



Diagnóstico Bioquímico

Actualización: Chlamydomphila Pneumoniae

Dra. Patricia Etchevés

Bioquímica

Presidente Bioars S.A.

patriciaetcheves@fibertel.com.ar

Referencias: Dr. Enrique Villegas; Dra. Ana G. Camacho;
Dr. José Gutiérrez; Granada, España

1.1. Taxonomía de Chlamydomphila pneumoniae

Chlamydomphila pneumoniae es una bacteria patógena intracelular obligada que causa infecciones respiratorias de las vías altas y neumonía. La infección en humanos puede variar desde una enfermedad asintomática a una neumonía severa que requiera hospitalización.

Poseen un único ciclo de desarrollo bifásico que los diferencia del resto de microorganismos y es la base de su clasificación taxonómica dentro de un orden separado, Chlamydiales (Moulder, 1984).

Históricamente, el orden Chlamydiales incluye la familia Chlamydiaceae, clasificada en base a sus propiedades fenotípicas y a su único ciclo de desarrollo, con un solo género, *Chlamydia*, y cuatro especies: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* y *Chlamydia pecorum*. Más recientemente, en base al análisis de las secuencias de los genes del ARNr 16S y ARNr 23S, se comprobó que existían suficientes diferencias entre *C. trachomatis* y el grupo *C. psittaci*-*C. pneumoniae*, lo que llevó a dividir esta familia en dos géneros diferentes (Everett y cols., 1999): *Chlamydia* y *Chlamydomphila*, respectivamente. Tanto la nueva clasificación como la antigua, que no carecieron de controversia en cuál era la más apropiada, son actualmente usadas en la literatura (Fig. 1.1).

C. pneumoniae fue reconocida en 1989 (Kuo y cols., 1995) y es un patógeno extremadamente común que infecta a casi todo el mundo y, frecuentemente, causa infecciones recurrentes a lo largo de la vida. La mayoría de esas infecciones inicialmente implican las vías altas y bajas del aparato respiratorio (faringitis, sinusitis, bronquitis y

neumonía), pero recientes evidencias sugieren que este organismo puede infectar a los macrófagos dentro del tracto respiratorio que, posteriormente, a través del torrente circulatorio, se transportan a otras zonas como el endotelio vascular, donde las células endoteliales, células del músculo liso y macrófagos pueden ser infectados.

Figura 1.1. Taxonomía del orden Chlamydiales. Antigua y nueva clasificación del orden Chlamydiales. Tomada de <http://www.chlamydiae.com>. Consultada en la red el 25/01/2007. Adaptada de Bush y Everett, 2001.



C. pneumoniae, se aisló por primera vez en 1965, de la conjuntiva de un niño taiwanés en el transcurso de una vacunación anti-tracoma (Kuo y cols., 1986). En 1971, cuando los métodos de cultivo celulares estuvieron suficientemente desarrollados, a este organismo (TW-183) se le observaron unas inclusiones densas en las células hospedadoras de cultivos celulares que tenían una morfología más similar a la de *C. psittaci* que a las de *C. trachomatis*. El papel de este organismo como patógeno humano no fue definido hasta 1983, cuando el primer aislamiento respiratorio (AR-39) fue obtenido en Seattle, Washington, (Grayston y cols., 1986). El aislamiento se realizó gracias a las evidencias serológicas, que indicaban que el TW-183 estaba asociado con neumonía (Saikku y cols., 1985).

De estos aislamientos deriva el nombre inicial de "TWAR", que se le dio a *C. pneumoniae*, una combinación de los identificadores de laboratorio de los primeros aislamientos, conjuntivo (TW-183) y respiratorio (AR-39).



1.2. Características microbiológicas y ciclo celular

Durante su ciclo celular adopta dos morfologías distintas, una forma infecciosa extracelular, el cuerpo elemental (CE), y una forma replicativa intracelular, el cuerpo reticular (CR) (Fig 1.2.). El primero es pequeño y denso, tiene un tamaño entre 0,2 y 0,4 μm , y una forma característica de pera. Morfológicamente es distinto a los CEs redondeados de *C. trachomatis* y *C. psittaci*. No obtiene nutrientes del exterior, y carece de actividad metabólica y de replicación. Posee una pared celular rígida, aunque lo suficientemente laxa como para permitir esta forma de pera, gracias a proteínas ricas en aminoácidos azufrados, que forman un entramado denso, que le hace resistente a los factores ambientales.

Figura 1.2. Caracteres generales de los cuerpos elementales y reticulares de *C. pneumoniae*. Imagen tomada de Kuo y cols., 1995



● Cuerpo Elemental (E)

- 0,3 μm
- Extracelular
- Forma infecciosa
- Forma piriforme
- Metabólicamente inactivo
- Muy electro-denso

● Cuerpo Reticular (R)

- 0,6-1,2 μm
- Intracelular
- Forma replicativa
- Metabólicamente activo



C. Pneumoniae

El CR es más grande, con un tamaño entre 0,6 y 1,2 μm . Procede de la transformación del CE tras entrar en la célula hospedadora. Éste obtiene nutrientes del citoplasma de la célula y se multiplica por división binaria. Los CRs son lábiles, osmóticamente inestables, e incapaces de infectar otras células.

C. pneumoniae es una bacteria intracelular obligada, con un único ciclo de desarrollo bifásico. Es gram-negativa, y no se ha demostrado la presencia de peptidoglucano, que está implicado en la rigidez estructural y la estabilidad osmótica, aunque sí posee los genes que codifican las enzimas necesarias para su síntesis.

Su replicación es por división binaria que realiza en el interior de las células hospedadoras, por carecer de capacidad para la síntesis de compuestos energéticos, que los obtiene de la célula que infecta. Durante el crecimiento en cultivos celulares es auxotrófica para todos los aminoácidos excepto para la lisina (Kuo y Grayston, 1990). Es capaz de sintetizar sólo algunas proteínas y no puede, sin embargo, sintetizar ATP o GTP, moléculas altamente energéticas, que tiene que obtener de la célula infectada.

Tiene un genoma de 1.230.230 pb, carece de material genético extracromosómico (Read y cols., 2000), aunque algunas cepas de *C. psittaci* (McClenaghan y cols., 1988) y la mayoría de *C. trachomatis* contienen un plásmido de aproximadamente 7,5 kb.

Los diferentes aislamientos de *C. pneumoniae* realizados hasta la fecha, tienen del 94% al 100% de homología genética entre ellos, y de menos del 10% de homología con *C. trachomatis* y *C. psittaci* (Cox y cols., 1988).

El ciclo celular (Fig. 1.3) se inicia cuando un CE, por su zona más aguda se une a una célula por un mecanismo del tipo adhesina-receptor. Penetran en la célula por endocitosis y se forma un fagosoma, pero no un fagolisosoma (Kuo y cols., 1988). Es característica del orden de las Chlamydiales su habilidad para inhibir la fusión lisosomal, por mecanismos no definidos, permitiendo al CE habitar en una vesícula, rodeada de una membrana protectora, llamada cuerpo de inclusión (CI), visible al microscopio óptico. Entonces, se modifica la membrana externa del CE, desaparecen los aminoácidos azufrados, y se conforman, funcionalmente, las porinas.

El paso de CE a CR, y viceversa, requiere un ciclo intracelular de 2-4 días en *C. pneumoniae* (Fig. 1.3). El CE se transforma en CR cuando penetran metabolitos, como fosfatos ricos en energía, y aminoácidos, aumentando la actividad metabólica. Estos procesos iniciales incluyen la síntesis de nuevas proteínas, reducción de los enlaces disulfuro, y la activación de la adenosina trifosfatasa (Stratton y Mitchel, 1997).

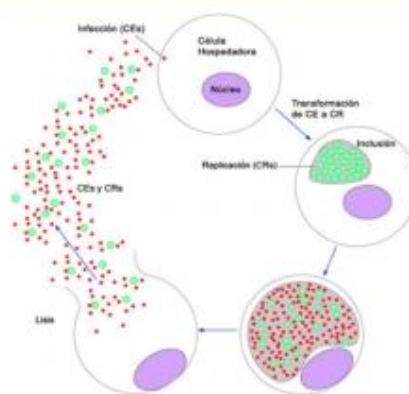


Figura 1.3. Esquema del ciclo replicativo de *C. pneumoniae*. Tomada de <http://www.chlamydiae.com>. Cortesía del Dr. Everett, K.D. Consultada en la red el 25/01/2007

Los CRs se dividen por fisión binaria produciendo una extensión de la inclusión que finalmente se llena de células. El CI y la célula infectada muestran en la superficie antígenos derivados de la bacteria. Los CRs madurarán, reduciendo su tamaño y reorganizando su pared celular, a modo de CEs. En ese momento, los CIs contendrán CRs maduros y futuros Ces.

La condensación de CR a CE conlleva una compactación de la cromatina generando un núcleo electro-

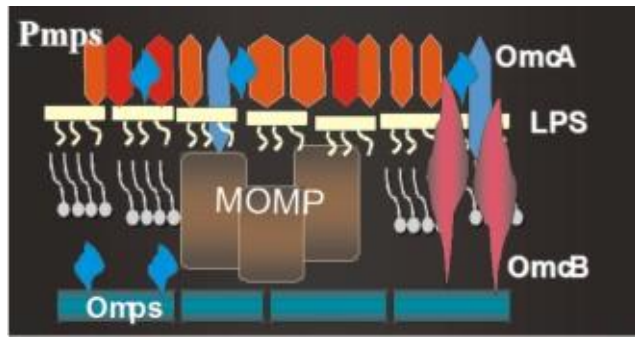
denso. Esto es mediado por una proteína parecida a las histonas humanas que está asociada con una disminución de la transcripción. Dependiendo de las especies, las proteínas de la membrana se entrelazan durante la condensación o durante la lisis celular y liberación. La liberación de los CE de las células infectadas se puede realizar por lisis celular, extrusión de inclusiones o exocitosis, y se cierra el ciclo de desarrollo permitiendo la infección de nuevas células.

1.3. Antígenos

Los antígenos de *C. pneumoniae* son complejos y sólo parcialmente conocidos. Se localizan en la pared celular (Fig. 1.4), y, entre otros, se destacan los siguientes grupos (Tabla 1.1.) (Montigiani y cols., 2002):

1.3.1. Lipopolisacárido (LPS): El LPS es un antígeno presente en todos los miembros de la familia Chlamydiaceae. Y es una causa importante de las reacciones cruzadas que con frecuencia se observan en la serología de Chlamydiaceae.

Figura 1.4. Modelo de la envoltura de los CE de *C. pneumoniae*. Tomada de Hatch. Stephens, 1999.



1.3.2. Proteínas de la membrana externa

1.3.2.1. Proteína principal de la membrana externa (MOMP)

Uno de los antígenos mejor caracterizados en las especies de Chlamydia es la MOMP. Es la proteína que se halla en mayor proporción (60%) en los CE y Crs.

Tiene funciones de porina; esta proteína es común a todos los miembros de la familia Chlamydiaceae, aunque presenta diferencias estructurales y de inmunogenicidad en cada una de las especies. MOMP es un antígeno inmunodominante en *C. trachomatis* induciendo la producción de anticuerpos neutralizantes durante la infección (Zhang y cols., 1989; Wolf y cols., 2001).

1.3.2.2. Proteínas del complejo de membrana externa (Omc) ricas en cisteína

Están presentes en grandes cantidades en el CE y se sintetizan de manera tardía en la maduración del CR hacia CE. No están presentes en el CR (a diferencia de la MOMP) (Newhall, 1987). Se han denominado OmcA y OmcB por su asociación con el complejo de membrana externa (Omc).

1.3.2.3. Proteínas polimórficas de membrana externa (Pmps)

Existen hasta 21 tipos en *C. pneumoniae* y actúan como porinas lipoproteicas. Su superficialidad e inmunogenicidad justifican el interés por estas proteínas (Lindquist y Stephens, 1998). Son ricas en serina y fenilalanina; y son polimórficas, ya que sus genes sufren mutaciones que originan variaciones en la estructura (Grimwood y cols., 2001).

1.3.2.4. Otras proteínas de la membrana externa

Otras proteínas presentes en *C. pneumoniae*, y cuya función no es bien conocida, son las siguientes (Tabla 1):

- Lipoproteína asociada al peptidoglucano
- Lipoproteína de membrana externa
- Omp H
- Omp 85

1.3.3. Proteínas del proceso celular

Integra proteínas que sirven para la adaptación a condiciones atípicas, división celular, detoxificación, transducción, producción de toxinas y resistencia, transporte metabólico, función de chaperonas y la secreción. Dentro de este grupo destacamos las siguientes:

1.3.3.1. Proteínas de inclusión (Inc)

Se localizan en la membrana de los cuerpos de inclusión de *C. pneumoniae* y el resto de miembros del orden Chlamydiales. Sus funciones se han relacionado con el desarrollo de la inclusión, la evasión del sistema inmunológico, la adquisición de nutrientes, e incluso son mediadores en los procesos de transición de CRs a CE, y viceversa. Constituyen una familia de proteínas que juegan un importante papel en la infección, crecimiento y supervivencia en el hospedador celular (Toh y cols., 2003). Incluye las proteínas IncA (39 kDa), IncB (18 kDa) e IncC (21 kDa).

1.3.3.2. Chaperonas

Parte de ellas son proteínas de choque térmico (Hsp) y corrigen los plegamientos incorrectos de las proteínas desnaturalizadas. La Hsp60 (60 kDa) es una proteína muy conservada y parece estar implicada en los daños ocasionados en las arterias de los sujetos infectados



debido a la hiperestimulación de macrófagos y a la inducción de los autoanticuerpos, por mimetismo molecular con la proteína humana (Domeika y cols., 1998), lo que produciría citoquinas proinflamatorias y metaloproteinasas, que degradarían el colágeno (Kol y cols., 1998; Vandahl y cols., 2001; Lamb y cols., 2003). Se relaciona, por tanto, con la arteriosclerosis, por inducir un ataque a la pared endotelial, mediante una reacción de hipersensibilidad retardada, propia de las infecciones crónicas (Taylor y cols., 1990), pudiendo ser el eslabón entre los microorganismos involucrados y la autoinmunidad (Fong y cols., 2002; Mayr y cols., 1999).

Por su parte, la Hsp 70 (70 kDa) está presente de forma temprana en la infección y juega un importante papel en el transporte de proteínas a través de las membranas (Hirono cols., 2003). También se conoce como Dnak.

1.3.3.3. Sistema de secreción tipo III

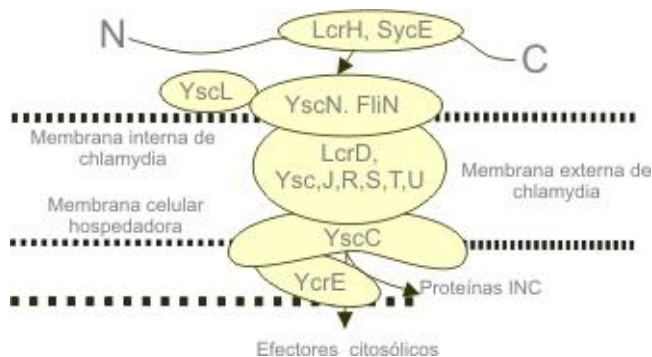
Se ha demostrado tanto en CEs como en CRs, que *Chlamydia* está cubierta por unas protuberancias que parecen constituir este sistema (Fig. 1.5).

Una de las protuberancias es más larga en los CRs y sirve para la inyección de ciertas proteínas necesarias para la infección, la endocitosis y la muerte de macrófagos (Hueck, 1998).

1.3.3.4. Proteína de respuesta baja en calcio

Es un supuesto regulador del sistema III de secreción que parece estar involucrado en la virulencia.

Figura 1.5. Esquema de actuación de las enzimas involucradas en el sistema III de secreción. Tomada de Palanca, 2005.



1.3.4. Proteínas relacionadas con el metabolismo (Vandahl y cols., 2002)

Entre las proteínas relacionadas con la biosíntesis de moléculas se encuentran las que sintetizan cofactores (biotina, folatos), grupos prostéticos (grupo hemo, cobalamina) y transportadores metabólicos (ubiquinona y riboflavina).

Además, existen grupos de proteínas relacionadas con la degradación proteica; con el metabolismo del ADN y

del ARN; con el metabolismo intermediario; y proteínas del metabolismo de purinas, pirimidinas.

1.3.5. El peptidoglucano

Su presencia se ha sospechado por estudios inicialmente referidos a los CRs de *C. trachomatis*, en los que se comprobó que antibióticos como penicilina o cicloserina, inhibían el proceso de división celular (Matsumoto y Manire, 1970). Asimismo, se ha demostrado la presencia, en el genoma del serovar D de *C. trachomatis*, de genes para la síntesis del peptidoglucano (Stephens y cols., 1998). Sin embargo, los estudios realizados con objeto de detectar ácido N-acetilmurámico, la molécula característica del peptidoglucano, no han sido concluyentes. Otros estudios destinados a encontrar peptidoglucano en CRs han fracasado, debido a la fragilidad osmótica del CR que hace que sea muy difícil aislarlo puro fuera del hospedador (Barbour y cols., 1982). Por consiguiente, no se puede descartar la presencia en los CRs. Entonces, es posible que el peptidoglucano esté presente, de forma transitoria y escasa, en determinados momentos del ciclo vital, y con funciones muy concretas.

Tabla 1.1. Principales antígenos descritos en *C. Pneumoniae*

Antígenos	Tamaño	Función	Presencia	Inmunogenicidad
LPS	Des	Integridad estructural	CEs y CRs	Inmunogénica específica-género
Asociados MEMBRANA EXTERNA				
MOMP	39.5 kDa	Porina Integridad estructural	CEs y CRs	No inmunodominante
OmcA	9 kDa	Adhesina	CEs	No inmunogénica
OmcB	2 x 60 kDa	Adhesina periplásmica	CEs	Inmunogénica específica-género
Pmps 1-21	= 100 kDa	Porinas lipoproteicas	CEs y CRs	Inmunogénicas
Lipoproteína	22 kDa	Des	Des	Des
Lipoproteína (CPnc278)	30.2 kDa	Des	Des	Des
Omp H	19.5 kDa	Des	Des	Des
Omp 85	89 kDa	Des	Des	Inmunogénica
Asociados PROCESO CELULAR				
IncA	39 kDa	Desarrollo de inclusión Supervivencia en inclusión	Ci, CEs y CRs	No inmunogénica
IncB	18 kDa	-	Ci, CEs y CRs	No inmunogénica
IncC	21 kDa	-	Ci, CEs y CRs	No inmunogénica
Hsp60	60 kDa	Chaperona	CEs y CRs	Inmunogénica
Hsp70	70 kDa	Chaperona	CEs y CRs	Inmunogénica
Sist secreción III	52 kDa ^a	Secreción proteínas	CEs y CRs	No inmunogénica
Prot. Respuesta baja en calcio	43 kDa	Regulador sist secreción III	Des	Des
Asociados MEMBRANA INTERNA				
Hipotética proteína	89 kDa	Des	Des	Inmunogénica
Asociados METABOLISMO				
Enolasa	46 kDa	Invasión tisular Generación coágulos	Des	Inmunogénica

1.4. Patogénesis de la infección por *C. pneumoniae*

Para penetrar en el organismo humano, la bacteria utiliza, entre otras, la célula epitelial columnar o de transición, infectando las vías respiratorias y los monocitos.

Inicialmente lo hace en las células respiratorias de las vías altas y/o bajas (causando faringitis, otitis media, bronquitis y neumonía) y se disemina por la sangre gracias a los monocitos. Esto le permite la colonización a distancia de muchos lugares del organismo, tales como las arterias. Tras la infección inicial del epitelio respiratorio de las vías altas, el sujeto puede quedar como portador debido a un fracaso en la actuación de la respuesta inmunológica (Kumar y Hammerschlag, 2007).

Al igual que con *C. trachomatis*, las personas infectadas por *C. pneumoniae* desarrollan una respuesta inmunológica celular (Braun y cols., 1994). Ésta es la más importante, suele ser poco intensa, pero persistente en el tiempo, y puede resolver la infección.

Las células T CD4 son activadas por los antígenos de *Chlamydia*, que derivan del contenido de las vacuolas, y se relacionan con las moléculas de clase II del sistema HLA, que se exponen en las células infectadas como macrófagos, dendritas y células endoteliales; el reconocimiento de los antígenos producirá la secreción de citoquinas. Éstas activan los macrófagos y las células B para producir anticuerpos (Stratton, 1998). El resultado de la respuesta inmunológica frente a *C. pneumoniae* puede ser de protección y desarrolla una respuesta dominante para las células T CD4, las cuales parecen ser el primer mecanismo de defensa, aunque existe una contribución por células T CD8. Las células T CD8 cuando son activadas por antígenos, pueden responder produciendo IFN- γ (Stratton, 1998). El IFN- γ inhibe la replicación de los patógenos intracelulares estrictos, por inducción de la producción de indol-amina 2,3-dioxigenasa (IDO). La IDO degrada el triptófano a quineurina y N-formilquineurina, privando al patógeno de triptófano. Como resultado, el crecimiento bacteriano puede ser restringido.

El período de incubación de la enfermedad aguda es de varias semanas (media de tres), la reinfección es frecuente a lo largo de la vida porque surgen variantes alélicas, debido a la presión inmunológica o recombinación genética en la infección mixta. Además, no se ha demostrado la capacidad de neutralización de los anticuerpos para evitar nuevas infecciones (Puolakkainen y cols., 1994).

1.5. *C. pneumoniae* y su relación con la arteriosclerosis

Actualmente, el área de investigación más activa en relación con este patógeno es la posible influencia de la infección vascular por *C. pneumoniae* en la patogénesis de enfermedades cardiovasculares arterioscleróticas. Esto se debe a que los factores de riesgo clásicos para la arteriosclerosis (AT) sólo explican el 60% de los casos y nuevos agentes, tales como *C. pneumoniae*, se han asociado con la enfermedad (Gutiérrez, 2006).

Desde hace años, se han obtenido muchas evidencias microbiológicas de la presencia de *C. pneumoniae* en placas de ateroma de las arterias coronarias, carótidas, aorta, íliaca y femoral, mediante

visualización con microscopía electrónica o inmunohistoquímica y pruebas de PCR (Kuo y cols., 1993a; Grayston y cols., 1995; Kuo y cols., 1993b).

La lesión inicial inducida por el colesterol, podría ser necesaria para que *C. pneumoniae* pueda infectar y residir en la arteria (Fong y cols., 1997) o una consecuencia de la infección por *C. pneumoniae*. Esto se apoya en el hecho de que la infección induce, in vitro, un marcado aumento de la captación de ésteres de colesterol por los monocitos humanos incubados en presencia de LDL, de modo que éstos acaban evolucionando a células espumosas (Kalayoglu y Byrne, 1998).

La mayoría de las hipótesis que atribuyen un efecto de la infección de *C. pneumoniae* en la AT, indican un papel persistente de los organismos en el tejido cardiovascular. Estos organismos persistentes pueden inducir una respuesta inflamatoria que inicia o exacerba la enfermedad. La inflamación es un importante componente de todas las fases del proceso arteriosclerótico, por lo que son múltiples rutas por las que el agente infeccioso podría potencialmente influir en la patogénesis.

Por otra parte, aunque la asociación arteriosclerosis-*Chlamydia* es aparente en muchos estudios, esto no implicaría que exista una relación causal. Y esto es debido a que faltan, entre otros, estudios en los que empleando un análisis de los marcadores de la inflamación justifiquen la relación patogénica causa-efecto.

1.6. Epidemiología

Las infecciones sintomáticas suelen ocurrir en adultos, debido a reinfección, y menos frecuentemente por reactivación. Así ocasiona bronquitis y neumonía (hasta el 20% de las neumonías extrahospitalarias ocurridas en los mayores de 65 años y un 5% de los casos de bronquitis y sinusitis) y es una causa de reactivación clínica de los sujetos con EPOC (Kumar y Hammerschlag, 2007).

La bacteria es capaz de originar infecciones asintomáticas en niños, por infección primaria (Mandell, 2004). Esto no excluye la posibilidad de ocasionar faringitis, otitis y sinusitis. Así, la bacteria se ha asociado con sinusitis purulenta (Hashigucci y cols., 1992), otitis media supurada (Ogawa y cols., 1992) y faringitis, pero se desconoce la frecuencia real de estas enfermedades (Hammerschlag y cols., 1992).

La seropositividad es muy baja entre niños menores de 5 años, pero aumenta rápidamente en la edad escolar, desde los 5 a los 14 años (Aldous, 1992). En la edad adulta aproximadamente el 50% de las personas son seropositivas. Esta proporción continúa incrementándose con la edad, hasta llegar aproximadamente al 75% en los ancianos. La alta proporción de seropositividad en los grupos más ancianos, teniendo en cuenta que los títulos de anticuerpos decaen entre 3-5 años siguientes a la primoinfección, indica reinfecciones repetidas a lo largo de



la vida, con el subsiguiente aumento de título en IgG anti-*C. pneumoniae* (Haidl y cols., 1994).

Los humanos son el único reservorio conocido de *C. pneumoniae*, y la transmisión es de persona a persona a través de las secreciones de las vías respiratorias de sujetos infectados, enfermos o no.

1.7. Diagnóstico de laboratorio

Una variedad de métodos pueden ser usados para identificar *C. pneumoniae* en tejidos y secreciones.

1.7.1. Métodos directos

Para el cultivo en células se deben utilizar protocolos específicos de trabajo con células del tipo HL (Cles y Stamm, 1990; Kuo y Grayston, 1990) o HEp-2 (Wong y cols., 1992). El crecimiento puede ser lento, de 3 a 7 días. Para facilitar la infección se realiza el procedimiento de cultivo con centrifugación.

La visualización se realiza sobre las células infectadas. Se pueden usar para ello los colorantes de Giemsa y naranja de acridina o con anticuerpos especie específicos.

La PCR también ha sido aplicada para la detección de *C. pneumoniae*. Esta prueba es aplicable sobre la muestra clínica. Algunos cebadores específicos de *C. pneumoniae* se han usado en la detección de la bacteria y dirigidos frente a una secuencia especie específica. Algunos de ellos que han sido descritos están dirigidos hacia: un gen de función desconocida (Campbell y cols., 1992), el gen del ARNr 16S (Gaydos y cols., 1992), el gen *ompA* (Kaltenboeck y cols., 1993) y el gen *omcB*, de la proteína rica en cisteína de 60 kDa (Watson y cols., 1991). En estos estudios, la PCR parece ser más sensible que el aislamiento.

1.7.2. Métodos indirectos

La detección de anticuerpos es la principal forma, aunque tardía, de realizar un diagnóstico de laboratorio de la infección por *C. pneumoniae*, por su facilidad en la ejecución, rapidez y relación con el estado de enfermedad del sujeto, y porque la detección de la bacteria es compleja y no exenta de riesgos.

En la infección primaria surgen primero los anticuerpos anti-LPS y luego los anti-proteínas. La infección por *C. pneumoniae* induce una respuesta de IgG, IgA e IgM que se pueden detectar mediante MIF (Microinmunofluorescencia) o ELISA; los dos pueden emplear CE en los que se ha eliminado el LPS.

La técnica ELISA puede contener células infectadas con el LPS específico de *Chlamydia* o CE en los que se elimina el LPS (Kutlin y cols., 1997).

Los ELISA presentan una serie de ventajas sobre la MIF, como son la objetividad de sus resultados, la posibilidad de automatización y su utilidad para detectar IgG

e IgM. Y aunque existe una buena correlación con la MIF, su mayor sensibilidad y la especificidad podrían emplearse para el diagnóstico de la enfermedad cuando existe un importante incremento de la IgG entre dos muestras (Gutiérrez, 2002).

La serología mediante MIF es la prueba de referencia para el diagnóstico de la infección (Thom y cols., 1994). Debido a que la mayor parte de los estados de enfermedad se deben a reinfecciones, es necesario cuantificar la IgG, para adecuar su valor predictivo positivo. Los criterios serológicos de infección mediante MIF descritos por Kishimoto y cols. y Thom y cols., Son:

- Infección reciente o aguda: IgM 16, IgG 512 y/o elevaciones de las IgG en 4 títulos o más, en dos muestras obtenidas con 3 semanas de intervalo (más difícil de demostrar por el carácter crónico de los procesos).

- Infección antigua o pasada: IgG entre 8 y 256; IgM < 16.

La IgM, mediante MIF, aparece tras 3 semanas de la aparición de la enfermedad. La IgG puede no hacerlo hasta las 6 u 8 semanas después del inicio de la enfermedad. En la reinfección, la IgM puede no aparecer o aparecer a títulos bajos, no detectados mediante MIF. La IgG sube rápida y frecuentemente en 1 ó 2 semanas, y puede alcanzar un valor de 512 o más. La IgM usualmente comienza a descender a los 2 meses y desaparece entre 4 y 6 meses después de una infección aguda; la IgG persiste y puede ser detectada durante al menos 3 años, después de la infección aguda.

