005.
 27. Carlson JH, Whitmire WM, Crane DD, Wicke L, Virtaneva K, Sturdevant DE, et al. The Chlamydia trachomatis plasmid is a transcriptional regulator of chromosomal genes and a virulence factor. Infect Immun. 2008;76:2273-83. doi: 10.1128/iai.00102-08.
 28. Gong S, Yang Z, Lei L, Shen L, Zhong G. Characterization of Chlamydia trachomatis plasmid-encoded open reading frames. J Bacteriol. 2013;195:3819-26. doi: 10.1128/JB.00511-13.
 29. Tamarelle J, de Barbeyrac B, Le Hen I, Thiébaud A, Bébéar C, Ravel J, et al. Vaginal microbiota composition and association with prevalent Chlamydia trachomatis infection: A cross-sectional study of young women attending a STI clinic in France. Sex Transm Infect. 2018;94(8):616-18. doi: 10.1136/sextrans-2017-053346.
 30. Gallo MF, Macaluso M, Warner L, Fleenor ME, Hook EW, Brill I, et al. Bacterial vaginosis, gonorrhoea, and chlamydial infection among women attending a sexually transmitted disease clinic: a longitudinal analysis of possible causal links. Ann Epidemiol. 2012;22:213-220. doi: 10.1016/j.annepidem.2011.11.005.
-
- Cómo citar este artículo:** Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Gutiérrez-Trujillo R, Guerra-Infante FM. Prevalencia de Chlamydia trachomatis en mujeres del Hospital General de Zona No. 29. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2021;59(4):281-9.