

Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* determinada mediante métodos de biología molecular

Antonia Andreu Domingo^a, Tomas Pumarola Suñe^b, Benicio Sanz Colomo^c, Lucia Sobejano García^a, Jordi Xercavins Montosa^d, Oriol Coll Escursell^e, María Ángeles López López^e y Gema Codina Grau^a

^aServicio de Microbiología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ^bServicio de Microbiología. Hospital Clínic. Barcelona. ^cCentre de Malalties de Transmissió Sexual de la Generalitat de Catalunya. CAP Drassanes, Barcelona. ^dServicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Vall d'Hebron. Barcelona. ^eServicio de Obstetricia y Ginecología. Hospital Clínic. Barcelona. España.

FUNDAMENTO. Determinar la prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* por métodos moleculares.

MÉTODOS. Se describen conjuntamente los resultados de 3 trabajos realizados en la ciudad de Barcelona y en los que se estudiaron 408 mujeres consideradas como de alto riesgo para la adquisición de una enfermedad de transmisión sexual (ETS). El primer estudio incluyó a 94 mujeres atendidas en un centro público de ETS, el segundo a 112 mujeres atendidas en el Hospital Clínic y el tercero a 202 mujeres atendidas en el Hospital Vall d'Hebron de Barcelona. En el primer y tercer estudio se practicó toma endocervical y se realizó una técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el segundo se realizó reacción en cadena de la ligasa (LCR) a partir del primer chorro de orina.

RESULTADOS. *Chlamydia trachomatis* se detectó en una sola paciente en el primer estudio, en ninguna en el segundo y en 3 pacientes en el tercero. Es decir que utilizando técnicas de biología molecular las prevalencias de infección por *Chlamydia trachomatis* fueron del 1,06, 0 y 1,48%, respectivamente, siendo la prevalencia total del 0,98%.

CONCLUSIONES. La prevalencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en nuestra área geográfica es sorprendentemente baja.

Palabras clave: *Chlamydia trachomatis*. Prevalencia. Métodos moleculares.

Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection, as evaluated by molecular biology methods

BACKGROUND. To determine the prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in our area by molecular methods.

METHODS. We describe the combined results of three studies carried out in the city of Barcelona including a total of 408 women considered to be at high risk for acquiring a

sexually transmitted disease (STD). The first study was performed in 94 women attended at a public STD clinic located downtown, the second in 112 women attended at the Hospital Clínic and the third in 202 women attended at Hospital Vall d'Hebron (both third-level hospitals). In the first and third study endocervical exudate was tested with a PCR technique, and in the second study LCR was performed in 20-ml urine samples.

RESULTS. *Chlamydia trachomatis* was detected in 1 woman in the first study, in no women in the second and in 3 women in the third. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection detected in the three studies using molecular biology techniques was 1.06%, 0% and 1.48% respectively, giving an overall prevalence of 0.98%.

CONCLUSION. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in our geographic area is surprisingly low.

Key words: *Chlamydia trachomatis*. Prevalence. Molecular methods.

Introducción

Tanto en Estados Unidos como en otros países, *Chlamydia trachomatis* se describe como el agente más común de enfermedad de transmisión sexual¹. Sin embargo, en nuestra área geográfica, algunas observaciones clínicas (baja frecuencia de conjuntivitis de inclusión en recién nacidos y de neumonía intersticial en el lactante) así como ciertos resultados microbiológicos (escasos aislamientos de este microorganismo obtenidos en años anteriores por cultivo, inmunofluorescencia directa o enzoinmunoensayo) indicaban que la prevalencia de *C. trachomatis* debía ser baja.

La comercialización de métodos automatizados para la detección de ADN o ARN de *C. trachomatis* posibilitaron la realización de los 3 estudios que se presentan, realizados en distintos centros y con distintas poblaciones y cuya finalidad es la de determinar la prevalencia de esta infección en nuestra área geográfica.

Material y métodos

Se estudiaron 408 mujeres consideradas como de alto riesgo para la adquisición de una enfermedad de transmisión sexual (ETS). Las pacientes eran incluidas cuando presentaban sintomatología clínica indicativa de ETS o uno de los siguientes factores de riesgo: prostitución, múltiples compañeros sexuales o seropositividad para el

Correspondencia: Dra. A. Andreu Domingo.
Servicio de Microbiología. Hospital Vall d'Hebron.
Pº Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona.
Correo electrónico: anando@cs.vhebron.es

Manuscrito recibido el 9-10-2001; aceptado el 22-01-2002.

TABLA 1. Infecciones por *Chlamydia trachomatis* en las 408 mujeres estudiadas

	Primer estudio	Segundo estudio	Tercer estudio
Amplificación de ADN positiva	1	0	3
Mujeres estudiadas	94	112	202

virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). El trabajo se realizó en tres instituciones distintas de la ciudad de Barcelona. El primer estudio fue realizado entre enero y julio de 1994 e incluyó a 94 mujeres atendidas en el Centro de Enfermedades de Transmisión Sexual de la Generalitat de Catalunya, situado en el centro histórico de la ciudad. La edad media de estas mujeres era de 30 años. El segundo estudio se realizó de enero a diciembre de 1995 e incluyó a 112 mujeres, con una edad media de 32 años, atendidas en el Hospital Clínic. El tercer estudio se realizó entre mayo de 1996 y febrero de 1997 e incluyó a 202 mujeres atendidas en el Hospital Vall d'Hebron, con una edad media de 35 años, de las cuales 126 habían sido infectadas por el VIH. En el primer estudio se realizó toma endocervical, la cual era inmediatamente inoculada en el medio de transporte Amplicor STM y transportada a 4 °C al Servicio de Microbiología del Hospital Vall d'Hebron, donde era mantenida a esta temperatura hasta su procesamiento. Para el segundo estudio, se recogieron en un recipiente estéril los primeros 20 ml de una micción espontánea; las participantes no habían orinado durante las 2 h previas a la recogida. Las muestras de orina se transportaron en recipientes estériles al Servicio de Microbiología del Hospital Clínic y se almacenaron a -20 °C hasta su procesamiento. Para el tercer estudio se practicó toma endocervical que fue inmediatamente introducida en el medio de transporte Amplicor STM y a su llegada al laboratorio congelada a -20 °C.

Primer estudio

Se realizó reacción en cadena de la polimerasa (PCR) por el sistema Amplicor (Roche Diagnostic Systems, Inc.) de acuerdo con las instrucciones de la empresa comercial. Brevemente, previa liberación del ADN bacteriano con una solución detergente, se amplificó un fragmento de 207 nucleótidos dentro del plásmido críptico de 7.500 pares de bases, común a todas las serovariedades de *C. trachomatis*, utilizando iniciadores biotinilados. La detección del producto amplificado se realizó por hibridación en formato de placa de microtitulación con una sonda específica marcada con avidina y peroxidasa.

Segundo estudio

Las muestras de orina se descongelaron y centrifugaron a 13.000 g durante 10 min y del sedimento se realizó una técnica de reacción en cadena de la ligasa (LCR) (LCX, Abbott Laboratoires). La preparación de la muestra se hizo por calentamiento a 97 °C. Se amplificó una secuencia corta del mismo plásmido críptico utilizando 4 sondas de oligonucleótidos, ligasa y polimerasa termoestable. El producto amplificado se detectó mediante enzimoanálisis de micropartículas en un analizador LCX.

Tercer estudio

Las muestras se descongelaron y la PCR realizada por el sistema Cobas Amplicor (Roche Diagnostic Systems, Inc.). Tanto la amplificación como la detección se realizaron automáticamente en el aparato Cobas Amplicor. Se amplificó la misma diana que en el primer estudio. La detección se realizó con una suspensión de partículas magnéticas recubiertas con una capa específica que captura los amplicones marcados con biotina. La visualización fue calorimétrica, con el mismo conjugado que en el primer estudio.

Resultados

En el primer estudio *C. trachomatis* se detectó en una de las 94 pacientes estudiadas al utilizar la técnica de la PCR. En el segundo estudio todas las muestras estudiadas por LCR resultaron negativas. En el tercer estudio por técnica de PCR se detectaron 3 pacientes con infección por este microorganismo (tabla 1).

En el total de las 408 mujeres estudiadas la prevalencia de *C. trachomatis* fue del 0,98. La prevalencia en los distintos estudios fue del 1,06% en el primero, del 0% en el segundo y del 1,48% en el tercero.

De las 4 mujeres con infección por *C. trachomatis*, una ejercía la prostitución, dos eran positivas para el VIH y otra poseía múltiples compañeros sexuales.

Discusión

La prevalencia de la infección por *C. trachomatis* varía según la raza, la localización geográfica, los hábitos sexuales, las condiciones socioeconómicas, etc. Así, en Estados Unidos, en un estudio piloto nacional¹ la prevalencia de la infección por clamidias fue del 2,3% en mujeres blancas no hispanas, del 4,7% en hispanas y del 7,5% en afroamericanas. Entre 31.025 mujeres atendidas en centros de ETS y de planificación familiar de cuatro estados de la zona noroeste², la prevalencia fue del 6,6%; entre 13.204 mujeres recién reclutadas para el ejército y provenientes de 50 estados³, del 9,2%, mientras que entre 3.202 adolescentes sexualmente activas de Baltimore⁴, ascendió hasta del 29,1%. En el norte de Europa, *C. trachomatis* parece ser también un agente frecuente de transmisión sexual con prevalencias del 11,3% en los centros de ETS finlandeses⁵ y del 10,7-14,6% en los holandeses^{6,7}. En lo que se refiere al sur de Europa se dispone de menos información. En concreto, en España, un estudio⁸ realizado en 1992 en la Comunidad de Madrid, utilizando enzimoanálisis, comunicó una prevalencia del 9% en mujeres promiscuas y del 1,6% en mujeres no promiscuas, con una prevalencia total del 3,2%. En otro estudio⁹ de 1996 en el que utilizaron inmunofluorescencia directa, la prevalencia fue del 15% en mujeres recluidas en una institución penitenciaria de Madrid. Se han publicado 2 estudios realizados con técnicas de biología molecular, el primero¹⁰ en 1992 incluye 175 mujeres atendidas en un centro de ETS de Sevilla con una prevalencia del 14,8%; el segundo¹¹ describe un declive de la prevalencia desde el 5,1% en 1990 hasta el 1% en 1993 en mujeres atendidas en un centro de planificación familiar de La Coruña. (En el congreso mundial de clamidias celebrado en Helsinki en el año 2000 el Grupo de Estudio de Enfermedades de Transmisión Sexual y Perinatal de la Sociedad Madrileña de Microbiología Clínica comunicó una prevalencia en muestras endocervicales del 0,9% al aplicar en paralelo 4 técnicas de biología molecular, prevalencia que ascendió al 1,7% cuando se trataba de mujeres provenientes de países en vías de desarrollo.) La publicación más reciente¹² del año 2000 incluye a 772 mujeres atendidas en un centro de ETS de Sevilla, la detección fue realizada por el sistema inmunoenzimático VIDAS (bioMérieux) y la prevalencia fue del 5,1%.

De los resultados de este trabajo se deduce que en Cataluña la prevalencia de infección por *C. trachomatis* es extremadamente baja e inferior a la presentada en los estudios antes mencionados en otras zonas de España. Esta baja prevalencia es especialmente significativa, puesto que se estudian tres poblaciones con alto riesgo para la adquisición de ETS, incluyendo el primer estudio el 33% de prostitutas y el tercero el 66% de infectadas por VIH. Esta baja prevalencia podría estar influida por el bajo número de mujeres adolescentes o muy jóvenes que incluían estos estudios. En Estados Unidos^{1,13} las prevalencias más altas de infección por *Chlamydia* sp. son las presentadas por estos grupos de población, aunque no parece que ello se cumpla en Europa¹⁴.

Con el fin de determinar la prevalencia real de *C. trachomatis* en nuestra área sería necesaria la realización de nuevos estudios con un número importante de población, que incluyeran tanto a población normal estratificada por edades, como a población de alto riesgo (adolescentes, mujeres muy jóvenes, inmigrantes, reclusos, población atendida en centros de planificación familiar, o en ONG, etc.). Los resultados de estos estudios clarificarían si la baja prevalencia de infección por *C. trachomatis* observada en este estudio es similar en toda la población o si existen subpoblaciones con prevalencias más elevadas, para las cuales tendría sentido establecer programas selectivos de detección y tratamiento^{14,15}.

Bibliografía

1. Mertz KJ, McQuillan GM, Levine WC, Candal DH, Bullard JC, Johnson RE, et al. A pilot study of chlamydial infection in a national household survey. *Sex Transm Dis* 1998;25:225-8.
2. Marrazzo JM, Celum CL, Hillis SD, Fine D, Delisle S, Handsfield HH. Performance and cost-effectiveness of selective screening criteria for *Chlamydia trachomatis* infection in women. *Sex Transm Dis* 1997;24:131-41.
3. Gaydos CA, Howell MR, Pare B, Clark KL, Ellis DA, Hendrix RM, et al. *Chlamydia trachomatis* infections in female military recruits. *N Engl J Med* 1998;339:739-44.
4. Burstein GR, Gaydos CA, Diener-West M, Howell MR, Zenilman JM, Quinn TC. Incident *Chlamydia trachomatis* infections among inner-city adolescent females. *JAMA* 1998;280:521-6.
5. Pasternack R, Vuorinen P, Pitkääjärvi T, Koskela M, Miettinen A. Comparison of manual Amplicor PCR, Cobas Amplicor PCR, and LCx assays for detection of *Chlamydia trachomatis* infection in women by using urine specimens. *J Clin Microbiol* 1997;35:402-5.
6. Mouton JW, Verkooyen R, Van der Meijden WI, Van Rijsoort-Vos TH, Goessens WHF, Kluytmans JAJW, et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* in male and female urine specimens by using the amplified *Chlamydia trachomatis* test. *J Clin Microbiol* 1997;35:1369-72.
7. Vogels WHM, Van Voorst Vader PC, Schröder FP. *Chlamydia trachomatis* infection in a high-risk population: Comparison of polymerase chain reaction and cell culture for diagnosis and follow-up. *J Clin Microbiol* 1993;31:1103-7.
8. Vázquez JA, García I, Villasante P, De Benito R, Bru F. Evaluación del empleo de una técnica de diagnóstico rápido de *Chlamydia trachomatis* (Test Pack) en mujeres. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1992;8:502.
9. Alonso-Sanz M, Chaves F, Sánchez S, Romero N, Dronda F. Estudio microbiológico de ciertos microorganismos implicados en las enfermedades de transmisión sexual de la población femenina penitenciaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996;14:474-8.
10. Torres JM, Cano RJ, Rodríguez A, Palomares JC. Detección de *Chlamydia trachomatis* mediante hibridación de ADN-ARN. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1992;10:152-4.
11. Marinas JJ, Rego ME, Rosales M, Castro MI, Bouzas E. Evaluación de la efectividad de un programa de detección de infección asintomática por *Chlamydia trachomatis* en mujeres. *Rev Esp Salud Publica* 1997;71:27-34.
12. Chavez M, Vargas J, Pueyo I, Valverde A, Serrano MC, Claro R, et al. Incidencia de la infección genitourinaria por *Chlamydia trachomatis* en un centro de ETS estimada mediante detección directa de antígeno. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000;18:392-5.
13. Marrazzo JM, White CI, Krekeler B, Celum CL, Lafferty WE, Stamm WE, et al. Community-based urine screening for *Chlamydia trachomatis* with a ligase chain reaction assay. *Ann Intern Med* 1997;127:796-803.
14. Mardh PA. Is Europe ready for STD screening? *Genitourin Med* 1997;73:96-8.
15. Stamm WE. *Chlamydia trachomatis* infections: Progress and problems. *J Infect Dis* 1999;179(Suppl 2):S380-3.