



# Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica

www.elsevier.es/eimc



Revisión

## Diagnóstico microbiológico de las infecciones por *Chlamydia* spp. y especies relacionadas

Mario Rodríguez-Domínguez<sup>a</sup>, Sara Sanbonmatsu<sup>b</sup>, Jesús Salinas<sup>c</sup>, Roberto Alonso<sup>d</sup>, José Gutiérrez<sup>b,e</sup> y Juan Carlos Galán<sup>a,f,\*</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología y CIBER en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Hospital Universitario Ramón y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, España

<sup>b</sup> Área de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>c</sup> Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Murcia, Campus Universitario de Espinardo, Murcia, España

<sup>d</sup> Servicio de Microbiología y Enfermedades Infecciosas, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

<sup>e</sup> Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España

<sup>f</sup> Unidad de Resistencia a Antibióticos y Virulencia Bacteriana (RYC-CSIC), Madrid, España

### INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

#### Historia del artículo:

Recibido el 25 de enero de 2013

Aceptado el 31 de enero de 2013

On-line el 22 de marzo de 2013

#### Palabras clave:

Diagnóstico de *Chlamydiae*

Tipificación de *Chlamydiae*

Genomas completos

### R E S U M E N

Hasta fechas muy recientes eran muy pocos los genomas de *Chlamydia trachomatis* disponibles, a pesar de su importancia en salud pública. Actualmente se están secuenciando 66 genomas completos de *C. trachomatis*. Esta revolución genómica está permitiendo comprender su biología, mejorar la sensibilidad y especificidad en el diagnóstico o desarrollar herramientas epidemiológicas no solo de *C. trachomatis* sino también de especies relacionadas, como *C. pneumoniae* o *C. psittaci*. El diagnóstico basado en cultivo celular, serología o microinmunofluorescencia está siendo progresivamente sustituido por técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, al superarse los inconvenientes de escaso rendimiento o reacciones cruzadas y mejorar la estandarización entre laboratorios. Por otra parte, el desarrollo de técnicas de tipificación (MLST y VNTR) aplicadas a *Chlamydiae* ha aumentado el conocimiento de la epidemiología local y global aportando información sobre cómo esas bacterias evolucionan, causan brotes o adquieren mecanismos de resistencia. Esta revisión se centra en los grandes avances alcanzados en el conocimiento de las diferentes especies de *Chlamydia*, en parte debido a la innovación tecnológica aplicada a la genómica como una aproximación para explicar la revolución que, tanto en el diagnóstico como en su epidemiología, se ha observado en este grupo de bacterias en los últimos años.

© 2013 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

### Microbiological diagnosis of infections due to *Chlamydia* spp. and related species

#### A B S T R A C T

Until recently the number of completed genomes belonging to *Chlamydia trachomatis* was very low, despite its importance in Public Health. Now, there are currently sixty-six completed genomes of *C. trachomatis* sequenced in different parts of the world. This genomic revolution has helped in understanding its biology, as well as improved the sensitivity and specificity in the diagnosis, and the development of epidemiological tools, not only for in *C. trachomatis*, but also for related species such as *C. pneumoniae* and *C. psittaci*. The diagnosis based on cell culture, serology and microimmunofluorescence is gradually being replaced by molecular techniques based on PCR or real-time PCR. This is because these molecular tests do not have cross-reactions problems and the procedures are easily standardised between laboratories. Moreover, molecular epidemiology tools described recently, such as Multi-Locus Sequence Typing (MLST) and Variable Number Tandem Repeat (VNTR), have increased our knowledge on local and global epidemiology. This article focuses on the impact of the genomics advances achieved over the last few years as applied to the diagnosis, epidemiology and biology of the family *Chlamydiaceae* family and related species.

© 2013 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

#### Keywords:

*Chlamydia* diagnosis

*Chlamydia* typing

Completed genome

\* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: jgalanm.hrc@salud.madrid.org, jgalanmontemayor@gmail.com (J.C. Galán).

## Introducción

Las especies patógenas para el hombre de la familia *Chlamydiaceae*, *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae* y *C. psittaci*, aunque presentan una pared celular típica de gramnegativos, pertenecen a una división bacteriana muy divergente del resto del árbol evolutivo de las eubacterias. Constituyen, junto con los micoplasmas, las especies bacterianas con los genomas más pequeños, entre 1,04 y 1,23 Mb (25% del genoma de *Escherichia coli*), posiblemente debido a que son bacterias intracelulares obligadas desde hace mucho tiempo, lo que les ha permitido perder genes considerados esenciales (como FtsZ) o ciertas rutas metabólicas (como la biosíntesis de aminoácidos o de la fermentación anaeróbica)<sup>1</sup>.

Pese a las grandes cifras mundiales de infecciones humanas por clamidias, las pruebas microbiológicas necesarias para la precisa detección e identificación de estas bacterias en muestras humanas han sido tradicionalmente difíciles, tediosas y requerían personal altamente preparado. Sin embargo, las alarmas de salud pública internacional ocurridas en 2003 como consecuencia de un brote de linfogranuloma venéreo (LGV) inicialmente descrito en Holanda<sup>2</sup> pero rápidamente extendido a otros países europeos, Estados Unidos y Australia<sup>3</sup>, o la identificación y rápida diseminación en Suecia de una nueva variante de *C. trachomatis* en 2006 que no era detectada por los sistemas comerciales más ampliamente empleados<sup>4</sup>, generaron la necesidad de disponer de sistemas de diagnóstico y genotipificación rápidos y precisos, ya que las dificultades para la detección en el laboratorio podrían estar ligadas a un retraso en el diagnóstico y, consecuentemente, a la diseminación de nuevas infecciones<sup>5</sup>.

La disponibilidad de técnicas de secuenciación masiva que permiten descifrar genomas bacterianos completos ha supuesto una verdadera revolución en la taxonomía bacteriana, especialmente entre las bacterias de difícil manejo en el laboratorio, como las clamidias<sup>6</sup>. Hoy en día disponemos de secuencias de genomas completos de *C. trachomatis*<sup>7</sup>, *C. pneumoniae*<sup>8</sup> o *C. psittaci*<sup>9</sup> y especies relacionadas<sup>10</sup>. Si bien es cierto que la existencia de especies relacionadas con *Chlamydia* es conocida desde hace tiempo<sup>11</sup>, los análisis bioinformáticos de secuencias completas de especies del orden *Chlamydiales* han permitido inferir una biodiversidad mayor de la esperada. Gracias a la enorme capacidad actual de secuenciación, en los últimos años este grupo de especies relacionadas con clamidias ha aumentado significativamente, identificándose hasta 7 familias pertenecientes al orden *Chlamydiales*: *Clavochlamydiaceae*, *Criblamydiaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Piscichlamydiaceae*, *Rhabdochlamydiaceae*, *Simkaniaceae* y *Waddliaceae*. Algunas de estas familias engloban especies patógenas para el hombre, como *Parachlamydia acanthamoebae*, *Simkania negevensis* o *Rhabdochlamydia* spp.<sup>12</sup>, y el número de nuevas especies descritas sigue creciendo. Los análisis bioinformáticos sorprendentemente también han servido para rebatir el paradigma de la escasa tasa de recombinación en este grupo de bacterias, sospechado por lo particular de su ciclo biológico, que sugería escasas oportunidades de intercambio genético<sup>13</sup>. La existencia de recombinación tiene su relevancia clínica en la descripción de la cepa hipervirulenta de LGV, L2c, relacionada con el brote de LGV<sup>14</sup>, resultado de la recombinación entre serovares L2b y D de *C. trachomatis*.

Los serovares de *C. trachomatis* están tradicionalmente asociados a la seroespecificidad de la principal proteína de membrana externa, MOMP. Sin embargo, hoy en día no existe relación entre la secuencia del gen *ompA* (que codifica para MOMP) y el tropismo celular o la virulencia<sup>15</sup>, por lo que la genotipificación basada en el gen *ompA* como biomarcador no es válida, aunque ha sido ampliamente usada. Varios marcadores genéticos (*pmpH*, *inc*, *tarP*, T3SS...) han sido identificados como biomarcadores útiles en el estudio de los mecanismos biológicos implicados en la infección y el tropismo<sup>16</sup>. Los intentos para caracterizar y establecer

relaciones entre los aislados de LGV en diferentes partes del mundo relanzó el desarrollo de herramientas de epidemiología molecular, ya descritas en otras especies bacterianas pero poco exploradas en *Chlamydia*. En 2007 se diseñaron las primeras propuestas de *multilocus sequence typing* (MLST) para la caracterización epidemiológica de especies de *Chlamydia*<sup>17</sup>, y un año más tarde se describió el sistema *variable number of tandem repeats* (VNTR). Posteriormente, en parte debido a la baja variabilidad observada y en parte a la accesibilidad a los sistemas de secuenciación masiva, se inició la secuenciación de genomas completos<sup>7</sup>.

Todos estos cambios son suficientes para realizar una actualización de esta familia bacteriana, donde *C. trachomatis* es responsable de más de 100 millones de infecciones de transmisión sexual y de 90 millones de casos de tracoma en el mundo<sup>18,19</sup>. Por su parte, *C. pneumoniae* podría ser responsable de un número importante de neumonías asociadas a la comunidad<sup>20</sup> y de otras patologías crónicas, como aterosclerosis, miocarditis o cáncer de pulmón. Finalmente, aunque la incidencia de las infecciones por *C. psittaci* en la población humana es muy escasa, probablemente infravalorada por la dificultad en el diagnóstico, brotes de psitacosis son descritos todos los años en Europa<sup>21</sup>.

## Estudios genómicos: implicaciones evolutivas y taxonómicas

Nuestra percepción de la diversidad de las clamidias cambió sustancialmente cuando en 1997 se describieron nuevas especies *Chlamydia-like*, llamadas clamidias ambientales<sup>22</sup>. El descubrimiento de especies de clamidias que no son patógenos primarios para el hombre abrió nuevas posibilidades para investigar la evolución y adaptación de este particular grupo de bacterias. De hecho, la diversidad ahora conocida es solamente la punta del iceberg, pues entre las 7 familias conocidas, algunas de ellas están constituidas por un solo representante<sup>23</sup>. Este orden *Chlamydiales* se separó hace ~ 2000 millones de años desde un ancestro común con las especies de vida libre *Verrucomicrobia* y *Lentisphaera*<sup>24</sup> y hace ~ 700 millones de años se diferenció la familia *Chlamydiaceae* de las otras familias del mismo orden<sup>25</sup>, que se comportan como simbioses de amebas de vida libre y con quienes comparte casi la mitad de su genoma (560 genes son comunes en todas las especies del orden). De hecho, especies de la familia *Chlamydiaceae* como *C. pneumoniae* también sobreviven y se multiplican dentro de amebas, sugiriendo que especies de *Acanthamoeba* han podido servir como el principal reservorio y vehículo de dispersión de las clamidias<sup>25</sup>.

La clasificación taxonómica de la familia *Chlamydiaceae* ha sido muy discutida en los últimos años. En 1999, estudios basados en el análisis de las subunidades 16S y 23S del ADNr establecieron los géneros *Chlamydia* (como *Chlamydia trachomatis*) y *Chlamydophila* (como *Chlamydophila pneumoniae* o *Chlamydophila psittaci*)<sup>26</sup>. Esta nueva nomenclatura no ha sido ampliamente aceptada, pues se considera que puede llevar a confusiones. El *International Committee on Systematics of Prokaryotes* ha recomendado la fusión de los 2 géneros en uno, *Chlamydia*<sup>27</sup>. La edición de 2011 del Manual Bergey se hace eco de esta recomendación<sup>1</sup>, pero el debate permanece abierto<sup>28</sup>.

El tamaño del genoma de las especies de *Chlamydia* (que oscila entre 1,042 Mb en *C. trachomatis* a 1,230 Mb en *C. pneumoniae*) es 2-3 veces más reducido que el de otras especies de familias pertenecientes al mismo orden (que oscila entre 2,116 Mb en *Waddlia chondrophila* y 3,072 Mb en *P. acanthamoebae*)<sup>10</sup>, sugiriendo que el proceso de adaptación desde formas de vida libre hacia patógenos humanos ha supuesto también una reducción genómica. Un buen ejemplo se obtiene de la comparación del genoma de *C. pneumoniae* aislada de koalas australianos con aislados de origen humano, que permite inferir que *C. pneumoniae* de origen humano

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3401264>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3401264>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)