Frecuencia de Chlamydia trachomatis en mujeres de edad fértil al usar PCR en tiempo real en el Servicio de Laboratorio del Hospital Carlos Andrade Marín

- Lic. Stephania Rayo O. Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Unidad Técnica de Genética y Molecular, HCAM.
- Ing. Amanda Peralta S. Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Unidad Técnica de Genética y Molecular, HCAM.
- Ing. Isabel Baroja O. Laboratorio de Diagnóstico Molecular, Unidad Técnica de Genética y Molecular, HCAM.

Resumen

Introducción: Chlamydia trachomatis es una bacteria patógena comúnmente reportada como causante de infecciones del tracto urogenital.

Materiales y métodos: Mediante este estudio se determinó la frecuencia de infección por C. trachomatis utilizando PCR en tiempo real en mujeres de edad fértil (18 – 45) que acudieron al laboratorio del Hospital Carlos Andrade Marín. Para el estudio se colectaron 200 muestras de orina y se identificó el patógeno utilizando un kit comercial que identificó el plásmido críptico y al gen ompA presentes en la bacteria.

Resultados: Se detectaron 3 muestras positivas que correspondieron al 1.5% de frecuencia. Los casos positivos se encontraron dentro de grupo de edad de 25 a 26 años.

Discusión: Los resultados obtenidos en la presente investigación son comparables con estudios similares realizados en Latinoamérica con grupos de bajo riesgo.

Palabras clave: Chlamydia trachomatis, plásmido críptico, OmpA. PCR.

Abstract

Introduction: Chlamydia trachomatis is a pathogenic bacterium commonly reported as cause of infections of the urogenital tract.

Methods: This study determined the frequency of C. trachomatis infection using real-time PCR. Two hundred urine samples from women in reproductive age were analyzed (range: 18 – 45 years old), which have attended at Carlos Andrade Marín Hospital. In order to test the samples, a commercial kit that identifies the criptic plasmid and the ompA gene from C. trachomatis was used.

Results: From the 200 samples, three were positive that corresponed to a frequency of 1.5%. All positive cases were found within the group of 25 and 26 years old.

Discussion: The results obtained in this research are comparable with similar studies obtained in several Latin American countries in low risk population.

Keywords: Chlamydia trachomatis, cryptic plasmid, OmpA, PCR.

Introducción

La infección por Chlamydia trachomatis es la infección bacteriana de transmisión sexual más frecuente en el mundo. Aproximadamente 105.7 millones de casos son reportados cada año a nivel mundial, de los cuales 26.4 millones pertenecen a la región de las Américas.[1]

Esta enfermedad afecta tanto a hombres como a mujeres, es asintomática entre el 70% a 90% de mujeres y entre el 30% a 40% de hombres. Las mujeres desarrollan muchas afecciones como: cervicitis, anexitis, abscesos pélvicos, enfermedad pélvica inflamatoria (EPI), embarazo ectópico e infertilidad. Esta infección es la responsable, aproximadamente, del 75% de los casos de infertilidad por factor tubárico, cuando no es detectada a tiempo[2].

En mujeres embarazadas infectadas con Chlamydia trachomatis podrían padecer problemas de aborto, restricción del crecimiento intrauterino, ruptura prematura de membranas, parto pretérmino, endometritis puerperal, conjuntivitis y neumonía en el recién nacido.[3-6]

La Clamidiasis es una enfermedad silente. Existen varios métodos para detectar la infección como: cultivos, detección de antígenos, de anticuerpos séricos, análisis de sonda genética amplificada, reacción en cadena de la polimerasa y reacción en cadena de la ligasa. Las muestras biológicas que se utilizan para estos análisis son uretrales, cervicales y orina.[7-11]

En Ecuador son escasos los estudios acerca de esta infección. Trabajos como el de Narváez y

colaboradores (1989) determinaron prevalencia de Chlamydia trachomatis y Neisseria gonorrhoeae en tres grupos de mujeres, según su comportamiento sexual. Por otra parte, Medina y colaboradores (2009) identificaron infección por Chlamydia trachomatis en mujeres gestantes con riesgo de embarazo pretérmino. Mientras que Ortiz y Bazante (2010) determinaron la prevalencia de Chlamydia tracho-matis, Neisseria gonorrhoeae y Streptococcus aga-lactiae en pacientes gestantes del área urbana de la ciudad de Ibarra. Estos datos revelan la necesidad de realizar investigaciones sobre la enfermedad en vista de su constante crecimiento en la última década y el inicio temprano de una vida sexualmente activa.[12-14]

En el país, pese a la importancia de la enfermedad, los estudios realizados se enfocaron específicamente en mujeres embarazadas o trabajadoras sexuales, lo que determinó que exista un sesgo en las investigaciones. Por ello, esta investigación buscó ampliar los datos existentes con la toma de muestras biológicas de mujeres, sin restricción de su comportamiento sexual, situación económica o embarazo.

Materiales y Métodos

Población de Estudio

Las mujeres entre 18 y 45 años que participaron en el estudio son sexualmente activas, no se aceptaron muestras de mujeres que se encuentren con su periodo menstrual o que estén embarazadas. Se informó a las pacientes interesadas en participar, voluntariamente en el estudio, sobre la manera adecuada de recolectar en la mañana la primera muestra de orina sin previo aseo vaginal. Usar un frasco estéril de boca ancha con su código de identificación y se entregar al laboratorio.

Las muestras se receptaron en tres puntos: el Servicio de Ginecología de medicina de personal, consulta externa del Servicio de Laboratorio Clínico y el Laboratorio de Biología Molecular.

Detección de Chlamydia trachomatis

Todas las muestras de orina se mantuvieron a 4ºC por un período máximo de siete días antes de realizar la extracción de material genético. El kit comercial empleado fue Amplicor® CT/NG Specimen Preparation. Finalmente, la amplificación del plásmido críptico y el gen OmpA se realizó con el kit Cobas® TaqMan CT Test, V2.0. En el equipo Cobas TaqMan 48. En particular la sensibilidad y especificidad del kit Cobas® TaqMan CT Test, V2.0 son del 95,7% y 99,8%, respectivamente.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos se analizaron con el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 22.0 (SPSS Statistics, 2013 y se realizó el cálculo de frecuencias, medias y porcentajes.

Resultados

La mayoría de la población que fue analizada estuvo en el rango entre los 25 y los 44 años de edad (176/200, 88%), con una media de 33 años. Del total de las pacientes de la muestra se observó que la mayoría inició su vida sexual entre los 18 y 20 años (94/200, 47%) y que tuvieron entre uno y tres compañeros sexuales (166/200, 83%). Es importante recalcar que 178 de las 200 pacientes (89%) manifestaron no haber presentado ninguna enfermedad de trasmisión sexual.

Con respecto al uso de métodos anticonceptivos se observó que (97/200) mujeres osea el 48.5% de las encuestadas no usaron ningún método, las 103 pacientes restantes utilizaron algún método y solo 22 osea (21.4%) eligieron como forma de control los preservativos. En cuanto a los criterios gineco-obstétricos analizados se observó que 140 pacientes tuvieron al menos una gesta, 62 sufrieron abortos espontáneos o inducidos y 30 declararon haber sido diagnosticadas de infertilidad **Tabla 1**.

Tabla 1. Factores sociodemográficos de las mujeres que participaron en el estudio.

Variables	N	%
Edad		
< 25	16	8
25 y 44	**176**	**88**
> 44	8	4
Edad de inicio de la vida sexual		
< 18	45	22,5
18 a 20	**94**	**47**
> 20	61	30,5
Número de parejas sexuales		
1 a 3	**166**	**83**
> 3	34	17
Enfermedades de transmisión sexual		
Si	22	11
No	**178**	**89**
Gestas		
0	60	30
1 o más	**140**	**70**
Partos		
0	**121**	**60,5**
1 o más	79	39,5
Abortos		
0	**138**	**69**
1 a más	62	31
Método anticonceptivo utilizado		
Preservativo	22	11

Variables	N	%
Otros	81	40,5
Ninguno	**97**	**48,5**
Conocimiento de la enfermedad		
Si	71	35,5
No	**129**	**64,5**
Infertilidad		
Si	30	15
No	**170**	**85**

De la muestra investigada, únicamente 3 (1.5%) presentaron infección por C. trachomatis. Estas pacientes tuvieron 2 y 3 compañeros sexuales hasta el momento de realizar el estudio y ninguna de ellas fue previamente diagnosticada con una infección de transmisión sexual (ITS) diferente a la Clamidiasis.

Dos de ellas nunca se embarazaron ni tuvieron abortos. Una de las pacientes infectadas mencionó conocer acerca de esta patología, pero ninguna utilizó métodos anticonceptivos de barrera.

Discusión

Los resultados obtenidos en la presente investigación son comparables con los de estudios similares realizados en Latinoamérica, con grupos de bajo riesgo. De acuerdo con la investigación que realizó en el 2002 por Bartolomeo et al., en Argentina se encontró una prevalencia de clamidiasis correspondiente a 1.76%[15]. Otro estudio de Molano et al., en el 2003, mostró una prevalencia del 5%[16]. Adicionalmente, 2006 Melida et al. encontró una prevalencia de C. trachomatis correspondiente al 2.86% y 7.78% en muestras de orina de mujeres jóvenes con y sin leucorrea respectivamente[17]. En Cuba en el 2006, el grupo de Frontela descubrió una frecuencia de 1.9% en mujeres sexualmente activas de edades correspondientes entre 15 a 49 años que asistieron a la consulta de ginecología[18]. En Chile en el 2008 Martínez et al. analizó un grupo de 403 mujeres sexualmente activas y encontraron una prevalencia de 4.7%[19].

En Ecuador no existen datos en grupos de bajo riesgo; sin embargo, existe información en otros grupos, como lo reportado por Narváez et al en 1989, que analizó tres grupos de mujeres: trabajadoras sexuales, mujeres con numerosas parejas sexuales y embarazadas y halló una prevalencia de 53.4%, 34.5% y 1.6 respectivamente[12]. Por otra parte, Ortiz y Bazante analizaron la prevalencia de Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae y Streptococcus agalactiae, en pacientes gestantes del área urbana de la ciudad de Ibarra, en 2008, encontrando una prevalencia de 23.02%[13]. Mientras que Medina et al., trabajó con un grupo de mujeres gestantes con riesgo de embarazo pretérmino de Guayaquil y Quito en el 2009 y la prevalencia en este grupo fue de 8.2% (2009)[14]. Estos datos no son comparables con la presenta investigación debido a los grupos que se analizan.

En la literatura se señala una fuerte correlación entre el número de parejas sexuales y el inicio temprano de una vida sexual activa, con el riesgo de adquirir la infección producida por C. trachomatis[20-22].

No obstante, en este estudio, las pacientes positivas, no tuvieron la relación antes mencionada, esto se debe a que el número de casos positivos fue bajo.

Se pudo notar que de las tres pacientes positivas, dos de ellas no utilizaron ningún método anticonceptivo y la otra paciente utilizó un método que no era de barrera, lo que pone de manifiesto que las tres mujeres infectadas no utilizaron métodos de anticoncepción que las protegiera de enfermedades de transmisión sexual, a pesar que una de ellas afirmó conocer acerca de la enfermedad.

Los métodos de diagnóstico no moleculares de C. trachomatis existentes en el mercado, tales como cultivos, detección de antígenos y detección de anticuerpos séricos poseen una sensibilidad entre 70-85%, mientras que las pruebas de amplificación de ácidos nucleicos por utilizar como blanco de amplificación secuencias específicas de la bacteria permite su identificación en tiempo relativamente corto con una sensibilidad correspondiente al 90-95% [23].

Con relación al diagnóstico en el laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, el informe emitido por la OMS en el año 2014 señala a las técnicas moleculares para detección de C. trachomatis como las que tienen mejor sensibilidad y una alta especificidad que, además, disminuyen la necesidad de condiciones de transporte y conservación estricta, suprimen el análisis subjetivo y sus ensayos son recomendados por el CDC tanto para diagnóstico como para cribado de infecciones por C. trachomatis[25].

Conclusiones

La frecuencia de infección por Chlamydia trachomatis en mujeres en edad fértil (18-45 años), que asistieron a los Servicio de Consulta Externa del Laboratorio Clínico y Ginecología de medicina de personal del Hospital Carlos Andrade Marín, utilizando PCR en tiempo real, fue del 1.5%.

Se detectó cualitativamente ADN de C. trachomatis en muestras de orina y se utilizó el plásmido críptico y la secuencia OmpA como dianas de la amplificación.

Dentro de las pruebas de laboratorio para la detección de C. trachomatis, la PCR en tiempo real ofrece ventajas comparativas que favorecen el tiempo de respuesta y la sensibilidad/especificidad diagnóstica. Por tanto en caso de una sospecha clínica de la enfermedad, este tipo de técnicas es una buena opción.

Es importante el desarrollo de nuevos estudios relacionados a la infección por Chlamydia trachomatis en grupos de bajo riesgo, lo que permitirá mejorar el registro estadístico de esta infección.

Referencias

1. *Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections-2008.WHO2012. http://apps.who.int/iris/bitstream_eng.pdf*
2. *(Ramon, 2013) et al. Frecuencia de la infección por Chlamydia trachomatis en un grupo de mujeres de la Región de la Araucanía, Chile – 2013*
3. *Marrazzo JM, Stamm E. New approaches to the diagnosis, treatment and prevention of chlamydial infection.CurrClin Top Infect Dis 1998; 8:37-59*
4. *The John Hopkins Study of Cervicitis and Adverse Pregnancy Outcome. Association of Chlamydia trachomatis and Mycoplasma hominis with intrauterine growth retardation and preterm delivery. Am J Epidemiol 1989; 129: 1247-57*
5. *Ismail MA, Pridjian G, Hibbard JU, Harth C, Moawad AA. Significance of positive cervical cultures for Chlamydia trachomatis in patients with preterm premature rupture of membranes. Am J Perinatol1992; 9:368-70*
6. *Nyari T, Deak J, Nagy E, Vereb I, Kovacs L, Meszaros G, et al. Epidemiological study of Chlamydia trachomatis infection in pregnant women in Hungary. Sex Transm Infect 1998; 74:213-5*
7. *Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infection. ClinMicrobiol Rev 1997; 10:160-84*
8. *Crotchfelt KA, Pare B, Gaydos C, Quinn TC. Detection of Chlamydia trachomatis by the Gen-Probe AMPLIFIED Chlamydia Trachomatis Assay (AMP CT) in urine specimens from men and women and endocervical specimens from women. J ClinMicrobiol 1998; 36:391-4*
9. *Van Doornum GJ, Buimer M, Prints M, Henquet CJM, Coutinho RA, Plier PK, et al. Detection of Chlamydia trachomatis infections in urine samples from men and women by ligase chain reaction. J ClinMicrobiol1995; 33:2042-7*
10. *Cribb P, Scapini JP, Serra E. One tube nested polymerase chain reaction for detection of Chlamydia trachomatis. MemInst Oswaldo Cruz 2002; 97:897-900*
11. *Domeika M, Bassri M, Mardh PA. Diagnosis of genital Chlamydial trachomatis infections in asymptomatic males by testing urine by PCR. J ClinMicrobiol1994; 32:2350.*
12. *Prevalence of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in 3 groups of Ecuadorian women with different sexual behaviors-1989. Bol OficinaSanitPanamhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2532897*
13. *Molecular identiWcation of endocervical Chlamydia trachomatis infection among gestations at risk for preterm birth in Ecuador- 2009. ArchGynecolObstet*
14. *Prevalencia de Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae y Streptococcusagalactiae, en pacientes gestantes del área urbana de la ciudad de Ibarra, año 2008. Ortiz &Bazante*
15. *Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina 2002. Rev SaúdePública.*
16. *Prevalence and determinants of Chlamydia trachomatis infections in women from Bogota, Colombia 2003. Sex TransmInfect2003; 79:474–478*
17. *Prevalencia de Chlamydia Trachomatis detectada por reacción en cadena de la polimerasa en un grupo de mujeres jóvenes sintomáticas y asíntomáticas en Bogotá,Colombia 2006. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología Vol. 57 No. 3 - 2006 - (171-181)*
18. *Infección por Chlamydia trachomatis en mujeres cubanas en edad reproductiva 2006. RevCubanaEndocrinol 2006; 17(2)*
19. *Prevalencia de infección cervical por Chlamydia trachomatis en mujeres de la Región Metropolitana 2008. Rev Méd Chile 2008; 136: 1294-1300*
20. *Incidence of Chlamydiatrachomatis and other potential pathogens in neonatal conjunc-tivitis. Int J InfectDis. 2001; 5: 139-43.13*
21. *Infecciones asintomáticas por Chlamydia trachomatis: unproblema controlable en la población adolescente. RevPanamInfectol. 2008; 10:8-12*
22. *Factores de riesgo asociadosa la infección vaginal por Chlamydia trachomatis. Medisan.2012; 16:686-93.*
23. *Comparación del cultivo celular de HeLa y HEp-2: Perspectivas de estudios con Chlamydia trachomatis; Laura Camila Carrera Páez et al; NOVA. 2015; 12 (21):17-29*
24. *Manual para Diagnostico In Vitro(Roche, 2001)*
25. *Diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual, incluida la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana; Organización Mundial de la Salud, 2014; 57-76*