

CONJUNTIVITIS FOLICULAR DEBIDA A *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*

JUAN ANGEL BASUALDO¹, LETICIA HUARTE², EMILIA BAUTISTA¹, GERMÁN NIEDFELD¹, GLADYS ALFONSO³,
NORA ROSSO², MARTA GERONES³, ISABEL GALEPPI²

¹Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata;

²Servicio de Oftalmología, Hospital Rodolfo Rossi, La Plata; ³Servicio de Oftalmología, Hospital San Martín, La Plata

Resumen Durante 2 años (1997-1999) se realizó un estudio en pacientes ambulatorios con conjuntivitis folicular investigando una posible etiología por clamidias. Se seleccionaron clínicamente 57 pacientes teniendo en cuenta una presunción diagnóstica orientada a la conjuntivitis de inclusión. Cada paciente se sometió a un completo examen oftalmológico y se realizaron dos hisopados de la conjuntiva tarsal de ambos ojos. La posible presencia de *Chlamydia trachomatis* fue investigada mediante inmunofluorescencia (IFD) y cultivo celular (CC) en la línea celular Mc Coy. De los 57 pacientes con conjuntivitis, 37 (65%) resultaron positivos para clamidia por CC y 27 (47%) por IFD. Hubo concordancia entre los dos métodos de diagnóstico, siendo más sensible el CC. De los 37 pacientes con conjuntivitis por clamidias, 23 (62%) fueron mujeres con más de 1/3 en un rango de edad entre 45 y 65 años. Los signos clínicos revelaron un período de evolución de 1 a 12 meses. Dieciocho (78%) de esas mujeres reportaron patología genital previa y 4 (29%) de los 14 hombres positivos tenían antecedentes de uretritis por *Chlamydia trachomatis*. Se demuestra una alta frecuencia de conjuntivitis folicular por *Chlamydia* (65%) entre las causas de conjuntivitis folicular en los pacientes estudiados. Ninguno de ellos presentó signo-sintomatología urogenital al momento del estudio.

Palabras claves: *Chlamydia trachomatis*, cultivo celular, conjuntivitis, inmunofluorescencia

Abstract *Follicular conjunctivitis due to Chlamydia trachomatis.* During two years (1997-1999) an investigation of possible infections of chlamydial etiology in outpatients with follicular conjunctivitis was carried out, through the use of specific assays. Fifty seven selected patients with presumptive inclusion conjunctivitis were diagnosed by means of ophthalmoscopic examination and bilateral tarsal-conjunctiva swabbing for microorganisms. The possible presence of *Chlamydia trachomatis* was tested by immunofluorescence microscopy and isolation in cell culture of McCoy line. Of the 57 conjunctivitis patients screened, 37 (65%) proved to be positive by cell culture (CC) and 27 (47%) by direct immunofluorescence (IFD). A good agreement between the two assays was observed, where the CC was more sensitive than IFD. Of these 37 patients with chlamydial conjunctivitis, 23 (62%) were women, with over one-third of them ranging in age from 45 to 65 years. Their clinical records revealed an evolution period of 1 to 12 months. Eighteen (78%) of these women reported previous genital pathology, while 4 (29%) of the 14 men had a history of urethritis by *Chlamydia trachomatis*. A high frequency of follicular conjunctivitis by *Chlamydia* (65%) in the screened patients was observed, without any evidence of urogenital signs and symptoms at the moment of the study.

Key words: *Chlamydia trachomatis*, cell culture, conjunctivitis, immunofluorescence

El microorganismo procariota *Chlamydia trachomatis* es un parásito intracelular obligado con afinidad por el epitelio columnar de las membranas mucosas. Las infecciones causadas por *C. trachomatis* se encuentran ampliamente difundidas en el hombre^{1, 2}.

Los serotipos A, B, Ba y C están asociados a tracomma, los serotipos D, E, F, G, H, I, J, y K son responsa-

bles de infecciones genitourinarias, conjuntivitis folicular, neumonía del lactante y síndrome de Reiter y los serotipos L1, L2 y L3 son agentes etiológicos del linfogranuloma venéreo^{3, 4}. Las enfermedades causadas por *C. trachomatis* se caracterizan por su tendencia a la cronicidad siendo la infección genital una de las formas clínicas más frecuentes.

La conjuntivitis folicular se transmite por contacto directo o indirecto a partir de secreciones genitales infectadas⁵⁻⁸. Es una conjuntivitis que afecta una o ambas conjuntivas tarsales. El curso de la infección es influenciado por el estado inmunológico del paciente y las secuelas no son comunes⁹⁻¹¹. Está perfectamente reconocida la asociación de infección ginecológica y con-

Recibido: 21-XII-2000

Aceptado: 10-IV-2001

Dirección postal: Dr. Juan Angel Basualdo, Cátedra de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata, calle 60 y 120, 1900 La Plata, Argentina.
Fax: (54-221) 4258987 e-mail jbasua@atlas.med.unlp.edu.ar

taminación ocular a partir del foco genital; esto determina la aparición de conjuntivitis y/o neumonía atípica^{5,6}. Los datos epidemiológicos de infecciones por *C. trachomatis* en Argentina son muy limitados y han comenzado a obtenerse desde hace pocos años, fundamentalmente relacionados con infecciones genitourinarias. Los estudios sobre infecciones oculares por clamidias son escasos¹²⁻¹⁶. Los objetivos de este trabajo fueron: determinar el impacto de *C. trachomatis* como agente causal de conjuntivitis folicular en pacientes ambulatorios que concurren a los Servicios de Oftalmología del Hospital Rodolfo Rossi y del Hospital General San Martín de la ciudad de La Plata, mediante las técnicas de cultivo celular e inmunofluorescencia y comparar la eficacia de estas dos técnicas diagnósticas considerando como *gold standard* al cultivo celular.

Materiales y métodos

Selección de pacientes: Entre mayo de 1997 y mayo de 1999 se cuantificaron 3250 ojos correspondientes a 1625 pacientes con diagnóstico de conjuntivitis en 2 Servicios de Oftalmología de Hospitales Públicos de La Plata. De este número, sobre 344 ojos fue necesario realizar hisopados para cultivo microbiológico ya que presentaban una evolución de más de un mes de duración y no se resolvieron mediante los tratamientos tópicos convencionales. Finalmente 114 ojos correspondientes a 57 pacientes fueron incluidos dentro del protocolo de screening de clamidia, ya que el perfil clínico respondía a los criterios patológicos establecidos en materiales y métodos. Para este estudio se seleccionaron pacientes ambulatorios entre 15 y 75 años de edad (edad media de 41 años para el sexo masculino y 48 años para el sexo femenino). La selección se basó en la presentación clínica y el examen biomicroscópico ocular que determinó una presunción diagnóstica orientada a la conjuntivitis de inclusión. Cada individuo completó un cuestionario con el cual se obtuvo información general, datos de enfermedad ocular pasada, disturbios urogenitales, tratamientos recibidos, detalles de la enfermedad ocular actual y resultados clínicos y de laboratorio. Los pacientes fueron seleccionados para este estudio por dos criterios fundamentales: a) Debían mostrar una evolución de la inflamación conjuntival de más de 30 días y haber resultado refractarios a los tratamientos tópicos convencionales. Cuando las muestras de hisopados conjuntivales de estos sujetos fueron sometidas a pruebas diagnósticas de laboratorio para aislar hongos y/o bacterias por cultivo en medios estándar, los resultados o bien fueron negativos, o alternativamente si hubo aislamiento microbiológico, los tratamientos indicados fallaron en la resolución de la conjuntivitis, b) Debía existir hipertrofia folicular y/o papilar de una o ambas conjuntivas tarsales.

Los individuos que cumplieron con ambos criterios fueron incluidos en el protocolo de screening para detectar *Chlamydia sp.* Este estudio se posibilitó con el consentimiento informado de los pacientes y del comité de ética de ambos hospitales.

Aislamiento de *Chlamydia trachomatis* por cultivo celular: El procedimiento empleado fue el descripto por Ripa y Mardh¹⁷. Las muestras de células de raspado conjuntival fueron tomadas con hisopo de algodón sin previa colocación de anestésico, suspendidas en un vial con medio 2-sacarosa-fosfato (2SP) y refrigeradas a -80°C hasta su procesamiento. Luego se realizó la inoculación de 200 µl de cada muestra en un vial de vidrio conteniendo un cubreobjetos circular de 12 mm de diáme-

tro cubierto de una monocapa de células Mc Coy con una densidad celular de 2×10^5 . Los viales fueron centrifugados a 1000 g a 37° C durante 1 hora y posteriormente se agregó a cada vial 1 ml de medio de crecimiento MEM con 10 % de suero fetal bovino y 1 µg de cicloheximida. Los viales se incubaron a 37°C durante 72 horas en atmósfera con 10% de CO₂. Posteriormente se descartó el medio de crecimiento de cada vial, se lavó la monocapa con *buffer* de fosfato salino (PBS) pH 7.2, 0.1M, se fijó la muestra con metanol y las monocapas fueron teñidas con Lugol. Se observó al microscopio de luz clara la presencia o ausencia de cuerpos de inclusión paranucleares en aumento mediano (450X).

Identificación de *Chlamydia trachomatis* por inmunofluorescencia: La técnica utilizada fue la recomendada por Stamm¹⁸. Cada muestra de células de raspado conjuntival fue recogida con hisopo de algodón de la conjuntiva tarsal y fue depositada sobre un cubreobjetos excavado. El material se fijó con acetona durante 5 minutos, luego del secado se agregó 25 µl de anticuerpo monoclonal antilipopolisacárido (IMAGEN- Chlamydia, Dako). Se incubó en cámara húmeda durante 15 minutos a 37° C y luego se lavó con PBS pH 7.2 en agitación durante 5 minutos. El material se dejó secar a temperatura ambiente y luego se agregó una gota de líquido de montar provista por el equipo comercial y se observó en el microscopio de inmunofluorescencia la presencia o ausencia de cuerpos de inclusión y corpúsculos elementales.

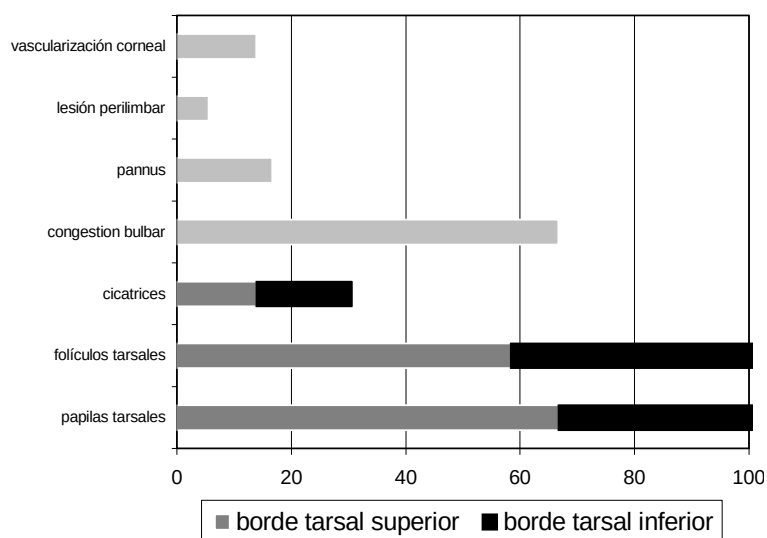
Resultados

De los 57 pacientes seleccionados, 37 presentaron ambos ojos infectados con *C. trachomatis* comprobándose una frecuencia del 2.3% dentro de la población estudiada (total de las conjuntivitis evaluadas en los dos años). De los 57 pacientes seleccionados, 37 (65%) fueron confirmados como positivos para la presencia de *C. trachomatis* por cultivo celular mientras que la IFD detectó el 47% (27) de los mismos. Los resultados positivos fueron coincidentes con ambas técnicas pero el cultivo celular demostró mayor sensibilidad. La Tabla 1 muestra la distribución por edad de los 57 pacientes con conjuntivitis folicular. La edad media de los pacientes positivos para clamidias fue de 45 años para las mujeres y 37 años para los hombres. No se hallaron diferencias significativas en la distribución de edad en los pacientes con y sin infección por clamidias.

Ningún paciente con infección por *C. trachomatis* usaba lentes de contacto o concurría a natatorios. La mayoría de estos individuos: 33 de 37 (89%) exhibieron una evolución de los síntomas que variaron entre 1 y 12 meses, aunque hubo pacientes con conjuntivitis de más de 4 años. Dieciocho de las 23 mujeres con conjuntivitis por clamidias (78%) señalaron haber padecido patología genital anterior. Solamente 2 mujeres (8.7%) entre estas 18 tenían historia de infección ginecológica previa por *C. trachomatis*; mientras que el resto indicó haber tenido flujo vaginal y 6 habían sufrido abortos espontáneos en su época fértil sin que se hubiera realizado ninguna investigación de la causa. Cuatro de los 14 pacientes masculinos (29%) tenían antecedentes de uretritis

TABLA 1.— Distribución por edad en pacientes con conjuntivitis folicular (n: 57)

Edad	Con infección por CT n: 37				Sin infección por CT n: 20			
	14-34	35-54	>55	Total	14-34	35-54	>55	Total
Mujeres	7	9	7	23	2	3	6	11
Hombres	8	3	3	14	3	4	2	9

CT: *Chlamydia trachomatis*Fig. 1.— Lesiones oculares derivadas del examen clínico de los pacientes con conjuntivitis por *Chlamydia trachomatis*. La figura indica el porcentaje de cada síntoma obtenido por el examen oftalmológico en los pacientes diagnosticados con conjuntivitis folicular por *C. trachomatis*.

por clamidias. Los síntomas revelados por los pacientes con *C. trachomatis* fueron: secreción (61%), sensación de cuerpo extraño (55.5%), dolor (22%), lagrimeo (55.5%), picazón (75%) y ardor (80.5%). Las lesiones encontradas en el examen biomicroscópico fueron las que se presentan en la Fig. 1 y corresponden a conjuntivitis folicular típica^{10,11}. El 17% de los pacientes con conjuntivitis por clamidia presentó pannus (vascularización superficial de la córnea con infiltración por tejido granulomatoso). Ninguno de los pacientes examinados, sin embargo, presentó síntomas urogenitales en el momento de su examinación oftálmica.

Discusión

La alta prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* ha sido establecida en numerosos trabajos¹⁵⁻²⁴. Milano y col determinaron una frecuencia del 15% de infecciones oculares por este microorganismo²⁵; Janssen y col en

un estudio clínico sobre 409 pacientes con conjuntivitis encontraron 36.6% casos de etiología por clamidias²⁶. Un estudio realizado por Szmulska para identificar el rol de *C. trachomatis* como agente causal de conjuntivitis crónica determinó que este microorganismo estuvo implicado en el 24% de los casos²⁷. Los datos publicados por Weinstok y col demuestran que la mayoría de los individuos infectados con *C. trachomatis* está entre jóvenes y adultos jóvenes (media 25 años)²⁰. Un estudio efectuado en el Hospital Italiano de Buenos Aires¹⁵ reveló una frecuencia de infección genital sintomática por *C. trachomatis* de 25.6% en mujeres y 29.5% en varones con una edad promedio en las dos poblaciones de 27 años. En otra investigación sobre mujeres que concurren a un Hospital Público de Argentina con infección genital por clamidias también resultó la edad promedio de 27 años¹⁹. Nuestra investigación sin embargo revela una fracción significativa de enfermos en una edad mas avanzada y el 30.4% de las mujeres tenían un rango de edad de 55 años o más.

Milano y Janssen registraron una historia de infección genital en el 80 a 90% de mujeres y 50% de hombres que presentaban conjuntivitis de inclusión por *C. trachomatis*²⁵.²⁶, Postema halló que el 70% de varones y el 60% de mujeres con conjuntivitis por *C. trachomatis* tenían infección genital asintomática²⁸. Nosotros no investigamos ese correlato, pero no sería improbable que existiera infección genital asintomática en nuestra población. Debido a que se halla una alta frecuencia de conjuntivitis por clamidias sobre todo en mujeres de más de 45 años de edad y por no hallarse este dato correlacionado con la edad de infección genital, creemos que se necesita investigación adicional para aclarar el mecanismo a través del cual *Chlamydia* infecta el ojo.

Aunque hemos reconocido que otras causas de conjuntivitis folicular pudieron llevar a un diagnóstico de sospecha erróneo, no fue posible determinar un origen adenoviral en los casos negativos, por limitaciones técnicas.

Agradecimientos: Los autores agradecen a María Apestegía por el análisis estadístico, a Mónica Cesarone por su colaboración técnica y a la Dra María Marta de Luca por su colaboración en el área informática.

Bibliografía

- Organización Panamericana de Salud. El control de las enfermedades transmisibles en el hombre. *Bull US Assoc Pub Health* 1992; 538: 523-6.
- Mard PA, Paavonen J, Puolakkainen M. *Chlamydia*. New York and London: Plenum Medical Book Company, 1989.
- Ozanne G. Infection chlamydiae persistente non apparente dans des cellules de McCoy. *Rv Car Biol* 1981; 40: 195-201.
- Ozanne G. Inapparent chlamydial infection in the urogenital tract of guinea pigs. *J Gen Microbiol* 1981; 119: 351-9.
- Dawson CR, Schachter J. TRIC agent infection of the eye and genital tract. *Am J Ophthalmol* 1967; 63: 1288-9.
- Jones BR. Ocular syndromes of TRIC virus infection and their possible genital significance. *Br J Vener Dis* 1964; 40: 3-15.
- Viswalingam ND, Wishart MS, Woodland RM. Adult chlamydial ophthalmia (paratrachoma). *Br Med Bull* 1983; 39: 123-7.
- Creuzot-Garcher C. Inclusion conjunctivitis in adults. *J Fr Ophthalmol* 1999; 22: 577-80.
- Dawson CR. Eye disease with chlamydial infections. In: Oriol D, Ridway G, Schachter J, Taylor-Robinson D, Ward M, editors. *Chlamydial Infection*. Cambridge: Cambridge University Press 1986, p 135-44.
- Kirk R, Wilhelmus MD, Nettie M, et al. Conjunctival cytology of adult chlamydial conjunctivitis. *Arch Ophthalmol* 1986; 104: 691-3.
- Stenberg K, Mardh PA. Chlamydial conjunctivitis in neonates and adults. *Acta Ophthalmol* 1990; 68: 651-7.
- Fiorito S, Galarza P, Hidalgo S, Oriedo C. Incidencia de infecciones genitales por *Chlamydia trachomatis* en el período 1989-1993. Buenos Aires: Taller Internacional sobre Infecciones por Chlamydias en Humanos y Animales. Proc Asociación Argentina de Zoonosis; 1995. Comunicación N° 22.
- Valencia AM, Passeggi C. Incidencia de *Chlamydia trachomatis* en infecciones urogenitales. Buenos Aires: Taller Internacional sobre infecciones por Chlamydias en humanos y animales. Proc Asociación Argentina de Zoonosis; 1995. Comunicación N° 26.
- Ceriatto FS, Rovera M, Ramos B, Sabini LI, Zanon SM. Infección genital a Chlamydias. Aspectos epidemiológicos. Buenos Aires: Taller Internacional sobre infecciones por Chlamydias en humanos y animales. Proc Asociación Argentina de Zoonosis; 1995. Comunicación N° 24.
- De Cristofano MA, Livellara B, Galli MA, et al. Extent of endemic *Chlamydia trachomatis* in the metropolitan area of Buenos Aires. *Enferm Infec Microbiol Clin* 1997; 15: 134-9.
- Di Bartolomeo S, Higa M, Janer M. Incidence of *Chlamydia trachomatis* conjunctivitis in newborn infants. *Rev Argent Microbiol* 1999; 31 (suppl 1): 27-30.
- Ripa KT, Mardh PA. New simplified culture technique for *Chlamydia trachomatis*. In: Holmes KK, Hobson D, editors. *Nongonococcal urethritis and related infections*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1977, p 323-7.
- Stamm WE, Tam M, Koester M, Cles L. Detection of *Chlamydia trachomatis* inclusions in McCoy cell cultures with fluorescein conjugated monoclonal antibodies. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 666-8.
- Stanchi N, Krakover R, Ferreras M, Perelstein S. Frecuencia de *Chlamydia trachomatis* entre mujeres consultantes a un servicio ginecológico de un hospital público en Argentina. Proc III Congreso Internacional de Infectología y Microbiología Clínica, III Congreso de Infectología del Mercosur, I Congreso de Infectología Pediátrica del Mercosur, I Congreso de Microbiología del Mercosur. Buenos Aires, 1997.
- Weinstok HS, Bolan GA, Kohn R, Balladores C, Back A, Oliva G. *Chlamydia trachomatis* infection in women. A need for universal screening in high-prevalence populations. *Am J Epidemiol* 1992; 135: 41-7.
- Alary M, Joly JR, Moutquin JM, Labrecque M. Strategy for screening pregnant women for chlamydial infection in a low-prevalence area. *Obstet Gynecol* 1993; 82: 399-404.
- Vuylsteke B, Laga M, Alary M, Gerniers MM, Lebughe JP, Nzila N, et al. Clinical algorithms for the screening of women for gonococcal and chlamydial infection: evaluation of pregnant women and prostitutes in Zaire. *Clin Infect Dis* 1993; 17: 82-8.
- Reimeijer CAM, Judson FN, van Hensbroek MB, Eheret JM, Douglas JN. Unsuspected *Chlamydia trachomatis* infection in heterosexual men attending a sexually transmitted diseases clinic: evaluation of risk factor and screening methods. *Sex Transm Dis* 1991; 18: 28-35.
- Berger RE, Alexander ER, Monda GD, Ansell J, McCormick G, Holmer KK. *Chlamydia trachomatis* as a cause of acute idiopathic epididymitis. *N Eng J Med* 1978; 298: 301-4.
- Milano F, Gorini G, Oliario P, Astori M, Furiosi G, Trimarchi F. Evaluation of diagnosis procedures in chlamydial eye infection. *Ophthalmologica* 1991; 203: 114-7.
- Janssen KT, Siemon P, Bialasiewicz AA. Ocular chlamydial infection in Munsterland. A clinical study of 409 patients. *Ophthalmology* 1994; 91: 671-5.
- Szymulska M, Zagorski Z. The role of *Chlamydia trachomatis* in the etiology of conjunctivitis. *Klin Oczna* 1995; 97: 64-5.
- Postema EJ, Reimeijer KL, Van der Meijden WJ. Epidemiology of genital chlamydial infections in patients with chlamydial conjunctivitis: a retrospective study. *Genitourin Med* 1996; 72: 203-5.