



ORIGINAL

Identificación de genotipos de *Chlamydia trachomatis* en neonatos con distrés respiratorio



Melissa D. González-Fernández^a, Marco A. Escarcega-Tame^b,
 Marcela López-Hurtado^b, Verónica R. Flores-Salazar^b,
 Marcos R. Escobedo-Guerra^b, Silvia Giono-Cerezo^a y Fernando M. Guerra-Infante^{a,b,*}

^a Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Ciudad de México, México

^b Laboratorio de Virología, Instituto Nacional de Perinatología, Ciudad de México, México

Recibido el 17 de octubre de 2022; aceptado el 30 de enero de 2023

Disponible en Internet el 24 de abril de 2023

PALABRAS CLAVE

Chlamydia trachomatis;
 Infección neonatal por clamidia;
 Neumonía por clamidia;
 Neumonía atípica;
 Clamidia y embarazo;
 Genotipos de *Chlamydia trachomatis*

Resumen

Introducción: Cada año se notifican ciento treinta millones de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en todo el mundo. Diecinueve serotipos de este patógeno pueden causar infecciones en mujeres embarazadas y recién nacidos. En México se desconoce la distribución de estos genotipos en recién nacidos con infecciones respiratorias.

Material y métodos: Se analizaron mil sesenta y dos muestras de lavado bronquial de neonatos con síndrome de dificultad respiratoria para detección de infección por clamidia. El diagnóstico de clamidia se realizó mediante la detección de plásmidos con un ensayo PCR interno y los genotipos se identificaron mediante un ensayo PCR-RFLP del gen *ompA*.

Resultados: El genotipado de 40 cepas identificó a 14 como I/1a (35%), 13 como E (32,5%), 7 como D (17,5%), 5 como F (12,5%) y 1 como L2 (2,5%). El análisis de riesgo relativo mostró que el genotipo D se asoció con sepsis neonatal (RR = 5,83; IC 95%: 1,51-25,985; $p < 0,02$), mientras que el genotipo I/1a mostró asociación significativa con madres que desarrollaron corioamnionitis (2,8; IC 95%: 1,4-5,5; $p < 0,05$).

Conclusiones: Si bien los genotipos I/1a y E de *Chlamydia trachomatis* fueron la causa más frecuente de infección respiratoria en neonatos mexicanos, el 80% de los genotipos F produjeron este padecimiento. En cambio, el genotipo D se asoció con el desarrollo de sepsis neonatal y el genotipo I/1a con corioamnionitis.

© 2023 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: fguerra_96@yahoo.com (F.M. Guerra-Infante).

KEYWORDS

Chlamydia trachomatis;
Neonatal *Chlamydia* infection;
Pneumonia caused by *Chlamydia*;
Atypical pneumonia; *Chlamydia* and pregnancy;
Chlamydia trachomatis genotypes

Identification of *Chlamydia trachomatis* genotypes in newborns with respiratory distress**Abstract**

Introduction: One hundred thirty million *Chlamydia trachomatis* infections are reported worldwide each year. Nineteen serotypes of this pathogen can cause infection in pregnant women and neonates. The distribution of these genotypes in newborns with respiratory infections in Mexico is unknown.

Material and methods: We tested 1062 bronchial lavage samples from neonates with respiratory distress syndrome for *Chlamydia* infection. The diagnosis of *Chlamydia* was made by plasmid detection with an in-house PCR assay, and genotypes were identified using a PCR-RFLP assay for the *ompA* gene.

Results: The genotyping of 40 strains identified 14 as I/1a (35%), 13 as E (32.5%), 7 as D (17.5%), 5 as F (12.5%), and 1 as L2 (2.5%). The relative risk analysis showed that genotype D was associated with neonatal sepsis (RR, 5.83; 95% confidence interval [CI], 1.51-25.985; $P < .02$), while the I/1a genotype was significantly associated with chorioamnionitis in the mother (2.8; 95% CI, 1.4–5.5; $P < .05$).

Conclusions: Although *Chlamydia trachomatis* genotypes I/1a and E were the strains involved most frequently in respiratory infections in Mexican neonates, 80% of patients with genotype F developed respiratory disease. In contrast, genotype D was associated with neonatal sepsis, and genotype I/1a with chorioamnionitis.

© 2023 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Chlamydia trachomatis (*C. trachomatis*) es una bacteria intracelular obligada gramnegativa. Es la bacteria de transmisión sexual más prevalente en el mundo, reportándose cada año 131 millones de casos nuevos en adultos y adolescentes de 15 a 49 años¹. Las gestantes pueden mantenerse asintomáticas durante meses, si bien pueden aparecer síntomas en cualquier momento del embarazo². En el primer trimestre, la presencia de *C. trachomatis* previa a la interrupción del embarazo se ha asociado al desarrollo de endometriosis o salpingitis en el 20% de las gestantes afectadas². En el segundo y tercer trimestre, su presencia se ha asociado al desarrollo de corioamnionitis, la rotura prematura de membranas (RPM), el parto pretérmino, el bajo peso al nacer e incluso la muerte fetal^{2,3}. Tras el nacimiento, los neonatos pueden desarrollar neumonía (5-20%) y conjuntivitis (2-8%)⁴. Los genotipos que causan conjuntivitis con mayor frecuencia son el E y el G, seguidos del D, F, y K^{5,6}. No obstante, la evidencia sobre los genotipos asociados al desarrollo de neumonía es escasa y de valor limitado^{7,8}.

En México, la prevalencia de infección por *C. trachomatis* en embarazadas es del 6,73%⁹. Sin embargo, no se conocen los genotipos causantes de la infección, aunque se ha propuesto que el F puede ser el más frecuente en base a estudios realizados en mujeres infértiles¹⁰. En cuanto a los neonatos, la prevalencia de la infección en México es del 11,6%, con una tasa de transmisión vertical del 1,5% cuando se trata a la madre con azitromicina antes del parto¹¹. A pesar de todo esto, no hay datos sobre la prevalencia de los genotipos que causan infección en neonatos, y solo un estudio realizado de Hernández Trejo et al.¹² identificó el

genotipo D en el tejido hepático de un recién nacido que falleció por causas desconocidas en el Instituto Nacional de Perinatología de la Ciudad de México. En este mismo estudio se detectó la presencia de ADN de *C. trachomatis* en más de un órgano en el 35,7% de los fallecimientos neonatales¹².

El objetivo de nuestro estudio fue identificar los genotipos de *C. trachomatis* que causan infecciones respiratorias y conjuntivales en pacientes neonatales en una institución de salud terciaria en la Ciudad de México.

Materiales y métodos**Muestras biológicas**

Estudio transversal descriptivo de 79 muestras de lavado bronquial obtenidas de neonatos atendidos entre el 1 de enero de 2016 y el 31 de diciembre de 2019 en una institución de salud de tercer nivel en la Ciudad de México. El estudio incluyó a neonatos con resultados negativos en las pruebas de detección de los patógenos respiratorios asociados con mayor frecuencia a la neumonía afebril, con eosinofilia (> 400 eosinófilos/mm³) y clínica sugestiva de infección por bacterias atípicas. Los criterios de exclusión fueron la falta de datos en el historial médico y el tratamiento antimicrobiano en el momento de la recogida de la muestra o en las 72 h precedentes. Las muestras recogidas se introdujeron en medio de transporte 2-SP para *C. trachomatis* para su conservación. Una vez llegaban al laboratorio, las muestras se procesaron para la extracción de ácidos nucleicos.

Definición de resultados, signos y síntomas

El diagnóstico de distrés respiratorio se basó en la presencia de aleteo nasal, quejido espiratorio, tiraje xifoideo, tiraje costal, disociación toracoabdominal, polipnea, agotamiento, y apnea; evidencia en la monitorización de hipoxia, hipercapnia, asfixia y acidosis, una presión de oxígeno (PaO₂) inferior a 50 mmHg; cianosis central en aire ambiente, o la necesidad de oxígeno suplementario para mantener un PaO₂ superior a 50 mmHg; características radiográficas consideradas típicas de la enfermedad (patrón reticulogranular difuso con broncograma aéreo u opacidades en vidrio esmerilado). El diagnóstico diferencial del distrés respiratorio incluyó la neumonía perinatal, el síndrome de distrés respiratorio, la taquipnea transitoria del recién nacido y el síndrome de aspiración de meconio. Se registraron las complicaciones posparto identificadas en las primeras 72 h de vida, incluyendo conjuntivitis y sepsis.

La infección respiratoria se consideró en neonatos con antecedentes de infección materna, rasgos sugestivos de corioamnionitis o RPM; que, tras el nacimiento, mostraron signos de fallo respiratorio, estertores, rasgos sugestivos de respuesta inflamatoria sistémica con aumentos en la frecuencia cardíaca y la respiratoria, cambios en la temperatura corporal o problemas hemodinámicos, con rasgos radiográficos de ocupación alveolar con apariencia parcheada y broncograma aéreo, rasgos sugestivos de respuesta inflamatoria sistémica, como leucocitosis, leucopenia o recuento plaquetario disminuido en el hemograma; resultados positivos de las pruebas de la proteína C reactiva y la procalcitonina o el hemocultivo, o identificación de alguna bacteria conocida como causante de neumonía atípica.

Aprobación para la investigación en seres humanos

Las pruebas para el diagnóstico de la infección por clamidia se realizaron en los recién nacidos tras obtener el consentimiento informado firmado por los padres o tutores legales. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética institucional (ID 212250-3120-10607-01-14) y se ajustó a los principios éticos de la institución, así como a los de la Declaración de Helsinki de 1975, según la enmienda del año 2000.

Extracción de ADN genómico

El ADN genómico se obtuvo por el método de extracción con fenol-cloroformo. La integridad del material genético se verificó por electroforesis en gel de agarosa al 1%. La concentración y la pureza del ADN (μg/mL) se midieron con un espectrofotómetro (Nanodrop Biochrom™, GeneQuant™ 1300). El ADN obtenido se conservó a -20 °C hasta su utilización.

Identificación de *C. trachomatis*

Se utilizó un ensayo de reacción de polimerasa en cadena convencional para identificar la infección por *C. trachomatis* mediante la detección de su plásmido críptico. Para ello, se amplificó un fragmento de 241 pb de la región codificante 1 (CDS1) con los cebadores descritos por Mahony

et al.¹³, KL1 5'-TCCGGAGCGAGTTACGAAGA-3' y KL2 5'-AATCAATGCC GGGATTGGT-3'. Mahony et al. ya han descrito previamente la mezcla de reacción y las condiciones de la PCR¹³. Como control negativo se utilizó ADN de células McCoy no infectadas y como control positivo ADN de *C. trachomatis* (ATCC: DUWC3X).

Genotipado

El genotipado de *C. trachomatis* se llevó a cabo mediante análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción amplificados por PCR (RFLP-PCR), según se ha descrito previamente^{10,14}. Los perfiles de restricción se estudiaron mediante la electroforesis en gel de poliacrilamida al 12%, y el genotipo de las cepas de *C. trachomatis* se determinó comparando los resultados del análisis con una base de datos genética.

Secuenciación de ADN

En los casos en los que el ensayo RFLP no identificó ningún genotipo de *C. trachomatis*, se realizó un ensayo de PCR anidada. La identificación de estos genotipos requirió la amplificación del segmento variable 2 (VS-2) del gen *ompA*. Para ello, en primer lugar se amplificó un fragmento de 1000 pb correspondiente a la región entre los segmentos variables 1 y 2 con los cebadores publicados por Zheng et al.¹⁵ (CT1: 5'-TGA ACCAAGCCTTATGATCGACGGA-3' y CT2: 5'-CGGAATTGTGCATTTACGTGA G-3'). A continuación, el producto de la amplificación sirvió de plantilla para la amplificación del segmento variable 2 utilizando los cebadores CT3: 5'-ACTTTGTTTTCGACCGTGTTTTG-3' y CT4: 5'-GATTGAGC GTATTGAAAGAAGC -3'. Estos cebadores amplificaron un fragmento de 416 pb. Las mezclas y condiciones de reacción fueron similares en ambos ensayos. La mezcla de la PCR contenía 1,75 mM de MgCl₂, 30 pM/μL de cada cebador, 160 μM/μL de nucleótidos, 1 U/μL de polimerasa Taq (Promega), y 100 ng/μL de ADN. La reacción se llevó a cabo en un termociclador PTC-100 (MJ Research Inc) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización a 94 °C durante 5 min, seguida de 30 ciclos de alineamiento consistentes en 1 minuto a 94 °C, 1 minuto a 55 °C y 1 minuto a 72 °C y un ciclo final de extensión de 5 min a 72 °C. Por último, el producto de 416 pb fue secuenciado con un analizador ABI PRISM 310 (PE Biosystems) empleando un kit de secuenciación de ADN BigDye (PE Biosystems) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Análisis estadístico

Se obtuvo una muestra aleatoria de entre las muestras que resultaron positivas para *C. trachomatis* para realizar el genotipado. La selección se llevó a cabo generando números aleatorios entre el 1 y el número total de muestras positivas con una calculadora científica Casio FX-82MS (Casio Computer Co, Ltd; Tokio, Japón).

El análisis estadístico se realizó con el software SPSS Statistics, versión 24.0 para Windows (IBM Corp., Armonk, NY, EE. UU.), con la prueba exacta de Fisher. La magnitud de la asociación entre variables se ha expresado en términos de

riesgos relativos (RR) con sus correspondientes intervalos de confianza (IC) del 95%, empleándose la prueba *t* de Student para los datos paramétricos y las pruebas de Kruskal Wallis y *U* de Mann-Whitney para los datos no paramétricos. Los valores de *p* inferiores a 0,05 se consideraron significativos.

El tamaño muestral requerido para detectar una asociación entre las variables clínicas y la infección neonatal por *C. trachomatis* se calculó con la siguiente fórmula:

$$n = N Z^2 pq / d^2 (N - 1) + Z^2 pq$$

El número de muestras positivas para *C. trachomatis* fue 363, con un margen de error del 15% debido a la existencia de cepas de *C. trachomatis* carentes del plásmido; con lo que según la fórmula aplicada, una selección de 39 muestras sería suficiente para explorar las asociaciones.

Resultados

Prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en neonatos

Entre el 1 de enero de 2016 y el 31 de diciembre de 2019, se analizó un total de 1062 muestras de neonatos con síndrome de distrés respiratorio para la detección de *C. trachomatis*. Hubo 363 muestras positivas para ADN de *C. trachomatis*, lo que corresponde a una prevalencia del 34,18%.

De estos 363 neonatos, 207 eran varones y 156 mujeres. El tipo de parto más frecuente fue por cesárea (65,3%) y el 34,7% fueron vaginales (*p* < 0,05). En el 16,8% (61/363), había antecedente de RPM y en el 14,9% (54/363) de corioamnionitis en madres infectadas por *Chlamydia* (datos no publicados).

Identificación de genotipos de *C. trachomatis*

Del total de 363 muestras positivas para *C. trachomatis*, 79 (21,8%) se seleccionaron aleatoriamente para el genotipado de la cepa implicada en la infección mediante PCR-RFLP. La figura 1 muestra los fragmentos obtenidos en el ensayo de PCR-RFLP de cepas de clamidia y las muestras positivas para clamidia. En 3 muestras no se pudo identificar el genotipo, por lo que se obtuvo y analizó la secuencia de nucleótidos del segmento variable VS-2 del gen *ompA*. Las secuencias se compararon con los genotipos registrados en la base de datos GenBank de la National Center for Biotechnology Information (NCBI), identificándose 2 de ellas como genotipo E y una como genotipo L2 (fig. 2). El genotipado de las 79 muestras solo consiguió identificar el genotipo de 40 cepas (tabla 1): 14 como I/la (35%), 13 como E (32,5%), siete como D (17,5%), cinco como F (12,5%), y una como L2 (2,5%).

Características clínicas de los recién nacidos y distribución de genotipos de *C. trachomatis*

De los 40 del total de 363 neonatos (11%) en los que se identificó el genotipo de *C. trachomatis* implicado, 25 eran varones y 15 mujeres, y 8 habían nacido por parto vaginal y 32 por cesárea (tabla 1). Al nacimiento, la edad gestacional media fue de 30,6 ± 3,87 semanas, y la longitud, peso y perímetro cefálico medios fueron 39 ± 4,9 cm, 1411 ± 586,4 g y 27,7 ± 3,21 cm, respectivamente (tabla 2). No se encontró

una asociación significativa entre ninguna de estas variables y el genotipo de *C. trachomatis* causante de la infección. De manera similar, algunas manifestaciones clínicas, como la conjuntivitis o la neumonía, no se asociaron a algunos de los genotipos identificados. No obstante, se observó un riesgo relativo de sepsis cuatro veces mayor en neonatos infectados por el genotipo D (RR = 5,83; IC 95%: 1,51-25,985; *p* < 0,02). Además, la displasia broncopulmonar fue más frecuente en neonatos infectados por el genotipo E (RR = 3,3; IC 95%: 1,1-10,3; *p* < 0,05), y el genotipo I/la se asoció significativamente con el desarrollo de corioamnionitis en la madre (RR = 2,8; CI 95%: 1,4-5,5; *p* < 0,05).

Discusión

C. trachomatis se ha asociado a varias patologías que afectan al embarazo, el desarrollo fetal y el recién nacido^{2,16,17}, y puede contribuir al nacimiento pretérmino, la corioamnionitis, la RPM e incluso la muerte neonatal, aunque esto último continúa siendo objeto de debate. En nuestro estudio, la edad gestacional media de los 363 neonatos con resultados positivos para infección por clamidia fue de 31,5 ± 4,1 semanas, y hubo antecedente de corioamnionitis en el 15% y de RPMP en el 17%.

El nacimiento pretérmino y el bajo peso al nacer se asocian con frecuencia a la infección por *C. trachomatis*^{3,16,17}, como demuestra nuestro estudio, en el que la mayoría de los neonatos nacieron antes de las 32 semanas de gestación y con peso bajo. La prematuridad está reconocida como la causa más importante de morbimortalidad perinatal a nivel mundial, y es responsable del 27% de los casi cuatro millones de muertes neonatales reportadas anualmente. La enfermedad pulmonar crónica y las infecciones son dos de los factores de riesgo de mortalidad perinatal más importantes. La tasa de mortalidad neonatal media reportada por el Instituto Nacional de Perinatología en estos cuatro años de investigación fue de 19,9 defunciones por cada 1000 nacidos vivos. En nuestro estudio, hubo 13 defunciones entre los 363 recién nacidos con infección por clamidia (3,6%) (el genotipo solo se identificó en un caso, y fue el E). Esto sugiere que *C. trachomatis* puede ser una causa importante de mortalidad perinatal, como ya han propuesto otros autores¹⁸.

La prevalencia global de la infección por *C. trachomatis* en mujeres embarazadas varía entre el 6,7% y el 18%¹⁶⁻²¹. En México, es del 4,7% en adolescentes embarazadas y del 2% en gestantes adultas⁹. La frecuencia reportada de la infección neonatal varía entre el 2% y el 40% a nivel mundial^{6,22,23} y entre el 11,6% y el 45% en México^{11,24}. En nuestro estudio, la prevalencia observada de infección por *C. trachomatis* fue del 35%.

Se ha descrito que entre el 30% y el 50% de los recién nacidos con infección por clamidia desarrollan conjuntivitis y entre el 10% y el 20% neumonía²⁻⁴. No obstante, en nuestro estudio la conjuntivitis no fue frecuente, ya que solo se desarrolló en 34 de los 363 neonatos infectados (9,4%). El genotipo solo se pudo identificar en 9 de estos casos (2,5%), y los más frecuentes fueron el E (0,8%) y el I/la (0,8%) (3 casos cada uno).

La frecuencia de neumonía fue ligeramente mayor, del 24,8% (90/363). El genotipo I/la fue el identificado con

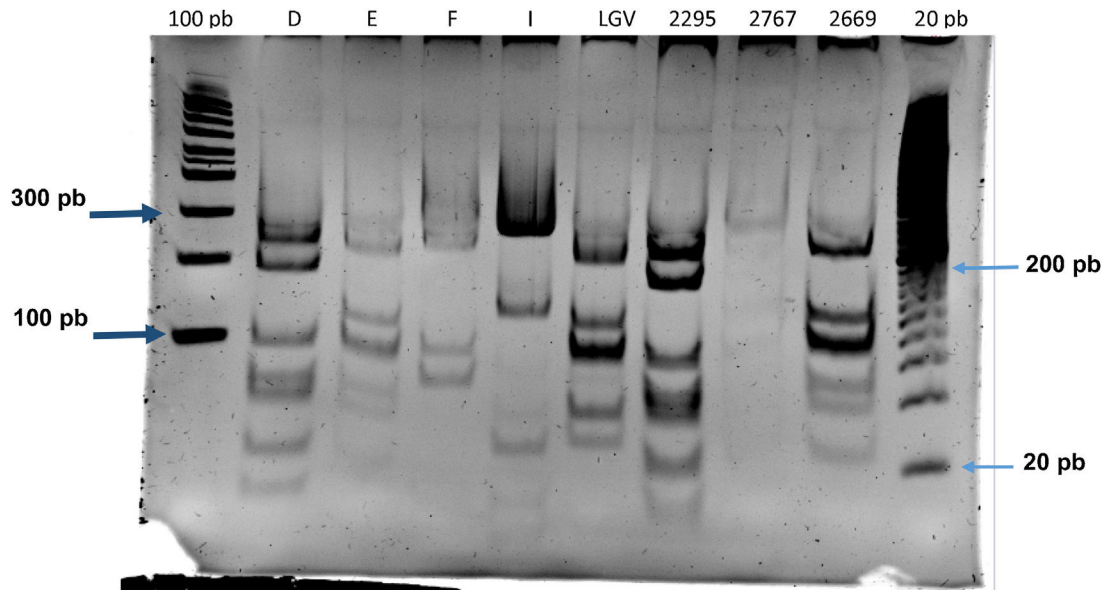


Figura 1 Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción del gen *ompA* en cepas de *C. trachomatis* aisladas de muestras de aspirado bronquial de recién nacidos con distrés respiratorio. Tipo de cepa (D, E, F, I); muestra de aspirado bronquial (2295, 2767, 2669), marcador de peso molecular (100 pb y 20 pb).

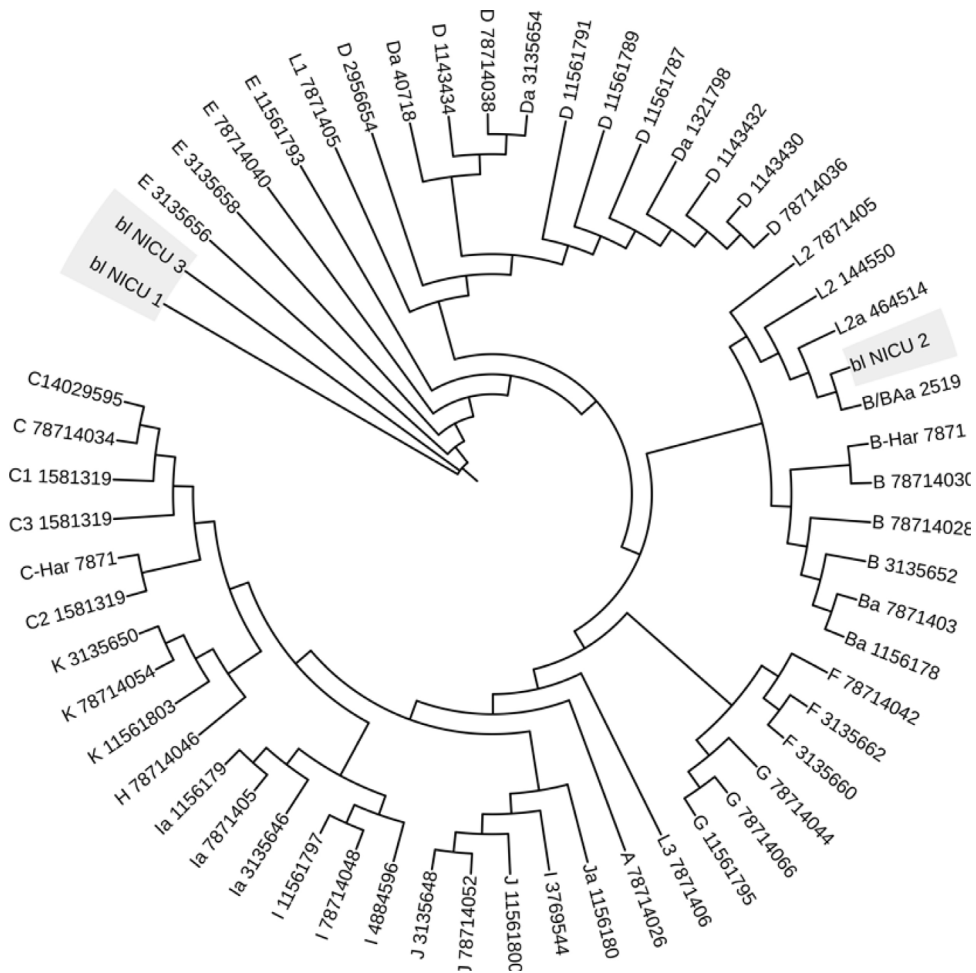


Figura 2 Árbol filogenético del gen *ompA* de *C. trachomatis*. El árbol de máxima similitud se basó en 100 genes ortólogos conservados elegidos al azar; las iniciales blNICU 1, blNICU 2 y blNICU 3 representan las cepas de *C. trachomatis* aisladas de muestras de lavado bronquial.

Tabla 1 Asociación entre el genotipo de *C. trachomatis* y las características clínicas del neonato

Clínica	D				E				F				I			
	Sí	No	RR% (IC 95%)	<i>p</i>	Sí	No	RR% (IC 95%)	<i>p</i>	Sí	No	RR% (IC 95%)	<i>p</i>	Sí	No	RR% (IC 95%)	<i>p</i>
Sexo																
Varón	4	21	0,8 (0,21-3,1)	NS	9	16	1,35 (0,5-3,6)	NS	4	21	2,4 (0,3-19,5)	NS	8	17	0,8 (0,3-1,9)	NS
Mujer	3	12			4	11			1	14			6	9		
Tipo de parto																
Vaginal	2	6	1,6 (0,4-6,8)	NS	3	5	1,2 (0,4-3,4)	NS	2	6	2,7 (0,5-13,4)	NS	1	7	0,31 (0,05-2,0)	NS
Cesárea	5	27			10	22			3	29			13	19		
Sepsis																
Sí	5	7	5,8 (1,5-26)	0,017	3	9	0,7 (0,23-2,1)	NS	1	10	1,6 (0,3-8,2)	NS	2	10	0,39 (0,1-1,5)	NS
No	2	26			10	18			4	25			12	16		
BPD																
Sí	5	15	2,5 (0,6-11,4)	NS	10	10	3,3 (1,1-10,3)	0,04	1	19	0,25 (0,06-3,8)	NS	4	16	0,4 (0,15-1,1)	NS
No	2	18			3	17			4	16			10	10		
Neumonía																
Sí	5	21	1,35 (0,3-6,07)	NS	6	20	0,46 (0,19-1,1)	NS	4	19	3,0 (0,36-24,1)	NS	10	16	1,4 (0,52-3,5)	NS
No	2	12			7	7			1	16			4	10		
Conjuntivitis																
Sí	2	7	1,4 (0,32-6,0)	NS	3	6	1,0 (0,36-3,0)	NS	1	8	0,86 (0,1-6,8)	NS	3	6	0,9 (0,3-2,7)	NS
No	5	26			10	21			4	27			11	20		
Corioamnionitis																
Sí	1	4	1,7 (0,18-7,8)	NS	0	5	-1,6 (1,2-2,0)	NS	0	5	-1,7 (1,0-1,34)	NS	4	1	2,8 (1,4-5,5)	0,043
No	6	29			13	22			5	30			10	25		
RPM																
Sí	4	12	2,0 (0,52-7,8)	NS	3	13	0,45 (0,15-1,4)	NS	1	15	0,38 (0,05-3,1)	NS	8	8	2,0 (0,86-4,7)	NS
No	3	21			10	14			4	20			6	18		

DBP: displasia broncopulmonar; IC: intervalo de confianza; NS: no significativo; RPM: rotura prematura de membranas; RR: riesgo relativo.

Tabla 2 Diferencias en las medidas antropométricas y las variables clínicas en neonatos con distrés respiratorio según el genotipo de *C. trachomatis*

Características clínicas	D (n=7)	E (n=13)	F (n=5)	I (n=14)
<i>Edad gestacional (semanas)</i>				
Media	31,43	30,98	30,1	30,05
DE	4,467	3,535	4,853	2,78
p	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
<i>Longitud (cm)</i>				
Media	39,93	39,54	38,6	38,43
DE	5,373	4,706	5,141	4,476
p	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
<i>Peso (g)</i>				
Media	1491,57	1453,85	1424,00	1274,79
DE	602,505	503,781	794,051	445,04
p	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
<i>Perímetro cefálico (cm)</i>				
Media	28,29	28,08	26,7	27,71
DE	3,988	3,024	3,347	2,478
p	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)
<i>Estancia en la UCIN (días)</i>				
Media	40,57	17,92	25	29,29
DE	40,074	32,147	36,414	42,835
p	(NS)	(NS)	(NS)	(NS)

DE: desviación estándar; NS: no significativo; UCIN: unidad de cuidados intensivos neonatales.

mayor frecuencia en estos casos (2,75%), seguido de los genotipos E (1,4%), F (1,1%) y D (1,1%). Cabe mencionar que 4 de los 5 pacientes en los que se identificó el genotipo F desarrollaron neumonía.

La estancia hospitalaria media de los recién nacidos fue de 55 días, y fueron diagnosticados de infección del tracto respiratorio causada por microorganismo atípico. La estancia media prolongada podría deberse a las complicaciones intrínsecas de la prematuridad y de la enfermedad. La infección cursó con displasia broncopulmonar (DBP) en el 65% de los pacientes. Carrera-Muiños et al.²³ reportaron resultados similares en cuanto a la estancia hospitalaria en neonatos con infección por clamidia.

En México no se ha investigado previamente qué genotipos de *C. trachomatis* causan infección en neonatos. Estudios previos han demostrado que el genotipo F es más frecuente en mujeres infértiles y hombres cuyas parejas son estériles en la Ciudad de México^{10,25}. En Guadalajara, México, los genotipos E, F, y D son los más frecuentes en mujeres infértiles, mientras que los genotipos F y E son más comunes en gestantes²¹. En nuestro estudio, de las 40 muestras en las que se identificó el genotipo de clamidia causante de infección en recién nacidos, los genotipos más frecuentes fueron el I/la (35%) y el E (32,5%), seguidos del D (17,5%), el F (12,5%), y el L2 (2,5%).

Aunque en el presente estudio no se pudo demostrar que ningún genotipo de *C. trachomatis* fuera la causa única de alguna condición en particular, sí se pudieron discernir algunas tendencias. El genotipo D ya se había descrito en México como causante de sepsis neonatal. Este genotipo fue detectado en una muestra de tejido hepático de un neonato fallecido con clínica de sepsis neonatal sin aislamiento bacteriano y con antecedentes de corioamnionitis y RPM de 8 h de duración¹². En nuestro estudio, el genotipo D fue 4,6

veces más frecuente en neonatos que desarrollaron sepsis ($p < 0,04$). La sepsis por *C. trachomatis* no es nada nuevo; en 2016, un estudio realizado en Ghana encontró una prevalencia de sepsis del 33,7% y RPM ($p < 0,001$) en recién nacidos de madres infectadas por *C. trachomatis*²⁶. No obstante, los autores no identificaron los genotipos causantes de la enfermedad.

A nivel internacional, en Argentina se ha encontrado una proporción del genotipo D entre el 5,3% y el 7,9% en casos de conjuntivitis neonatal⁵, mientras que en Chile y China, este genotipo estaba implicado con mayor frecuencia en casos de neumonía neonatal, con proporciones del 11,8% y el 12,1%, respectivamente^{7,8}. En el presente estudio, estas enfermedades estaban presentes en el 22,2% y el 19,2% de los casos, respectivamente.

El genotipo D es uno de los más invasivos porque tiene una citotoxina que puede lisar las células de la mucosa genitourinaria, como demostró el estudio realizado por Stephens et al.²⁷ Esta citotoxina está codificada por las secuencias genéticas CT165 a CT168, dando lugar a una proteína cuya secuencia de aminoácidos presenta una homología significativa con las de las citotoxinas de *Clostridium difficile*²⁸. Por añadidura, causa alteraciones en el citoesqueleto de las células huésped por medio de su actividad como glucosiltransferasa, modificando moléculas reguladoras intracelulares, como las proteínas de unión al GTP de la familia Rho/Rac²⁹⁻³¹. Estos cambios citoesqueléticos pueden destruir la membrana celular y de este modo promover el desarrollo de sepsis.

Otro hallazgo importante en nuestro estudio fue la identificación de una secuencia de nucleótidos correspondiente a una cepa causante de linfogranuloma venéreo (genotipo L2 de *C. trachomatis*) en una muestra neonatal. La madre de este recién nacido no desarrolló signos ni síntomas de

linfogranuloma venéreo. La prevalencia del genotipo L2 en neonatos no se ha establecido; solamente se ha descrito en una ocasión por Beem et al.³², que detectaron anticuerpos contra el serotipo L1 de *C. trachomatis* en 18 recién nacidos entre 20 con neumonía. Asimismo, en varios estudios se detectó la infección por el genotipo L2, genotipo en hombres heterosexuales y homosexuales y en mujeres que no desarrollaron linfogranuloma venéreo^{10,33}, lo que sugiere que esta es una variante del genotipo L2, posiblemente la L2f. Las secuencias de nucleótidos de la variante del genotipo L2 obtenidas en nuestro estudio mostraron deleciones, sustituciones e inserciones en las regiones VS1 y VS2 del gen *ompA*.

Por otro lado, el genotipo E es el más prevalente en neonatos con neumonía en Chile (47,1%)⁷ y China (42,4%)⁸ y en neonatos con conjuntivitis en Argentina (72,4%)⁵ y Hungría (48%)⁶. En nuestro estudio, el genotipo E fue el segundo en frecuencia en recién nacidos con neumonía (23%) y se identificó en un único caso de conjuntivitis neonatal (11,1%). En cambio, se observó una tendencia en la que el 50% de los recién nacidos infectados por este genotipo desarrollaron DBP. No obstante, la etiología de DBP es multifactorial y puede implicar factores como la ventilación mecánica prolongada, concentraciones altas de oxígeno inspirado, corioamnionitis o sepsis o el grado de prematuridad, entre otros. Se necesita investigar más para determinar si el genotipo E se asocia a un grado mayor de inmadurez pulmonar, ya que en el presente estudio no se encontró asociación con el desarrollo de sepsis o la corioamnionitis. En Argentina, el genotipo E estaba implicado en el 7,9% de los casos de conjuntivitis neonatal⁵. En nuestro estudio, el 33,3% de los recién nacidos infectados por este genotipo desarrollaron la enfermedad.

En cuanto al genotipo F, encontramos una frecuencia menor de infección en neonatos comparada con la frecuencia observada en mujeres infértiles y hombres atendidos en el Instituto Nacional de Perinatología en la Ciudad de México^{10,25}. Estudios en Chile y China han reportado proporciones de casos de neumonía por *C. trachomatis* correspondientes a este genotipo de 17,6% y 42,4%, respectivamente^{7,8}. En nuestro estudio encontramos una proporción de 17,4%, similar a la de Chile. No obstante, cabe destacar que de los 5 neonatos infectados por el genotipo F, 4 desarrollaron neumonía (80%), lo que hace a este genotipo particularmente interesante como posible causa principal de neumonía. En el presente estudio no se pudo demostrar una asociación con la neumonía, quizá por el escaso número de muestras que fueron positivas para este genotipo. La conjuntivitis causada por el genotipo F no se ha descrito con frecuencia en neonatos^{5,6}. En este sentido, nuestros hallazgos fueron consistentes con la literatura previa.

En lo tocante al genotipo I/la, se ha reportado una prevalencia de 1,3% entre los neonatos con conjuntivitis en Argentina⁵. En nuestro estudio, se detectó el genotipo I/la en el 33,3% de los recién nacidos con conjuntivitis. La frecuencia del genotipo I/la como causa de neumonía no se ha reportado hasta la actualidad. En nuestro estudio, detectamos este genotipo en el 38,5% de los neonatos con neumonía.

Otro hallazgo interesante de nuestro estudio es que el genotipo I/la se asoció a un aumento de 2,8 veces

estadísticamente significativo en el riesgo relativo de corioamnionitis; no hay datos previos sobre la prevalencia de los genotipos causantes de corioamnionitis. No obstante, en Estados Unidos, Geisler et al.³⁴ han descrito una asociación entre el genotipo I/la y la raza negra en las mujeres, con una prevalencia del 16%, mientras que en mujeres infértiles en México se ha descrito una prevalencia del 4,2% al 6%¹⁰. Más allá de estos países, se ha descrito una prevalencia del 4,8% en Senegal, 2,1% en Costa Rica, y 16% en Guadalupe, en la región del Caribe^{35–37}.

Conclusión

Aunque los genotipos I/la y E de *C. trachomatis* fueron los implicados más frecuentemente en las infecciones del tracto respiratorio en neonatos mexicanos, el 80% de los pacientes con el genotipo F desarrollaron patología respiratoria. En cambio, el genotipo D se asoció al desarrollo de sepsis neonatal sepsis, y el genotipo I/la al desarrollo de corioamnionitis.

Financiación

Los autores no recibieron financiación para el desarrollo de este proyecto.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. WHO. (2016). Guidelines for the treatment of Chlamydia trachomatis. Geneva, Switzerland: NCBI. [consultado 23 Feb 2022]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK379712/>.
2. Smith J, Taylor-Robinson D. Infection due to Chlamydia trachomatis in pregnancy and the newborn. Baillieres Clin Obstet Gynaecol. 1993;7:237–55, [http://dx.doi.org/10.1016/s0950-3552\(05\)80154-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0950-3552(05)80154-3).
3. Numazaki K. Current problems of perinatal Chlamydia trachomatis infections. J Immune Based Ther Vaccines. 2004;2:1–7 [consultado 23 Feb 2022]. Disponible en: <http://www.jibtherapies.com/content/2/1/4>.
4. Pellowe C, Pratt R. Neonatal conjunctivitis and pneumoniae due to chlamydia infections. Infant. 2006;2:16–7 [consultado 23 Feb 2022]. Disponible en: https://www.infantjournal.co.uk/pdf/inf.007_cif.pdf.
5. Gallo VL, Entrocassi C, Corominas AI, Rodríguez FM. Distribution study of Chlamydia trachomatis genotypes in symptomatic patients in Buenos Aires Argentina: association between genotype E and neonatal conjunctivitis. BioMed Central Research Notes. 2010;3:34, <http://dx.doi.org/10.1186/1756-0500-3-34>.
6. Balla E, Petrovay F, Erdo T, Baldazs A, Henczkó J, Urbán E et al. Distribution of Chlamydia trachomatis genotypes in neonatal conjunctivitis in Hungary. J Med Microbiol. 2017;66:915–8, <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.000523>.
7. Martínez M, Millán F, González C. Chlamydia trachomatis genotypes associated with pneumonia in Chilean infants. Scand J Infect Dis. 2009;41:313–6, <http://dx.doi.org/10.1080/00365540902744758>.

8. Li Y, Xiong L, Huang Y, Xia Y, Zhou H, Xu F et al. The clinical characteristics and genotype distribution of Chlamydia trachomatis infection in infants less than six months of age hospitalized with pneumonia. *Infect Genet Evol.* 2015;29:48–52, <http://dx.doi.org/10.1016/j.meegid.2014.11.004>.
9. López-Hurtado M, García-Romero S, Escobedo-Guerra M, Bustos-López D, Guerra-Infante F. Prevalencia de la infección genital por Chlamydia trachomatis en mujeres que asisten al Instituto Nacional de Perinatología de la Ciudad de México. *Rev Chilena Infectol.* 2018;35:371–6.
10. de Haro-Cruz M, Deleón-Rodríguez I, Escobedo-Guerra M, López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Ortiz-Ibarra F et al. Genotyping of Chlamydia trachomatis from endocervical specimens of infertile Mexican women. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;20:102–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2010.08.014>.
11. Arteaga-Troncoso G, López-Hurtado M, Guerra-Infante FM. Risk of infection in newborns exposed to vaginal colonization by Chlamydia trachomatis. *An Pediatr (English edition).* 2020;93:146, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anpedi.2019.12.011>.
12. Hernández-Trejo M, Herrera-González N, Escobedo-Guerra M, de Haro-Cruz M, Moreno-Verduzco E, López-Hurtado M et al. Reporting detection of Chlamydia trachomatis DNA in tissues of neonatal death cases. *J Pediatr (Rio J).* 2014;90:182, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2013.09.002>.
13. Mahony JB, Luinstra KE, Sellors JW, Chernesky MA. Comparison of plasmid- and chromosome-based polymerase chain reaction assays for detecting Chlamydia trachomatis nucleic acids. *J Clin Microbiol.* 1993;31:1753–8.
14. Yang C, Maclean I, Brunham R. DNA Sequence polymorphism of the Chlamydia trachomatis omp1 gene. *J Infect Dis.* 1993;168:1225–30, <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/168.5.1225>.
15. Zheng H, Jiang L, Fang D, Xue Y, Wu Y, Huang J et al. Application of an oligonucleotide array assay for rapid detecting and genotyping of Chlamydia trachomatis from urogenital specimens. *Diagnostic Microbiol Infect Dis.* 2007;57:1–6, <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2006.05.007>.
16. Adachi K, Nielsen-Saines K, Klausne J. 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):1–22, <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9315757>.
17. He W, Jin Y, Zhu H, Zheng Y, Qian J. Effect of Chlamydia trachomatis on adverse pregnancy outcomes: a meta-analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2020;302:553–67, <http://dx.doi.org/10.1007/s00404-020-05664-6>.
18. Silva MJ, Florêncio GL, Gabiatti JR, Amaral RL, Eleutério Júnior J, Gonçalves AK. Perinatal morbidity and mortality associated with chlamydial infection: a meta-analysis study. *Braz J Infect Dis.* 2011;15:533–9, <http://dx.doi.org/10.1590/s1413-86702011000600006>.
19. Azevedo M, Nunes S, Oliveira F, Rocha D. High prevalence of Chlamydia trachomatis in pregnant women attended at primary health care services in Amazon. Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2019;61:e6, <http://dx.doi.org/10.1590/s1678-9946201961006>.
20. Hoenderboom B, van Bergen J, Dukers-Muijers N, Götz H, Hoebe C, de Vries H et al. Pregnancies and time to pregnancy in women with and without a previous Chlamydia trachomatis infection. *Sex Transm Dis.* 2020;47:739–47, <http://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001247>.
21. 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;17:83, <http://dx.doi.org/10.1186/s12905-017-0428-5>.
22. Martín-Begue N, Frick M, Alarcón S, Wolley-Dod C, Soler-Palacín P. Neonatal conjunctivitis: diagnosis and treatment. *Acta Estrabológica.* 2017;XLVI:159–64 [consultado 23 Feb 2022]. Disponible en: https://www.estrabologia.org/actas/Acta_2.2017/09-PROTOCOLOS.pdf.
23. Carrera-Muiños S, Michel-Macías C, Fernández-Carrocerá L, Cordero-González G, Yllescas-Medrano E, Corral-Kassian E. Infecciones por gérmenes atípicos en el recién nacido hospitalizado en un centro de tercer nivel de atención. Un problema creciente. *Perinatol Reprod Hum.* 2017;31:34–8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.rprh.2017.10.003>.
24. López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Sosa-González IE, de Haro-Cruz MJ, Flores-Salazar VR, Guerra-Infante FM. Eosinophilia in Preterm Born Infants Infected with Chlamydia trachomatis. *Fetal Pediatr Pathol.* 2016;35:149–58, <http://dx.doi.org/10.3109/15513815.2016.1153175>.
25. López-Hurtado M, Escarcega-Tame M, Escobedo-Guerra M, de Haro-Cruz M, Guerra-Infante FM. Identification of Chlamydia trachomatis genotypes in Mexican men with infertile women as sexual partners. *Enferm Infecc Microbiol Clin (Engl Ed).* 2021;S0213–005X:00043–44, <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2021.02.005>. Publicación online avanzada.
26. Siakwa M, Kpikpitse D, Azanu W, Kuganab-Lem R, Hanson-Owoo E. Chlamydia trachomatis related neonatal sepsis. *Int J Current Res.* 2016;8:30525–8 [consultado 23 Feb 2022]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/309616641_Chlamydia_trachomatis_related_neonatal_sepsis.
27. Stephens AJ, Aubuchon M, Schust DJ. Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2011;2011:525182, <http://dx.doi.org/10.1155/2011/525182>.
28. Belland R, Scidmore M, Crane D, Hogan D, Whitmire W, McClarty G et al. Chlamydia trachomatis cytotoxicity associated with complete and partial cytotoxin genes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98:13984–9, <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.241377698>.
29. Fiorentini C, Fabbri A, Falzano L, Fattorossi A, Matarrese P, Rivabene R et al. Clostridium difficile toxin B induces apoptosis in intestinal cultured cells. *Infect Immun.* 1998;66:2660–5, <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.66.6.2660-2665.1998>.
30. Byrne G. Chlamydia trachomatis strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity. *J Infect Dis.* 2010;201Suppl2 Suppl 2:S126–33, <http://dx.doi.org/10.1086/652398>.
31. Chen S, Sun C, Wang H, Wang J. The role of Rho GTPases in toxicity of Clostridium difficile toxins. *Toxins.* 2015;7:5254–67, <http://dx.doi.org/10.3390/toxins7124874>.
32. Beem MO, Saxon EM. Respiratory-tract colonization and a distinctive pneumonia syndrome in infants infected with Chlamydia trachomatis. *N Engl J Med.* 1977;296:306–10, <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM197702102960604>, 10.
33. Crowell TA, Hardick J, Lombardi K, Parker Z, Kokogho A, Amusu S, et al. Asymptomatic lymphogranuloma venereum among Nigerian men who have sex with men. *Sex Transm Infect.* 2018;94:578–81, <http://dx.doi.org/10.1136/sextrans-2017-053414>.
34. Geisler W, Suchland R, Stamm W. Association of Chlamydia trachomatis serovar Ia infection with black race in a sexually transmitted diseases clinic patient population in Birmingham Alabama. *Sex Transm Dis.* 2006;33:621–4, <http://dx.doi.org/10.1097/01.olq.0000216027.71144.74>.
35. Sturm-Ramirez K, Brumblay H, Diop K, Guèye-Ndiaye A, Sankalé JL, Thior I, et al. Epidemiología molecular de la infección genital por Chlamydia trachomatis en mujeres de alto riesgo en

- Senegal, África occidental. *J Clin Microbiol.* 2000;38:138–45, <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.38.1.138-145>.
36. Porras C, Safaeian M, González P, Hildesheim A, Silva S, Schiffman M, et al. Epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection among young women in Costa Rica. *Sex Transm Dis.* 2008;35:461–8, <http://dx.doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181644b4c>.
37. Weill FX, Hello LS, Clerc M, Scribans C, de Barbeyrac B. Serological reactivity and bacterial genotypes in *Chlamydia trachomatis* urogenital infections in Guadeloupe, French West Indies. *Sex Transm Infect.* 2010;86:101–5, <http://dx.doi.org/10.1136/sti.2009.037036>.