



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

Programa de Segunda Especialización en Medicina Humana

**"Aislamiento de *Chlamydia trachomatis* y respuesta  
inmune en mujeres atendidas en consultorio  
ginecológico"**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

Para optar el Título de Especialista en Patología Clínica

**AUTOR**

Fabián Julio DEL POZO LÓPEZ

**ASESOR**

María Elena MUÑOZ ZAMBRANO

Lima, Perú

2008



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Gamboa R. Presentación clínica de la enfermedad tuberculosa en pacientes con artritis reumatoide sin uso de terapia biológica en el Servicio de Reumatología del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen- EsSalud. periodo diciembre 2000 -diciembre 2005 [Trabajo de Investigación]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2008.

---

A mi querida esposa Elena

y

mis amados hijos Julio y José

A mi alma mater

Facultad de Medicina de la UNMSM

## **Resumen**

**Objetivos:** Determinar la presencia de *Chlamydia trachomatis* por anticuerpos anti Ig G e Inmunofluorescencia Directa y relacionarla con los aislamientos del microorganismo en pacientes que acuden a un consultorio ginecológico.

**Materiales y métodos:** De Junio al Setiembre de 2003 se recolectaron 40 muestras de hisopados endocervicales y muestras de sangre a pacientes que acudieron a consultorio ginecológico en el Hospital Local de Vitarte. Con los hisopados endocervicales se realizó la técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD) y Cultivo Celular para diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*. Con las muestras séricas se realizó la técnica de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) para detección de anticuerpos anti *chlamydias* Ig G

**Resultados:** De total de 40 muestras, se tuvo 10 casos positivos para anticuerpos anti *Chlamydias* Ig G, 5 casos de muestras positivas para presencia de antígeno clamidial con la IFD y un caso positivo para cultivo celular.

**Conclusiones:** Nuestros resultados sugieren que al detección de antígeno de *C. trachomatis* es un criterio altamente específico para el diagnóstico debiendo acompañarse con el aislamiento de la bacteria para estudios posteriores como investigaciones de serovares y/o subtipos de *chlamydias*. Estos resultados nos indican la importancia de la detección de *C. trachomatis* en pacientes jóvenes sobre todo aquellas asintomáticas para evitar la transmisión de la enfermedad y sus secuelas, las cuales pueden producir desde una infertilidad hasta una infección neonatan en recién

nacidos (conjuntivitis, pneumonía), además de ruptura prematura de membranas y amenaza de aborto entre otras patologías.

**Palabras clave:** *Chlamydia trachomatis*- cultivo- Inmunofluorescencia

## **INTRODUCCION:**

*Chlamydia trachomatis* constituye la causa bacteriana más frecuente de las enfermedades de transmisión sexual. La infección por esta bacteria en las mujeres produce secuelas y complicaciones graves como la enfermedad inflamatoria pelviana, la infertilidad, embarazo ectópico, tracoma, uretritis, cervicitis, epididimitis.<sup>1-4</sup>

En el mundo, se cree que hay más de 50 millones de casos nuevos anualmente y las tasas de prevalencia son muy altas, sobre todo en países en vías de desarrollo (Martinica 26.7%, Senegal 14.6%), en contraste con lo que ocurre en los países desarrollados (Portugal 4.6%, Italia 6.4%, Francia 7.1% y Grecia 7.5%)<sup>5,8</sup>

A pesar que desde la década del 70 se comenzó con el estudio acelerado de la *C. trachomatis* como una importante causa de Enfermedades de Transmisión Sexual (ETS), ahora llamada Infección de Transmisión Sexual (ITS) son escasos los trabajos de respuesta inmune en humanos que permitan distinguir con claridad las funciones de los diferentes tipos de anticuerpos. Recientemente, se han llevado a cabo estudios sobre los diferentes antígenos de la bacteria y el tipo de anticuerpos que producen.<sup>9</sup>

El diagnóstico de elección en el adulto, es el aislamiento de la bacteria<sup>10,11</sup>. La serología para *C. Trachomatis* tiene poco valor para el diagnóstico de las infecciones del tracto genital<sup>12</sup>

Poco se sabe sobre la respuesta inmune protectora en adultos.<sup>13</sup> La infección por *Chlamydia*, tanto en los modelos animales como en el humano, induce una respuesta de anticuerpos específica. Por ejemplo, Brunham y col<sup>13</sup> encontraron evidencias de que la infección cervical en

mujeres induce la respuesta de anticuerpos IgM e IgG específicos, y que el incremento en el título de anticuerpos IgM séricos, se encuentra altamente asociado con el número de organismos encontrados en el cervix; mientras que el título de anticuerpos Ig A de las secreciones cervicales, es inversamente proporcional al número de bacterias presentes en el cervix.

Uno de los problemas importantes para el desarrollo de anticuerpos, es que *Chlamydia* es un microorganismo intracelular, que va liberando antígenos de acuerdo con su ciclo de vida, que es de 48 a 72 horas. Otro problema es que el microorganismo puede infectar a la célula vecina mediante la formación de puentes intracitoplasmáticos, sin que se exponga la bacteria al espacio extracelular.<sup>14</sup>

El diagnóstico de infecciones por microorganismos intracelulares o bacterias de difícil crecimiento, frecuentemente se basa en la presencia de anticuerpos específicos contra el patógeno en cuestión, sin embargo, las pruebas serológicas deben interpretarse con ciertas reservas debido a la posible reactividad cruzada con otros patógenos.<sup>15, 16</sup>

A pesar de esto, el análisis de muestras de suero de pacientes en fase de convalecencia muestra que el título de anticuerpos se incrementa cuatro veces, siendo éstos predictores de una infección activa. Sin embargo, se requiere de al menos un mes o más, para llegar a estos títulos de anticuerpos.<sup>17</sup>

La presencia de anticuerpos IgM es un marcador inexacto de infección aguda en adolescentes y adultos, ya que este anticuerpo a menudo no está presente, presumiblemente porque estas personas han sido infectadas previamente con *C. trachomatis*, u otra especie de *Chlamydia* como

*C. pneumoniae*, generando así una respuesta a una exposición reciente, por un lado, y por el otro, en 70% de los pacientes la infección cursa asintomática, por lo que los anticuerpos Ig M ya no se encuentran presentes cuando se realiza el diagnóstico de infección. Sin embargo, dos excepciones han sido descritas en cuanto a la utilidad que muestran los anticuerpos Ig M en el diagnóstico: la primera es en el caso de recién nacidos con neumonía por *C. trachomatis*, y la segunda, en pacientes con linfogranuloma venéreo (LGV).<sup>17,18.</sup>

La prevalencia de *C. trachomatis* en diversos estudios varía del 3 al 5% en mujeres asintomáticas que asisten a clínicas de planificación familiar, aumentando a cifras mayores de 20 por ciento en las clínicas de ETS<sup>19-21</sup>. En mujeres embarazadas, se ha informado prevalencias de entre 1 y 26%<sup>22,23</sup> que adquieren importancia cuando se considera que aproximadamente 60 al 70% de los recién nacidos que atraviesan un canal cervical con *C. trachomatis*, pueden adquirir la infección durante el nacimiento<sup>24,25</sup>. En el recién nacido se manifiesta como una conjuntivitis aguda mucopurulenta con hiperemia intensa, quemosis y formación de pseudomembranas; se distingue de la oftalmia neonatorum genocócica porque se presente en forma mas tardía al parto (5- 12 días postparto)<sup>26,27</sup>

El objetivo de este estudio fue determinar la presencia de *Chlamydia trachomatis* en pacientes que acudieron a consultorio ginecológico del Hospital Vitarte en Lima Perú durante los meses de Julio y Agosto del 2003, mediante la técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD) e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y relacionarla con los aislamientos de la bacteria mediante el Cultivo Celular (CC)

## **MATERIALES Y METODOS:**

Se estudiaron 40 pacientes adultas de 18 a 60 años, 25 de ellas presentaban síntomas compatibles con diagnóstico de uretritis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginitis. Se tomaron muestras de sangre para la determinación de anticuerpos anti clamidia, dos muestras endocervicales (con hisopo de dacrón previa limpieza exhaustiva de la zona con una gasa estéril), una para la prueba de IFD y la otra para cultivo celular. Las muestras para cultivo fueron colocadas en medio de transporte 2SP y luego fueron congelados a - 70° C hasta su procesamiento.

### **Técnica de Cultivo Celular sobre células Mc Coy (CC):**

Se emplearon dos shell viales por paciente conteniendo un cubreobjeto redondo sobre el que se desarrollo una monocapa celular de celulas McCoy de 18- 24 horas. Se agregó 0.5 ml. de MEM (Medio mínimo esencial con 10% de suero bovino fetal, más 1ug/ml. de cloranfenicol). Se centrifugó 1 hora a 3000 rpm, luego se incubó en estufa a 37°C por 2 horas, se decantó el medio y se agregó 1 ml. de medio nuevo, se incubó a 37°C, durante 68- 72 horas (tiempo límite). Cada material se sembró por duplicado. Para identificar las inclusiones, se lavó cada monocapa inoculada con un ml. de buffer PBS. Se invirtió el vial para obtener la laminilla con las muestras, se fijó con metanol por espacio de 10 minutos. Se agregó lugol cubriendo la laminilla, se dejó 30 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz. Posteriormente se colocó una gota de líquido de montaje en un portaobjeto y el cubreobjeto o laminilla con la muestra hacia abajo.

### **Técnica de Inmunofluorescencia Directa (IFD):**

Una vez extendida la muestra contenida en la lámina de Inmunofluorescencia (hisopado endocervical) sobre una lámina portaobjeto con excavación circular de 1 cm., se fijó con metanol

por 10 minutos, se dejó evaporar. Se cubrió con 25 ul de anticuerpo monoclonal anticlamidia, conjugado con fluoresceína cubriendo toda la superficie de la muestra, se incubó 15 minutos en cámara húmeda, a temperatura de 37°C, se lavó por agitación en PBS por espacio de 5 minutos, (dos lavadas), se dejó secar a T° ambiente y luego se colocó una gota de líquido de montaje y se cubrió con un cubreobjeto. Todo este procedimiento se trabajó con una muestra control positiva incluido en el Kit para validar el ensayo. Como muestra de control negativo se utilizó una muestra endocervical de una paciente negativa para cultivo e Inmunofluorescencia Directa.

### **Técnica de Inmunofluorescencia indirecta (IFI):**

Usa el suero del paciente para investigar anticuerpos. Este suero es incubado en presencia de un antígeno específico. Para la visualización del complejo resultante, se utiliza un anticuerpo antiglobulina humana, marcado con isotiocianato de fluoresceína.

Se preparó una dilución de los sueros en buffer PBS a razón de 1:8. Igual se hicieron con los controles positivos y negativos. Se colocó 15 ul de esta dilución a cada uno de los círculos de la lámina de IFI que contiene células Mc Coy con antígeno clamidial, se incubó a 37° x 30 minutos en cámara húmeda, se lavó (2 veces) en PBS cuidando de no tener contacto directo entre PBS y muestra. Se dejó secar a T° ambiente. Se colocó una gota de conjugado FITC (Isotiocianato de fluoresceína). Se incubó a 37°C x 30 minutos. Se lavó (2 veces) en PBS. Se dejó secar a T° ambiente y luego se montó con glicerina que viene incluido en el Kit.

## RESULTADOS:

De total de 40 muestras tomadas a mujeres que acudieron a consultorio ginecológico, se tuvo 10 casos positivos para anticuerpos anti Chlamydias Ig G (25%), 5 casos de muestras positivas para presencia de antígeno chlamidial con la IFD (12.5%) y un caso para cultivo celular (2.5). Se utilizó la estadística descriptiva que son frecuencias y porcentaje a fin de tener los datos encontrados.

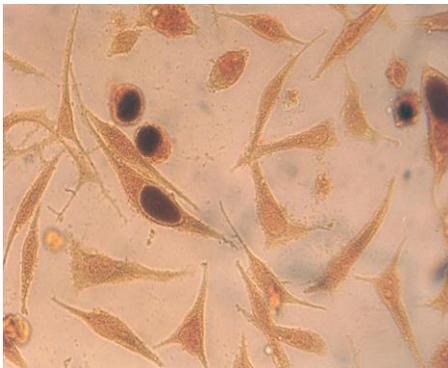
Cuadro comparativo de diagnóstico de *Chlamydia trachomatis* por las tres técnicas de laboratorio:

<b>Pruebas de Lab.</b>	<b>Inmunofluorescencia Directa (IFD)</b>	<b>Inmunofluorescencia Indirecta (Ig G)</b>	<b>Cultivo celular</b>
<b>Total de muestras</b>			
Positivo	5 (12.5%)	10 (25%)	1 (2.5%)
Negativo	35 (87.5%)	30 (75%)	39 (97.5%)
<b>Total</b>	<b>40 (100%)</b>	<b>40 (100%)</b>	<b>40 (100%)</b>

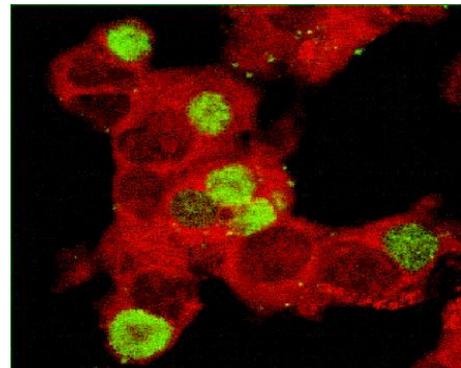
Para el cultivo celular, la única muestra positiva fue aquella en la que se observó inclusiones clamidiales teñidas con yodo (Fig 1). Las muestras negativas no presentan estas inclusiones. En relación a la Inmunofluorescencia Directa, las muestras positivas se observan como cuerpos clamidiales pequeños (cuerpos elementales) en forma de estrellas o formas geométricas dentro y/o fuera de la célula de color verde manzana. Con respecto a la Inmunofluorescencia Indirecta, los resultados positivos se dieron por la presencia de cuerpos fluorescentes verde manzana

brillante en el citoplasma de las células Mc Coy que vienen adheridas a la lámina con presencia de antígeno, las que en contacto con el suero que presenta anticuerpos, fluorescen y se observaron en forma de inclusiones únicas generalmente rechazadas a la periferia (Fig 2). Los resultados negativos carecen de estos cuerpos fluorescentes y se observa un conjunto de células teñidas de color rojo.

25 (62.5%) del total de pacientes eran sintomáticas, manifestando uretritis, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginitis por lo que acudieron a consultorio ginecológico, mientras que las 15 restantes no informaron presencia de síntomas.



**Fig 1 Inclusiones clamidiales**  
**Cultivo Celular (40X)**



**Fig 2 Cuerpos de inclusión**  
**IFI (100X)**

## DISCUSIÓN

La positividad de cinco muestras para IFD y correlacionarla con el cultivo celular (una muestra positiva) nos sugiere que este aislamiento único podría deberse a múltiples factores como disminución de la densidad bacteriana, viabilidad de las chlamydias, falla en el transporte de muestras que condiciona el poco o nulo desarrollo de estos microorganismos, escasa limpieza de la zona del cerviz, además que la toma de muestra se debe realizar en condiciones adecuadas y los medios de cultivo, soluciones de lavado así como equipos (estufas, microscopios, cámara húmeda), se encuentren en condiciones óptimas.<sup>28</sup>

En relación a la prueba serológica de inmunofluorescencia Indirecta (IFI) de los diez casos positivos, no sugieren necesariamente presencia de chlamydias al no diferenciar inmunidad reciente o pasada, asimismo puede presentarse reacciones cruzadas con otros microorganismos presentando falsos positivos para Ac IgG, pensamos que relacionando los resultados de IFD-aislamientos/ respuesta IgG específica podríamos tener resultados que se relacionan entre sí, pero estos fueron poco satisfactorios ya que solo dos casos fueron positivos comunes para las pruebas IFD e IFI y solo un caso positivo para IFD y Cultivo celular, por lo que se demuestra que estas pruebas serológicas no deberían ser usadas para diagnóstico, pues no se puede diferenciar entre inmunidad producida en el pasado o infección reciente.

Desde finales de los años setenta se describió la reactividad cruzada entre el género *Chlamydia* y *Acinetobacter calcoaceticus var anitratus*, la cual está dada por la similitud que existe entre el LPS (lipopolisacárico) de ambas bacterias, principalmente en la región del “core”.<sup>29</sup>, años después se reportó la reactividad cruzada con el LPS de mutantes rugosas de *Salmonella sp.*,<sup>30</sup> y en los últimos años se ha reportado contra el género *Bartonella*, *Yersinia enterocolítica* y *Proteus*

*OX-19*, en donde los sueros de pacientes con infección por estos microorganismos también muestran niveles elevados de anticuerpos contra el género *chlamydia*<sup>31-33</sup>.

Aunque cuando estos sueros son absorbidos con estas bacterias, los títulos de anticuerpos contra *chlamydia* se ven disminuidos, y en algunos casos llegan a ser negativos. Con estos datos se demuestra la importancia de caracterizar los antígenos de reactividad cruzada entre *chlamydia* y otros patógenos cuando el diagnóstico se realiza por serología, esto, con el objetivo de evitar el uso de antígenos que muestran gran reactividad cruzada y dar resultados falsos positivos en aquellos pacientes que no presentan la infección por *chlamydia*.

Nuestros resultados permiten corroborar lo mencionado en la literatura en que la presencia de anticuerpos no indica necesariamente una infección activa.

Aunque en décadas pasadas los métodos serológicos no han sido totalmente satisfactorios para el diagnóstico de esta infección, aún existen controversias sobre su utilidad, debido a que los niveles de anticuerpos IgG producidos durante una infección por *C. trachomatis* se encuentran elevados por mucho tiempo, por lo que una prueba de anticuerpos positiva no distinguiría una infección anterior de una infección actual<sup>34</sup>

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

métodos de diagnóstico para la detección de mujeres con infertilidad por daño tubárico o enfermedad pélvica inflamatoria<sup>24,25</sup>

Nuestros resultados sugieren que la detección de antígeno de *C. trachomatis* es un criterio altamente específico para el diagnóstico debiendo acompañarse con el aislamiento de la bacteria para estudios posteriores como investigación de serovares y/o subtipos de *Chlamydias*. Estos resultados nos indican la importancia de la detección de *C. trachomatis* en pacientes jóvenes para evitar la transmisión de la enfermedad y sus secuelas, las cuales pueden producir desde una infertilidad hasta una infección neonatal en recién nacidos sumados a la posibilidad de ruptura prematura de membranas y amenaza de aborto.

## **CONCLUSIONES**

- Es de destacar que la frecuencia de infección en mujeres asintomáticas fue mayor a la de aquellas que consultaron por algún síntoma relacionado con infección genital.
- El análisis de los datos sugiere la necesidad de la aplicación de un programa de tamizaje universal en adultas (os) sexualmente activas para prevenir el impacto negativo en la fertilidad futura y limitar la transmisión de la infección en la población.
- Sería necesario efectuar en nuestro medio un análisis de costos asociados a las complicaciones derivadas de la infección genital por CT para determinar si este programa es costo- efectivo.

**Agradecimientos:**

Este trabajo se realizó en colaboración entre el servicio de Ginecología- Obstetricia y el laboratorio del Hospital Vitarte. Asimismo con el Instituto Nacional de Salud. Laboratorio de ITS y Chlamydias.

## **BIBLIOGRAFIA:**

1. Curran JW. Economic consequences of pelvic inflammatory disease in the United States. *Am J Obstet Gynecol* 1980; 138(7Pt2): 848- 51
2. Centers for Disease Control: Pelvic inflammatory disease: guidelines for prevention and management. *Morb Mortal Wkly Rep* 1991; 40: 1- 25.
3. Steper J, Kingsley G. Recent advances in the pathogenesis of reactive arthritis. *Immunol Today* 1996; 17: 160-3.
4. Ewal PW. Cochran GM. *Chlamydia pneumoniae* and cardiovascular disease: An evolutionary perspective in infectious causation and antibiotic treatment. *J Infect Dis* 2000 ; 181 (Suppl 3) : S394- 401.
5. Stam W.E. *Chlamydia trachomatis* infections: progress and problems. *J Infect Dis* 1999; 179: S380-3.
6. Sieper J. Kingsley G. Recent advances in the patogénesis of reactive artritis. *Immunol Today* 1996; 17: 160- 3.
7. Ewald PW. Cochran GM. *Chlamydia pneumoniae* and Cardiovascular disease: An evolutionary perspectiva in infections causation and antibiotic Treatment. *J Infect Dis* 2000; 181 (Suppl3): S349- 401.

8. Cacho J, Sanz F, Blanco MA. La enfermedad silenciosa por *Chlamydia trachomatis*: necesidad urgente de detección y tratamiento en mujeres. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001 ; 19 : 419- 21.
9. Brunham RC, Ppeling RN. *Chlamydia trachomatis* antigens: Role in immunity and pathogenesis. *Infec Agents Dis* 1994; 3 : 218- 33.
10. Giovannini N, Suárez de Basnec M del C, Zapata M. Aislamiento de *Chlamydia trachomatis* en población con diferentes riesgos de infección. *Rev Arg Microbiol* 1991; 23: 146- 54.
11. Giovannini N, Suárez de Basnec M del C, Zapata M. Influencia del tipo de hisopo en el aislamiento de *Chlamydia trachomatis*. *Rev Arg Microbiol* 1991; 23: 145- 8.
12. Herbrink P, Van de Munckhof HAM, Niasterds HGM, et al. Solid Phase (1q- Directed Bacterial capture followed by PCR for detection of *Chlamydia trachomatis* in Clinical Specimens. *J Clinic Microbiol* 1995; 33: 286- 6.
13. Brunham RC, Kuo CC, Cles L, Holmes KK. Correlation of host immune response with quantitative recovery of *Chlamydia trachomatis* from human endocervix. *Infect Immun* 1983; 39: 1491- 4.
14. Guerra- Infante FM, López- Hurtado M. Mecanismos inespecíficos en la eliminación de *Chlamydia trachomatis*. *Perinatol Reprod Hum* 1999; 13: 205- 13.

- 15 Williams DM. Stimulation of immune response. In: Microbiology of *Chlamydia*. Barron AL (Eds). Boca Raton., Florida: CRC Press; 1988, p. 209- 16.
- 16 Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of *chlamydia trachomatis* infections. Clin microbiol Rev 1997; 10: 160- 84.
- 17 Land JA, Evers JLH, Goossens VJ. How to use *Chlamydia antibody* testing in subfertility patients. Hum Reprod 1998; 13: 1094-8.
- 18 Thomas K, Coughlin L, Mannion PT, Haddad NG. The value of *Chlamydia trachomatis* antibody testing as part of routine infertility investigations. Hum Reprod 2000; 15: 1079- 82.
- 19 Hilton AA, Richmond SJ, Milne JD, Hindley F, Clarke SKR. *Chlamydia* in the female genital tract. Br J Vener Dis 1974;50:1-10.
- 20 Oriel JD, Johnson AL, Barlow D, Thomas BJ, Nayyar K, Reeve P. Infection of the uterine cervix with *Chlamydia trachomatis*. J Infec Dis 1978;137:443-451.
- 21 Mumtaz G, Mellars BJ, Ridgway GL, Oriel JD. Enzyme immunoassay for the detection of *Chlamydia trachomatis* antigen in urethral and endocervical swabs. J Clin Pathol 1985;38:740-742.

- 22 Hammerschlag MR, Anderka M, Semine DZ, McComb D, McCormack WM. Prospective study of maternal and infantile infection with *Chlamydia trachomatis*. Pediatrics 1979;64:142-148.
- 23 Sweet RL, Landers DV, Walker C, Chachter J. *Chlamydia trachomatis* infection and pregnancy outcome. Am J Obstet Gynecol 1987;156:824-833.
- 24 Attenburrow AA, Baker CM. *Chlamydial pneumonia* in the low birth weight neonate. Arch Dis Child 1985; 60:1169-1172.
- 25 Schachter J, Holt J, Goodner E, Grossman M, Sweet R, Mills J. Prospective study of chlamydial infection in neonates. Lancet 1979;2:377-379.
- 26 Mohile M, Deorari AK, Satpathy G, Sharma A, Singh M. Microbiological study of neonatal conjunctivitis with special reference to *Chlamydia trachomatis*. Indian J ophthalmol. 2002; 50(4): 295-99.
- 27 Valencia C, Prado V, Rios M, Cruz MA, Pierget JJ. Prevalencia de *Chlamydia trachomatis* en conjuntivitis neonatal dada mediante las técnicas de Inmunofluorescencia y amplificación génica. Rev Med Chile 2000; 128(7): 758- 65
- 28 Muñoz M, Caballero P, Ayllon C, Medina S. Conjuntivitis folicular por *Chlamydia trachomatis*: Frecuencia y pruebas diagnósticas. Rev Perú Med Exp Salud Pública 2007; 24(3): 286- 89.

- 29 Brade L, Nano FE, Schlecht S, Schramek and Brade H. Antigenic and immunogenic properties of recombinants from *salmonella typhiurium* and *Salmonella minnesota* rough mutants expressing in their lipopolisaccharide a genus-specific chlamydial epitopes. *Infect Immun* 1987; 55: 482- 6.
- 30 Maurin M, EB F, Etienne J, Raoult D. Serological cross-reaction between *Bartonella* and *Chlamydia* species: implications for diagnosis. *J Clin Microbiol* 1997 ; 35 : 2283- 6.
- 31 Lahesmaa-Rantala R, Stahlberg TH, Granfors K, Kuusisto P, Toivanen A. Serological cross. Reactions against *Yersinia enterocolitica* in patients infected with other arthritis-associated microbes. *Clin Exp Rheumatol* 1990; 8: 5- 9.
- 32 Rivera- Méndez M. Guerra-Infante FM, Hernández- Méndez JT, Sumano. Avendaño E. Presencia de anticuerpos IgA anti *Chlamydia* con reactividad cruzada a otros microorganismos. XXV Congreso Anual de la Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000 (Suppl) ; 20 : 10.
- 33 Williams DM. Stimulation of immune response. In: *Microbiology of Chlamydia*. Barron al (Eds). Boca Raton., Florida: CRC Press; 1988, p. 209- 16.
- 34 Mol BWJ, Collins JA, Van der Veen F, Bossuyt PMM. Cost- effective of hysterosalpingography, laparoscopy and *chlamydia* antibody testing in subfertile couples. *Fertil Steril* 2001-; 75: 571- 80.