

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/11983901>

# The presence of anti-*Chlamydia pneumoniae* antibodies in peripheral vascular and neurological disorders

Article in *Revista de Neurología* · March 2001

Source: PubMed

CITATIONS

6

READS

128

8 authors, including:



**José Gutiérrez-Fernández**

University of Granada

471 PUBLICATIONS 3,936 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Jose Patricio Linares-Palomino**

Hospital Universitario Virgen de las Nieves

91 PUBLICATIONS 720 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Miguel Guerrero Fernandez**

Hospital Regional Universitario de Málaga

22 PUBLICATIONS 60 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



**Cristina López Espada**

University of Granada

82 PUBLICATIONS 605 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

## Presencia de anticuerpos anti-*Chlamydia pneumoniae* en procesos vasculares periféricos y neurológicos

J. Gutiérrez-Fernández<sup>a</sup>, J. Linares-Palomino<sup>b</sup>, F. Fernández-Sánchez<sup>a</sup>, M. Guerrero-Fernández<sup>c</sup>,  
C. López-Espada<sup>b</sup>, E. Ros-Díez<sup>b</sup>, M. Rodríguez-Fernández<sup>a</sup>, M.<sup>a</sup>C. Maroto-Vela<sup>a</sup>

### THE PRESENCE OF ANTI-CHLAMYDIA PNEUMONIAE ANTIBODIES IN PERIPHERAL VASCULAR AND NEUROLOGICAL DISORDERS

**Summary.** Objectives. To make a retrospective analysis of the synthesis of antibodies to the MOMP and LPS antigens of *Chlamydia pneumoniae* in patients with occlusive disease of the peripheral arteries (ODPA) and multiple sclerosis (MS). Patients and methods. We studied 190 samples of plasma from patients included in the following groups: group 1: 66 samples from 66 patients with ODPA; group 2: 74 samples from 31 patients with MS (20 remittent-relapsing and 11 secondarily progressive), followed over time; and group 3: 50 samples from persons acting as controls. In all cases determinations were made using ELISA, of the IgG anti-MOMP and the IgG and IgA anti-LPS. Comparison of the continuous variables was made using the Mann-Whitney U Test. Discrete variables were analysed using the exact bilateral Fisher Test. The Wilcoxon Test over ranges was used to compare the evolution of antibodies in the patients with MS. Results. The percentage of positive results in groups 1 to 3 for anti-LPS IgG were: 24.6%, 18.9% and 20.8%, respectively, with no differences between patients and controls; nor were there any differences with IgA (29%, 29.7% and 25%, respectively). However differences were seen in the anti-MOMP IgG between patients and controls (group 1: 80.3%, group 2: 37.8% and group 3: 33.3%). In patients with MS the results of the evolution of the antibodies did not reflect a uniform tendency of the levels of the different antibodies. Conclusion. A higher level of IgG anti-MOMP was seen in ODPA and MS, although this did not occur with anti-LPS or IgA. [REV NEUROL 2001; 32:] [<http://www.revneurolog.com/3206/k06pag.pdf>]

**Key words.** Antibody. Arteriosclerosis. *Chlamydia pneumoniae*. ELISA. Multiple sclerosis.

### INTRODUCCIÓN

*Chlamydia pneumoniae* es un patógeno respiratorio humano que recientemente se ha relacionado con la génesis de procesos de distinta naturaleza. Diversos estudios han relacionado la infección por *C. pneumoniae* y la arteriosclerosis (AT) sintomática. Estos trabajos demostraron unos niveles de anticuerpos superiores a la población control en los enfermos con procesos isquémicos [1-12]. Además, algunos autores encontraron que la IgG se incrementaba, precediendo a la aparición de los síntomas asociados a la enfermedad o tras la realización de aterectomía [13]. No obstante, otros estudios no encuentran tal relación [14,15]. La forma de AT más analizada es la de localización coronaria; por otro lado, es menos estudiada la relación con la enfermedad oclusiva de las arterias periféricas (EOAP).

La esclerosis múltiple (EM) continúa siendo una enfermedad de etiología desconocida, con una elevada morbilidad a causa de la dificultad del tratamiento. Durante mucho tiempo se ha estudiado la posible participación de diversos agentes microbianos [16] como desencadenantes o coadyuvantes en la aparición de la enfermedad, pero no se ha llegado a una conclu-

sión definitiva, aunque sí más próxima a la exclusión de los mismos como factores importantes. Los dos últimos agentes que se han relacionado son el virus del herpes humano tipo 6 [17] y la *C. pneumoniae* [18-20].

Para analizar la relación entre *C. pneumoniae* y un proceso clínico se pueden emplear diferentes metodologías. El cultivo de la bacteria es difícil y de escasa rentabilidad. La prueba de la reacción en cadena de la polimerasa es sensible y específica, pero requiere experiencia y es compleja en su realización e interpretación. Por eso los estudios, al menos en su inicio, se basan en la investigación de los anticuerpos anti-*C. pneumoniae* [10,21-23].

Las evaluaciones sobre *C. pneumoniae* y la EOAP o la EM están en fase analítica, con aportaciones que los involucran o los desacreditan, según los autores. Para establecer esta relación se ha utilizado la reacción en cadena de la polimerasa como patrón oro (*gold standard*), pero no se puede olvidar que un resultado positivo con esta prueba podría lograr, simplemente, la presencia de ADN de un microorganismo que puede ser inviable o que se halla presente de manera transitoria. Ya que la EOAP y la EM son enfermedades con una prevalencia no desdeñable y tienen un carácter crónico, pensamos que la investigación de los anticuerpos frente a un microorganismo prevalente como la *C. pneumoniae* constituye una forma aproximada de conocer si ese agente participa en la enfermedad o, al menos, lo que está ocurriendo en ese parámetro biológico.

El objetivo de nuestro estudio fue analizar, retrospectivamente, la respuesta de anticuerpos frente a los antígenos MOMP y LPS de *C. pneumoniae*, empleando la prueba inmunoabsorbente ligada a enzima (ELISA, del inglés *Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay*) en pacientes con EOAP y EM. La posible existencia de diferencias positivas con la población control nos permite reforzar o excluir la hipótesis de la relación entre la infección por la bacteria y estos procesos no respiratorios.

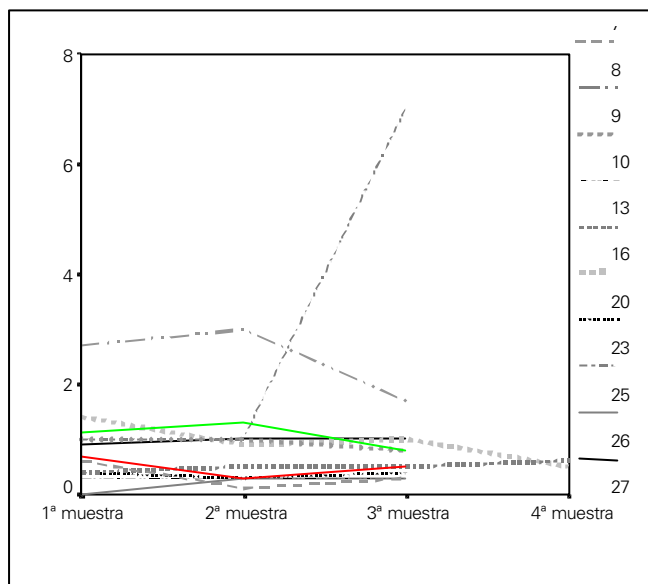
Recibido: 17.10.00. Aceptado tras revisión externa sin modificaciones: 07.12.00.

<sup>a</sup> Departamento de Microbiología, <sup>b</sup> Cirugía y <sup>c</sup> Medicina Interna. Hospital Universitario San Cecilio. Universidad de Granada. Granada, España.

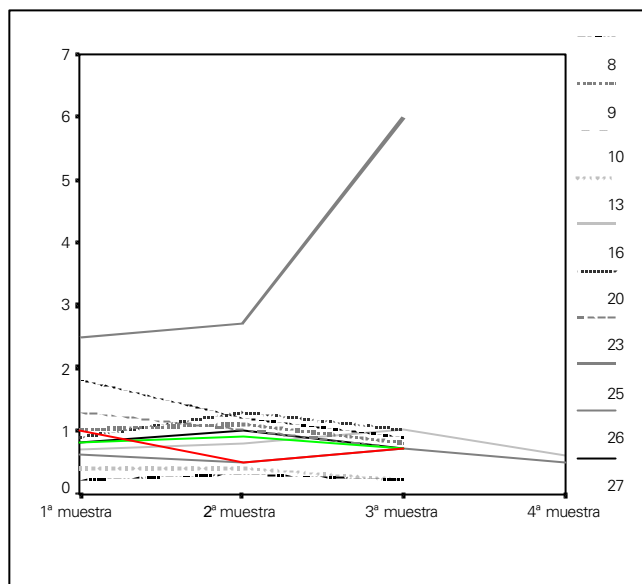
Correspondencia: Dr. José Gutiérrez. Departamento de Microbiología. Hospital Universitario San Cecilio. Avda. Dr. Oloriz, 12. E-18012 Granada. Fax: +34 9582 46119. E-mail: joseg.f@wanadoo.es

Agradecimientos. La técnica de laboratorio M.<sup>a</sup> de los Ángeles Castillo García colaboró en la realización técnica de este trabajo de investigación y la licenciada M.<sup>a</sup> José Soto Pino colaboró en el procedimiento de documentación bibliográfica de este manuscrito.

© 2001, REVISTA DE NEUROLOGÍA



**Figura 1.** Evolución de la IgG anti-LPS en los enfermos con esclerosis múltiple y tres o más muestras consecutivas.



**Figura 2.** Evolución de la IgA anti-LPS en pacientes con esclerosis múltiple y tres o más muestras consecutivas.

## PACIENTES Y MÉTODOS

### Muestras clínicas

Se estudiaron un total de 190 muestras de suero procedentes de enfermos estudiados en el Hospital Universitario San Cecilio de Granada, durante 1999. Se almacenaron a -20 °C hasta el momento del estudio y, una vez realizado éste, se procedió a su clasificación en tres grupos para el análisis ulterior de los resultados obtenidos:

- Grupo 1: se incluyeron 66 muestras de otros tantos enfermos con EOAP de miembros inferiores (17), carótida (22) y aneurisma aórtico infrarenal (27), estudiados en el Servicio de Cirugía Vasculard. La media de edad fue  $66 \pm 8$  años.
- Grupo 2: se incluyeron 74 muestras de 31 enfermos con EM (20 remitente-recidivante y 11 secundariamente progresiva). El número de muestras por enfermo varió entre una y cuatro, sobre la base de que, en algunos de ellos, se obtuvieron nuevas muestras cada tres meses, independientemente de la agudeza de los síntomas clínicos. Los resultados obtenidos se analizaron globalmente y en el formato de evolución del título de anticuerpos en el tiempo, cuando se obtuvieron más de dos muestras para un enfermo. La media de edad fue  $35 \pm 10$  años.
- Grupo 3: se incluyeron 50 muestras de sujetos sin enfermedad neurológica, inmunológica o AT (coronaria, cerebrovascular o periférica), excluida ésta mediante examen clínico, electrocardiograma basal y eco-Doppler carotídeo. La media de edad fue  $60 \pm 3$  años.

Todos los sujetos estudiados carecían de enfermedad respiratoria pulmonar en el momento de extraer la muestra de sangre. En todas las muestras se realizaron tres pruebas de ELISA: IgG anti-MOMP; IgG/IgA anti-LPS. Existió enmascaramiento en cuanto al procesamiento e interpretación de todas las determinaciones de laboratorio.

### ELISA IgG anti-MOMP (*C. pneumoniae* IgG, Vircell, España)

Se usó un ELISA comercial que emplea un complejo de membrana externa de *Chlamydia*. Para ello, la cepa de *C. pneumoniae* 2023 (ATCC 1356 VR) creció en células HEp-2 con 1 µl/ml de cicloheximida. El antígeno se obtuvo a partir de cuerpos elementales purificados por tratamiento con fosfato sódico 10 mM con sarcosil al 2%, EDTA 1,5 mM y NaCl 0,14 mM [24]. Placas de 96 pocillos (Nunc Maxisorb, Dinamarca) se recubrieron con el antígeno anterior (0,2 µg/pocillo) en PBS 8,5 mM. Se dispuso en cada pocillo 100 µl del suero diluido a 1/20 y se incubó a 37 °C durante 45 minutos. En un segundo paso, se añadieron 100 µl de una anti-IgG humana conjugada con peroxidasa y se incubó a 37 °C durante 30 minutos. Como sustrato se usó 100 µl de tetrametil-bencidina y la reacción se detuvo tras

20 minutos con 50 µl de ácido sulfúrico 0,5 M. Las absorbancias se midieron a 450/620 nm.

### ELISA IgG/IgA LPS (Chlamydien-rELISA, Medac, Alemania)

Como antígeno se empleó un fragmento específico del LPS de la membrana externa, químicamente definido, fijado a pocillos de una placa de microtitulación (Nunc Maxisorb, Dinamarca). Los sueros se diluyeron al 1/100 y se añadieron 50 µl por pocillo (por duplicado). Tras 60 minutos de incubación a 37 °C, se añadieron 50 µl de IgG de cabra, anti-IgG o anti-IgA humana según fuera el ensayo, conjugada con peroxidasa, y se incubó durante 60 minutos. A continuación, se añadió a cada pocillo 50 µl de ABTS/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y se dejó incubar 30 minutos. Finalmente, se detuvo la reacción con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M y se leyó mediante espectrofotómetro a una longitud de onda de 450/620 nm.

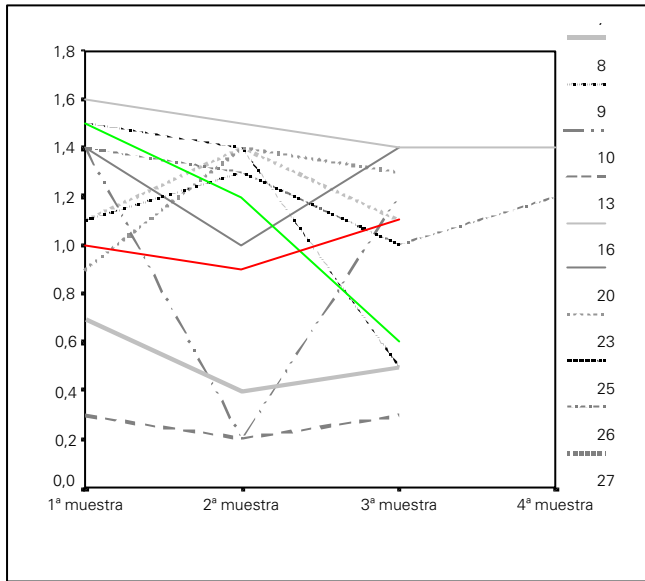
Todos los ensayos incluyeron controles positivos, positivos límite (por duplicado) y negativos. Los resultados de las tres pruebas se expresaron como índices, dividiendo la absorbancia de la muestra por la del positivo límite. Índices <0,9 se consideraron negativos, de 0,9-1,1 como dudosos y >1,1 positivos. Los resultados dudosos se repitieron y el nuevo resultado se consideró como definitivo en caso de ser positivo o negativo. Si se obtenía de nuevo dudoso, entonces se excluía. Para mayor precisión de los resultados obtenidos, se automatizó el proceso con la ayuda de un diluidor de muestras de suero (Tecan Megaflex, Austria) y un procesador de placas de ELISA (DadeBehring, BEP III, Alemania).

### Análisis estadístico

El tratamiento estadístico se llevó a cabo mediante el programa SPSS (SPSS, versión 9.0.1, 1999). La comparación de las variables continuas entre enfermos y controles se realizó mediante la prueba U de Mann-Whitney. Las variables discretas se analizaron gracias a la prueba de Fischer bilateral exacta. Para comparar la evolución del título de anticuerpos en los enfermos con EM se utilizó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon.

## RESULTADOS

Las muestras con un resultado inicialmente dudoso continuaron siéndolo cuando se ensayaron nuevamente. Los resultados obtenidos en los enfermos (grupos 1 y 2) y controles (grupo 3) se reflejan en la tabla. Los porcentajes de positividad en los grupos 1-3 para la IgG anti-LPS fueron: 24,6%, 18,9% y 20,8%, respectivamente, sin que existieran diferencias entre enfermos y controles. Tampoco hubo diferencias para la IgA (29%, 29,7% y 25%, respectivamente). Sí se hallaron diferencias en la IgG anti-MOMP entre enfermos y controles (grupo 1: 80,3%; grupo 2: 37,8% y grupo 3: 33,3%). En los



**Figura 3.** Evolución de la IgG anti-MOMP en pacientes con tres o más muestras consecutivas.

**Tabla.** Resultados obtenidos mediante ELISA de *C. pneumoniae* en los sujetos con enfermedad vascular periférica, esclerosis múltiple y grupo control.

		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3
IgG anti-LPS	Positivo (%)	24,6	18,9	20,8
	Dudoso (%)	1,6	14,9	4,2
	Media ± DE	0,6 ± 1,1	1,2 ± 1,7	1,2 ± 1,6
IgA anti-LPS	Positivo (%)	29	29,7	25
	Dudoso (%)	1,5	23	20,8
	Media ± DE	0,9 ± 1,5	1,3 ± 1,2	1 ± 0,6
IgG anti-MOMP	Positivo (%)	80,3 <sup>a</sup>	37,8 <sup>c</sup>	33,3
	Dudoso (%)	3	33,8	20,8
	Media ± DE	2,2 ± 1,9 <sup>b</sup>	1,1 ± 0,4 <sup>d</sup>	0,8 ± 0,3

Grupo 1: casos con enfermedad oclusiva de las arterias periféricas; Grupo 2: pacientes con esclerosis múltiple; Grupo 3: controles. <sup>a</sup>p < 0,001, test de Fisher bilateral exacto. <sup>b</sup>p < 0,005, prueba U de Mann-Whitney. <sup>c</sup>p = 0,003, test de Fisher bilateral exacto. <sup>d</sup>p = 0,01, prueba U de Mann-Whitney.

casos con EM, los resultados de la evolución de los anticuerpos se reflejan en las figuras 1-3. No se observó una evolución uniforme de las tasas de los diferentes anticuerpos (sin significación estadística en el test de Wilcoxon) en los pacientes con EM a lo largo del tiempo.

**DISCUSIÓN**

Este trabajo se diseñó como un estudio de la infección crónica por *C. pneumoniae* en la EOAP y EM. Nuestros hallazgos apoyan la existencia de la misma, ya que se encontró una tasa de anticuerpos en los enfermos significativamente superior a la población control. No obstante, es necesario proceder a evaluar varios parámetros antes de extraer conclusiones significativas.

La relación entre EOAP y EM con la infección por *C. pneu-*

*moniae*, a través de los anticuerpos, ya se ha descrito previamente. Así, se ha encontrado relación significativa entre seroprevalencia elevada frente a *C. pneumoniae* en la enfermedad cerebrovascular [25-27] y la EM; para esta última, en un sólo estudio sobre líquido cefalorraquídeo (LCR) [20]. Nosotros también encontramos mayor seroprevalencia en estos grupos de enfermos. No obstante, esta interpretación podría estar sesgada por algún factor, ya que: 1. Sólo se ha encontrado para la IgG anti-MOMP; hasta la fecha, no se conocen completamente los epítomos de *C. pneumoniae* y del antígeno a usar en los estudios de campo, entonces, ¿por qué esta mayor prevalencia no se refleja también en los anticuerpos anti-LPS? La IgG anti-MOMP podría ser un mejor marcador de un estado de infección crónica, con baja tasa de replicación y de expresión del LPS. 2. La mayor seroprevalencia de IgG anti-MOMP podría deberse a la asociación frecuente entre enfermedad arterial y respiratoria [13]; la mayoría de estos enfermos sufren reinfecciones o reactivaciones de infecciones previas con escasos síntomas, acompañados de elevación de IgG y ausencia de IgM. Nosotros sólo hemos excluido la existencia de enfermedad respiratoria pulmonar, pero podrían existir en nuestros enfermos infecciones menos graves que pasan desapercibidas. 3. Se ha descrito la infección con ausencia de anticuerpos [28,29]. 4. Existen epítomos de *C. pneumoniae* comunes con otras especies de *Chlamydias*, bacilos gramnegativos y proteínas humanas de choque térmico [30], por lo que podrían detectarse fenómenos biológicos diferentes a la propia infección. 5. La mayor parte de los estudios se han efectuado mediante la prueba de microinmunofluorescencia (MIF), y las pruebas de ELISA podrían ser inadecuadas; no obstante, nosotros realizamos evaluaciones previas [31,32], en las que demostramos la buena relación entre la MIF y el ELISA, así como las ventajas de éstas por la objetividad de los resultados y la posibilidad de automatización. En este estudio se automatizó el ELISA usando un dispositivo para diluir las muestras y un procesador de placas (BEP III). Con este método se obtuvo una buena reproducibilidad en los resultados. De hecho, los resultados de las muestras dudosas no se modificaron cuando se retestaron.

La prueba de ELISA que detecta anticuerpos frente a MOMP es de reciente descripción y se utiliza en los laboratorios de microbiología clínica [33-36]. Las principales discrepancias con la MIF se describen en pacientes con infección por *C. trachomatis* [33] o porque detecta anticuerpos basándose en su mayor sensibilidad o por reacciones cruzadas más importantes [24]. Sin embargo, estas situaciones no parecen ocurrir en nuestros ensayos. En las MOMP existen antígenos de género, tales como la proteína de 60 kDa, que son fácilmente detectados en el *immunoblot* [37,38]. Esta proteína no es muy abundante en los cuerpos elementales, factor principal de nuestro equipo de ELISA. Por el contrario, la proteína de 98 kDa es un constituyente fundamental de las MOMP de los cuerpos elementales y muestra una importante reactividad especie-específica. En resumen, los antígenos de los cuerpos elementales usados en nuestro equipo son fundamentalmente especie-específicos y es difícil que se detecte un fenómeno diferente a la infección por *C. pneumoniae*.

En el género *Chlamydia* los epítomos mayores de género se localizan en el LPS. Éste puede producir reacciones cruzadas entre *C. pneumoniae* y *C. trachomatis*, así como de éstas con enterobacterias [39]. Según diferentes autores, podría ser que estas reacciones cruzadas fueran la causa de que la AT se asocie, independientemente de la localización o gravedad, a la elevación de IgG o IgA anti-LPS [40,41] e inmunocomplejos circulantes con LPS [42,43], que podrían preceder o no a la enfermedad en meses

[40,44]. Para reducir la reactividad cruzada, cuando se elabora la prueba de ELISA, se utiliza un tratamiento del antígeno con detergentes quelantes. Así, Ladany et al [45] utilizan desoxicolato sódico y Ossewaarde et al [46], la oxidación con periodato sódico y tritón X 100; pero no tienen por qué ser, desde el punto de vista técnico, totalmente eficaces. El ELISA recombinante de Medac usado en este trabajo es el único test disponible comercialmente basado en la utilización de un fragmento del LPS específico de género y que, según el fabricante, es químicamente definido y no ha sido encontrado en enterobacterias. Sin embargo, nosotros no hallamos asociación entre la IgG o IgA anti-LPS y los procesos estudiados, lo que pone en duda las afirmaciones del fabricante y discrepa con los otros investigadores. No obstante, más recientemente, existen aportaciones que están en la línea de nuestros resultados, ya que dudan del valor de los anticuerpos anti-LPS para detectar la infección [47,48].

Finalmente hay señalar que, a pesar de la menor edad de los enfermos con EM respecto del grupo control, se encontró una

diferencia significativa de la IgG anti-MOMP. Ello no excluye mayores diferencias si se hubiera estudiado una población de edad comparable, ya que la seroprevalencia, en general, se incrementa con la edad. Nuestra población de EM, sobre la base de su menor edad, posiblemente tiene reducido el riesgo de AT subyacente, la cual podría sesgar los resultados obtenidos para otras poblaciones. Cuando se analizaron los anticuerpos detectados a lo largo de la enfermedad, no se obtuvo un comportamiento homogéneo que hable a favor de incrementos con la evolución de la dolencia. Este dato puede ser compatible con un estado de infección crónica por la bacteria, en el que la exacerbación clínica no se relaciona con la tasa de IgG anti-MOMP. Sin embargo, no se excluye que otros parámetros no estudiados por nosotros, como la leucocadenemia de *C. pneumoniae* o la IgA anti-MOMP, sí se puedan relacionar con la evolución de la enfermedad.

En conclusión, se encontró una mayor tasa de IgG anti-MOMP en la EOAP y en la EM; no obstante, ello no ocurrió para la IgG e IgA anti-LPS.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Aceti A, Mazzacurati G, Amendola MA, Pennica A, Zechini B, Trapolini L. Relation of C-reactive protein to cardiovascular risk factors. *H. pylori* and *C. pneumoniae* infections may account for most acute coronary syndromes. *Br Med J* 1996; 313: 428-9.
- Danesh J, Collins R, Peto R. Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet* 1997; 350: 430-6.
- Fagerberg B, Gnarpe J, Gnarpe H, Agewall S, Wikstrand J. *C. pneumoniae* but not cytomegalovirus antibodies are associated with future risk of stroke and cardiovascular disease: a prospective study in middle-aged to elderly men with treated hypertension. *Stroke* 1999; 30: 299-305.
- Gaydos CHA. *C. pneumoniae*: a review and evidence for a role in coronary artery disease. *Clin Microbiol New* 1995; 17: 49-54.
- Lindholt JS, Vammen S, Henneberg EW, Fasting H. Vascular surgery society of Great Britain and Ireland: immunoglobulin A antibodies against *C. pneumoniae* are associated with expansion of small abdominal aortic aneurysms and declining ankle blood pressure. *Br J Surg* 1999; 86: 698.
- Lindholt JS, Vammen S, Lind Y, Fasting H, Henneberg EW. The progression of lower limb atherosclerosis is associated with IgA antibodies against *C. pneumoniae*. *Eur J Vas Endovasc Surg* 1999; 18: 527-9.
- Mazzoli S, Tofani N, Fantini A, Semplici F, Bandini F, Salvi A, et al. *C. pneumoniae* antibody response in patients with acute myocardial infarction and their follow-up. *Am Heart J* 1998; 135: 15-20.
- Ossewaarde JM, Feskens EJ, De Vries A, Vallinga CE, Kromhout D. *C. pneumoniae* is a risk factor for coronary heart disease in symptom-free elderly men, but *Helicobacter pylori* and cytomegalovirus are not. *Epidemiol Infect* 1998; 120: 93-9.
- Puolakkainen M, Kuo C-C, Shor A, Wang SP, Grayston JT, Campbell LA. Serological response to *C. pneumoniae* in adults with coronary arterial fatty streaks and fibrolipid plaques. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 2212-4.
- Saikku P, Mattila K, Nieminen RS, Makela PH, Huttunen JK, Valtonen V. Serological evidence of an association of a novel *Chlamydia*, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. *Lancet* 1988; 2: 983-6.
- Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmäki E, Ekman MR, Manninen V. Chronic *C. pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med* 1992; 116: 273-8.
- Wong YK, Gallagher PJ, Ward ME. *C. pneumoniae* and atherosclerosis. *Heart* 1999; 81: 232-8.
- Tiran A, Tio RA, Ossewaarde JM, Tiran B, Den Heijer P, Hauw-The T, et al. Coronary angioplasty induces rise in *C. pneumoniae*-specific antibodies. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1013-7.
- Coles KA, Plant AJ, Riley TV, Smith DW, McQuillan BM, Thompson PL. Lack of association between seropositivity to *C. pneumoniae* and carotid atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1999; 84: 825-8.
- Markus HS, Stzer M, Carrington D, Mendall MA, Steinmetz H. *C. pneumoniae* infection and early asymptomatic carotid atherosclerosis. *Circulation* 1999; 100: 832-7.
- Monteyne P, Bureau JF, Brahic M. Viruses and multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 1998; 11: 287-91.
- Ablashi DV, Lapps W, Kaplan M, Whitman JE, Richert JR, Pearson GR. Human herpesvirus-6 (HHV-6) infection in multiple sclerosis: a preliminary report. *Mult Scler* 1998; 4: 490-6.
- Boman J, Roblin PM, Sundstrom P, Sandstrom M, Hammerschlag MR. Failure to detect *C. pneumoniae* in the central nervous system of patients with MS. *Neurology* 2000; 54: 265.
- Layh-Schmitt G, Bendl C, Hiltl U, Dong-Si T, Juttler E, Schnitzler P, et al. Evidence for infection with *C. pneumoniae* in a subgroup of patients with multiple sclerosis. *Ann Neurol* 2000; 47: 652-5.
- Sriram S, Stratton CW, Yao S, Tharp A, Ding L, Bannan JD, et al. *C. pneumoniae* infection of the central nervous system in multiple sclerosis. *Ann Neurol* 1999; 46: 6-14.
- Kuo CC, Jackson LA, Campbell LA, Grayston JT. *C. pneumoniae*. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 451-61.
- Barnes RC. Laboratory diagnosis of human chlamydial infections. *Clin Microbiol Rev* 1989; 2: 119-36.
- Grayston JT, Golubjatnikov R, Hagiwara T. Serologic tests for *C. pneumoniae*. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 12: 790-1.
- Caldwell HD, Kromhout J, Schachter J. Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. *Infect Immun* 1981; 31: 1161-76.
- Melnick SL, Shahar E, Folsom AR, Grayston JT, Sorlie PD, Wang SP, et al. Past infection by *C. pneumoniae* strain TWAR and asymptomatic carotid atherosclerosis. Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Am J Med* 1993; 95: 499-504.
- Wimmer ML, Sandmann-Strupp R, Saikku P, Haberl RL. Association of chlamydial infection with cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27: 2207-10.
- Cook PJ, Honeybourne D, Lip GY, Beevers DG, Wise R, Davies P. *C. pneumoniae* antibody titers are significantly associated with acute stroke and transient cerebral ischemia: The West Birmingham Stroke Project. *Stroke* 1998; 29: 404-10.
- Block S, Hedrick J, Hammerschlag MR, Cassell MH, Craft JC. *Mycoplasma pneumoniae* and *C. pneumoniae* in pediatric community-acquired pneumonia: comparative efficacy and safety of clarithromycin vs erythromycin ethylsuccinate. *Pediatr Infect Dis J* 1995; 14: 471-7.
- Emre U, Roblin PM, Gelling M, Dumornay W, Rao M, Hammerschlag MR. The association of *Chlamydia pneumoniae* and reactive airway disease in children. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1994; 148: 727-32.
- Maurin M, Eb F, Etienne J, Raoult D. Serological cross-reaction between *Bartonella* and *Chlamydia* species implications for diagnosis. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 2283-7.
- Fernández F, Gutiérrez J, Parejo MI, Vergara MJ, Rodríguez MJ, Suárez S, et al. Rentabilidad diagnóstica de un ELISA comercial para la detección de anticuerpos *C. pneumoniae*. [Comunicación]. IX Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Santiago de Compostela, 2000. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2000; 18 (Suppl 1): 53.
- Gutiérrez J, Linares J, Parejo MI, Maroto MC. Validación de la utilización de una prueba de ELISA en la detección de anticuerpos frente a *C. pneumoniae*. *Rev Invest Clin* 2000; 52: 323-4.
- Biendo M, Orfila J. Serodiagnosis of *Chlamydia trachomatis* and *C. pneumoniae*. Evaluation comparing two methods: microimmunofluo-

- rescence and ELISA. A study of 216 Congolense sera. Bull Soc Pathol Exot 1994; 87: 81-4.
34. Kishimoto T, Kubota Y, Matsushima T. Assay of specific anti-*C. pneumoniae* antibodies by ELISA method. II. Studies on clinical usefulness and serological diagnostic standards. Kansenshogaku Zasshi 1996; 70: 830-9.
  35. Numazaki K, Ikebe T, Chiba S. Detection of serum antibodies against *C. pneumoniae* by ELISA. FEMS Immunol Med Microbiol 1996; 14: 179-83.
  36. Kishimoto T, Kubota Y, Matsushima T. Assay of specific anti-*C. pneumoniae* antibodies by ELISA method. I. Evaluation of ELISA kit using outer membrane complex. Kansenshogaku Zasshi 1996; 70: 821-9.
  37. Freidank HM, Her AS, Jacobs E. Identification of *C. pneumoniae* specific protein antigens in immunoblots. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1993; 12: 947-51.
  38. Gonen R, Shemer-Avni Y, Csango PA, Sarov B, Friedman MG. Serum reactivity to *Chlamydia trachomatis* and *C. pneumoniae* antigens in patients with documented infection and in healthy children by micro-immunofluorescence and immunoblotting techniques. APMIS 1993; 101: 719-26.
  39. Brade H, Brabetz W, Brade L. Chlamydial lipopolysaccharide. J Endotoxin Res 1997; 4: 67-84.
  40. Korner I, Blatz R, Wittig I, Pfeiffer D, Ruhlmann C. Serological evidence of *C. pneumoniae* lipopolysaccharide antibodies in atherosclerosis of various vascular regions. Vasa 1999; 28: 259-63.
  41. Shimada JK, Mokuno H, Watanabe Y, Sawano M, Kurata T, Nakamura T, et al. Association between chlamydial infection and coronary artery disease. J Cardiol 1999; 34: 259-65.
  42. Brade L, Holst O, Kosma P, Zhang YX, Paulsen H, Krause R, et al. Characterization of murine monoclonal and murine, rabbit, and human polyclonal antibodies against chlamydial lipopolysaccharide. Infect Immun 1990; 58: 205-13.
  43. Linnanmäki E, Leinonen M, Mattila K, Nieminen MS, Valtonen V, Saikku P. *C. pneumoniae*-specific circulating immune complexes in patients with chronic coronary heart disease. Circulation 1993; 87: 1130-4.
  44. Saikku P. *C. pneumoniae* infection as a risk factor in acute myocardial infarction. Eur Heart J 1993; 14 (Suppl K): 62-5.
  45. Ladany S, Black CM, Farshy CE, Ossewaarde JM, Barnes RC. Enzyme immunoassay to determine exposure to *C. pneumoniae* (strain TWAR). J Clin Microbiol 1989; 27: 2778-83.
  46. Ossewaarde JM, Vries A, Hoeck JAR, Loon AM. Enzyme immunoassay with enhanced specificity for detection of antibodies to *Chlamydia trachomatis*. J Clin Microbiol 1994; 6: 1419-26.
  47. Verkooyen RP, Willemse D, Hiep-van Casteren M. Evaluation of PCR, culture, and serology for diagnosis of *C. pneumoniae* respiratory infections. J Clin Microbiol 1998; 36: 2301-7.
  48. Kutlin A, Tsumura N, Emre U, Roblin PM, Hammerschlag MR. Evaluation of *Chlamydia* immunoglobulin M (IgM), IgG, and IgA rELISAs Medac for diagnosis of *C. pneumoniae* infection. Clin Diagn Lab Immunol 1997; 4: 213-6.

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-CHLAMYDIA PNEUMONIAE EN PROCESOS VASCULARES PERIFÉRICOS Y NEUROLÓGICOS**

**Resumen.** Objetivos. Analizar, retrospectivamente, la síntesis de anticuerpos frente a los antígenos MOMP y LPS de *Chlamydia pneumoniae* en pacientes con enfermedad oclusiva de las arterias periféricas (EOAP) y esclerosis múltiple (EM). Pacientes y métodos. Se estudiaron 190 muestras de suero procedentes de enfermos que se incluyeron en los siguientes grupos: grupo 1: 66 muestras de otros tantos enfermos con EOAP; grupo 2: 74 muestras de 31 pacientes con EM (20 remitente-recidivante y 11 secundariamente progresiva) seguidos en el tiempo, y grupo 3: 50 muestras de sujetos controles. En todas se determinaron, mediante ELISA, la IgG anti-MOMP y la IgG e IgA anti-LPS. La comparación de las variables continuas se realizó con la prueba U de Mann-Whitney. Las variables discretas se analizaron con la prueba de Fischer bilateral exacta. Para comparar la evolución de los anticuerpos en los enfermos con EM se utilizó la prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Resultados. Los porcentajes de positividad, en los grupos 1 a 3, para la IgG anti-LPS fueron: 24,6%, 18,9% y 20,8%, respectivamente, sin que existieran diferencias entre enfermos y controles. Tampoco hubo diferencias para la IgA (29%, 29,7% y 25%, respectivamente). Sí se hallaron diferencias en la IgG anti-MOMP entre enfermos y controles (grupo 1: 80,3%, grupo 2: 37,8% y grupo 3: 33,3%). En los enfermos con EM, los resultados de la evolución de los anticuerpos no reflejaron una tendencia uniforme de las tasas de los diferentes anticuerpos. Conclusión. Se encontró una mayor tasa de IgG anti-MOMP en la EOAP y la EM; sin embargo, esto no ocurrió para la IgG e IgA anti-LPS. [REV NEUROL 2001; 32:] [<http://www.revneurolog.com/3206/k06pág.pdf>]

**Palabras clave.** Anticuerpo. Arteriosclerosis. *Chlamydia pneumoniae*. ELISA. Esclerosis múltiple.

**PRESENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-CHLAMYDIA PNEUMONIAE EN PROCESOS VASCULARES PERIFÉRICOS Y NEUROLÓGICOS**

**Resumo.** [REV NEUROL 2001; 32:] [<http://www.revneurolog.com/3206/k06pág.pdf>]

**Palavras chave.**