



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**ASOCIACIÓN DE LOS ALELOS HLA
DRB1-DQB1 CON LA INFECCIÓN,
PERSISTENCIA, DEPURACIÓN Y
REINFECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis***

Leidy Adriana Pedraza García

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Biotecnología
Posgrado Interfacultades en Microbiología
Bogotá D.C., Colombia
2022

ASOCIACIÓN DE LOS ALELOS HLA *DRB1-DQB1* CON LA INFECCIÓN, PERSISTENCIA, DEPURACIÓN Y REINFECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis*

Leidy Adriana Pedraza García

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Ciencias-Microbiología

Directora: Sandra Milena Camargo Pinzón, B.Sc, M.Sc, Dr.Sc.
Coordinadora Proyecto VPH
Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC)

Codirector: Manuel Alfonso Patarroyo Gutiérrez, M.D., Dr.Sc
Profesor Asociado
Departamento de Microbiología
Facultad de Medicina
Universidad Nacional de Colombia

Línea de Investigación: Epidemiología Molecular
Grupo de Investigación: Biología Molecular e Inmunología-
Fundación Instituto de Inmunología de Colombia

Universidad Nacional de Colombia
Instituto de Biotecnología
Posgrado Interfacultades en Microbiología
Bogotá D.C., Colombia
2022

A mi familia, pilar y eje central de mi vida.

Mis padres por su constante apoyo e incondicionalidad.

Mis hermanos por su compañía y proporcionarme la mejor alegría, ser tía.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Leidy Pedraza

Fecha 05/09/2022

AGRADECIMIENTOS

A mis padres y hermanos por apoyarme en mis sueños.

A mi directora, la Doctora Milena Camargo, por brindarme la valiosa oportunidad de trabajar a su lado.

A Darwin Andrés Moreno Pérez por su colaboración en el análisis y predicción de epítopes.

A mi amiga y colega de maestría Lauren Hernández por su apoyo y compañía.

Agradezco a la Universidad Nacional de Colombia y al Instituto de Biotecnología por brindarme la oportunidad de desarrollar mis estudios de posgrado y así complementar mi formación académica, profesional y personal.

Mis más sinceros agradecimientos a la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC) y a mi codirector, Profesor Manuel Alfonso Patarroyo, por permitirme realizar mi proyecto de grado bajo la dirección de excelentes profesionales.

ASSOCIATION OF HLA DRB1-DQB1 ALLELES WITH INFECTION, PERSISTENCE, DEPURATION AND REINFECTION OF *Chlamydia trachomatis*.

ABSTRACT

HLA class II (HLA-II) genes' polymorphism influences the immune response to *Chlamydia trachomatis* (*Ct*), it is considered a sexually transmitted infection. However, associations between HLA-II alleles and *Ct*-infection have been little explored in humans; this study was thus aimed at determining HLA-*DRB1-DQB1* alleles/haplotypes' effect on *Ct*-infection outcome in a cohort of Colombian women. Cervical sample DNA was used as template for detecting *Ct* by PCR and typing HLA-*DRB1-DQB1* alleles/haplotypes by Illumina MiSeq sequencing. Survival models were adjusted for identifying the alleles/haplotypes' effect on *Ct*-outcome; bioinformatics tools were used for predicting secreted bacterial protein T- and B-cell epitopes. Sixteen HLA-*DRB1* alleles having a significant effect on *Ct*-outcome were identified in the 262 women analysed. *DRB1**08:02:01G and *DRB1**12:01:01G were related to infection-promoting events. Only the *DQB1**05:03:01G allele related to clearance/persistence events was found for HLA-*DQB1*. HLA-*DRB1* allele homozygous women were associated with events having a lower probability of clearance and/or early occurrence of persistence. Twentyseven peptides predicted in silico were associated with protective immunity against *Ct*; outer membrane and polymorphic membrane protein-derived peptides had regions having dual potential for being T- or B-cell epitopes. This article describes HLA-*DRB1-DQB1* alleles/haplotypes related to *Ct*-infection resolution and the peptides predicted in silico which might probably be involved in host immune response. The data provides base information for developing future studies leading to the development of effective prevention measures against *Ct*-infection.

Keywords: Chlamydia trachomatis, sexually transmitted infections, HLA DRB1-DQB1, next-generation sequencing, epitope prediction.

ASOCIACIÓN DE LOS ALELOS HLA *DRB1-DQB1* CON LA INFECCIÓN, PERSISTENCIA, DEPURACIÓN Y REINFECCIÓN DE *Chlamydia trachomatis*

RESUMEN

Las infecciones por *Chlamydia trachomatis* (Ct) se encuentran dentro de las más comunes transmitidas sexualmente y de mayor impacto en la salud pública; la tasa de infección bacteriana descrita para este microorganismo es variable según según la región geográfica y la población de estudio. En los últimos años se han desarrollado estudios que permiten ampliar la información sobre efectos de los alelos HLA en el curso clínico de las infecciones por Ct; algunos de ellos han permitido establecer la relación directa entre la enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) con el HLA-A31 y la presencia de Ct. A su vez, se ha encontrado que alelos como *DQA1*0401* y *DQB1*0402* presentan una asociación significativa y al mismo tiempo una alta prevalencia en infecciones por Ct. En algunas poblaciones de mujeres se encontró la presencia de alelos *DRB1* y *DQB1* y una relación directa con la presencia de Ct y la infertilidad tubárica.

Las infecciones causadas por Ct y su interacción con el sistema inmune aún son tema de estudio, uno de los métodos que permite el análisis esta interacción son los modelos murinos. Algunos estudios en estos modelos han permitido demostrar que los linfocitos T CD8+ son indispensables en la resolución de las infecciones por Ct; no obstante, los linfocitos T CD4+ y los alelos HLA clase II han sido asociados con la respuesta inmune frente al patógeno. Diversas hipótesis han comprobado que las células epiteliales infectadas pueden presentar conjuntos alélicos del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) clase II superpuestos, promoviendo así la inmunidad protectora hacia Ct.

Es así como conocer los genes de los antígenos leucocitarios humanos (HLA) que se relacionan con patologías derivadas de las infecciones por Ct, permite evaluar la respuesta inmune de los hospederos. Algunos análisis realizados en poblaciones

de adolescentes mostraron que existen variantes alélicas que se relacionan con la presencia de Ct; sin embargo, las asociaciones entre los alelos HLA-II y las infecciones por Ct han sido pobremente exploradas. En este contexto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los alelos y haplotipos HLA *DRB1-DQB1* sobre el resultado de la infección, persistencia, depuración y reinfección por Ct en una cohorte de mujeres colombianas.

Las muestras de este estudio corresponden a una cohorte bidireccional (prospectiva y retrospectiva); para el análisis prospectivo, se contó con muestras cervicales recolectadas entre los años 2007 y 2010 en centros hospitalarios de tres ciudades colombianas: Hospital San Juan Bautista en la ciudad de Chaparral en el departamento del Tolima; el Nuevo Hospital San Rafael en Girardot en Cundinamarca y el Hospital de Engativá Nivel II, en Bogotá, capital de Colombia; el objetivo de ese estudio fue determinar la historia natural de la infección por el virus de papiloma humano (VPH).

Para desarrollar el presente estudio, se establecieron como criterios de inclusión la disponibilidad de la muestra cervical para el análisis de HLA- *DRB1* y *DQB1*, mujeres que contaran con al menos cuatro seguimientos (visitas) y una periodicidad entre las visitas de 6 meses (± 3 meses), con el fin de determinar los efectos de los alelos y haplotipos HLA relacionados con los distintos eventos promovidos por Ct.

Las muestras que cumplieron con los criterios de inclusión fueron sometidas a detección de Ct, ésta se llevó a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con sets de cebadores dirigidos hacia el ORF2 del plásmido críptico de Ct, amplificando los cebadores KL5/KL6 un fragmento de 350 pb y los cebadores KL1/KL2 un fragmento de 241 pb. La tipificación de los alelos HLA se realizó por NGS (de la sigla en inglés, Next Generation Sequencing) a partir de los exones 2 y 3 de los *loci DRB1-DQB1* (resolución 3x) a través de la plataforma Illumina MiSeq. Como análisis adicional, a través del uso de herramientas inmunoinformáticas, se predijeron péptidos de proteínas derivadas de las serovariantes de Ct,

seleccionadas para la evaluación de péptidos con alta actividad de unión a los alelos HLA-*DRB1* y *DQB1*.

Modelos proporcionales de Cox se llevaron a cabo con el fin de evaluar la relación alelos y haplotipos HLA-*DRB1* y *DQB1* y el desenlace de las infecciones por Ct; estos modelos fueron ajustados por variables sociodemográficas y factores de riesgo. Esto permitió establecer la probabilidad de desarrollar los distintos eventos presentados por Ct en función del tiempo y sus coeficientes se expresaron como tasa de riesgo (HR, de la sigla en inglés Hazard ratio), aquellos valores por debajo de 1 se interpretaron como una menor probabilidad de ocurrencia del evento, mientras que los valores por encima de 1 se asociaron con una mayor probabilidad de ocurrencia del evento. Adicionalmente, se estimó el supuesto de riesgos proporcionales con tests basados en los residuos de Schoenfeld, cuando no se cumplieron los supuestos de proporcionalidad, se corrieron modelos paramétricos (Lognormal, Log-logistic, Weibull y Gompertz), los valores por debajo de 1 se relacionaban con una ocurrencia mas temprana del evento, mientras que los coeficientes por encima de 1 indicaban una ocurrencia tardía del evento.

Un total de 262 mujeres se incluyeron en el análisis retrospectivo, la media de edad fue de 41,7 años (DE= 23,1), un 29,8% (n=78) de las mujeres iniciaron el estudio con infección por Ct y un 8,9% presentaron al inicio del estudio alguna anomalía cervical reportada por la citología. En cuanto a los alelos HLA-*DRB1*, se identificaron dieciséis alelos que presentan un efecto variable sobre el desenlace de las infecciones por Ct. Se observó que *DRB1**08:02:01G y *DRB1**12:01:01G se relacionaron con eventos que promueven la infección. Solo se encontró el alelo *DQB1* *05:03:01G relacionado con eventos de depuración/persistencia para HLA-*DQB1*. Los sujetos homocigotos para HLA-*DRB1* se asociaron a eventos con menor probabilidad de depuración y una aparición temprana de la persistencia.

En cuanto a los haplotipos HLA *DRB1-DQB1*, se identificaron 47 con asociaciones relacionados con los eventos de Ct. Se encontraron 17 haplotipos que favorecían los eventos de infección (probabilidad ó una ocurrencia temprana); 11 haplotipos se

asociaron con una ocurrencia tardía de los eventos de infección. Para depuración, 3 haplotipos favorecían su ocurrencia temprana, mientras que 1 presentó menor probabilidad. En cuanto a la reinfección, se relacionaron 8 haplotipos con un efecto favorable (mayor probabilidad u ocurrencia temprana). Finalmente, se encontraron 9 haplotipos que presentaban una asociación a más de un evento.

Como resultado adicional, se realizó la predicción de epítopes con fuerte unión predicha a alelos HLA-*DRB1-DQB1*. Los resultados mostraron la predicción de 109 péptidos, de los cuales 27 podrían estar asociados a inmunidad protectora frente a Ct; aquellos derivados de las proteínas OMP y PMP exhibieron regiones con doble potencial para ser un epítope de células T o B.

Gran parte de las infecciones por Ct cursan de forma asintomática, por lo que estudios epidemiológicos aportan al conocimiento del impacto de las Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) en la salud sexual femenina. Aquí describimos por primera vez los alelos y haplotipos HLA-*DRB1* y *DQB1* relacionados con la resolución de las infecciones por Ct y los péptidos potencialmente involucrados en la respuesta inmune del hospedero. La información obtenida proporciona datos de base para el futuro desarrollo de medidas de promoción y prevención eficaces contra las infecciones por Ct.

Palabras clave: *Chlamydia trachomatis*, infecciones de transmisión sexual, HLA *DRB1-DQB1*, secuenciación de nueva generación, predicción de epítopes.

TABLA DE CONTENIDO

ABSTRACT	5
RESUMEN	7
LISTA DE TABLAS	13
LISTA DE FIGURAS	14
LISTA DE ANEXOS	15
LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS	17
1. INTRODUCCIÓN	19
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	22
3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	24
4. JUSTIFICACIÓN	25
5. MARCO TEÓRICO	27
5.1. Generalidades y ciclo de vida de Ct.....	27
5.2. Clasificación taxonómica de Ct	28
5.3. Genoma de Ct y Factores de Virulencia	30
5.4. Importancia clínica de las infecciones por Ct.....	32
5.5. Distribución de Ct y métodos de detección	34
5.6. Respuesta inmune frente la infección por Ct	36
5.7. Antígenos leucocitario humanos (HLA: <i>Human Leukocyte Antigens</i>).....	39
6. ESTADO DEL ARTE	46
7. OBJETIVOS	51
7.1. Objetivo general.....	51
7.2. Objetivos específicos	51
8. METODOLOGÍA	52
8.1. Diseño y población de estudio.....	52
8.3. Obtención del material biológico y extracción de ADN.....	54
8.4. Detección molecular de Ct y Tipificación de HLA- <i>DRB1-DQB1</i>	54
8.5. Análisis estadístico	55
8.6. Predicción de células T y B.....	56
9. RESULTADOS	58

9.1.	Descripción de la población de estudio y tasas de infección, persistencia, depuración y reinfección de Ct.....	58
9.2.	Efecto de los alelos HLA- <i>DRB1-DQB1</i> en el desenlace de Ct	63
9.3.	Efecto de los haplotipos HLA- <i>DRB1-DQB1</i> en el desenlace de Ct.....	66
9.4.	Péptidos asociados a eventos de Ct	69
10.	DISCUSIÓN	73
11.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	78
12.	PRODUCTOS	80
12.1.	Generación de nuevo conocimiento	80
13.	BIBLIOGRAFÍA	81
14.	ANEXOS.....	99

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Serotipos de <i>Chlamydia trachomatis</i> , modificada de (Marrazzo & Suchland, 2014)	30
Tabla 2. Estudios de los alelos HLA asociados con las enfermedades e infecciones relacionadas con Ct.....	48
Tabla 3. Serovariante de Ct e información de acceso a la base de PATRIC	57
Tabla 4. Características demográficas y factores de riesgo de las 262 mujeres incluidas en el estudio	58
Tabla 5 . Distribución de covariables en relación con el resultado del Ct.....	62
Tabla 6. Alelos HLA <i>DRB1-DQB1</i> asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct.....	63
Tabla 7. Efecto de la homocigocidad de HLA <i>DRB</i> y <i>DQB1</i> en la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct.	65
Tabla 8. Haplotipos HLA <i>DRB1-DQB1</i> asociados con la infección, depuración, persistencia y redetección de <i>Ct</i>	67
Tabla 9. Predicción de vías de secreción clásica y no clásica para las proteínas Ct	69
Tabla 10. Predicción del epítopes de células T o B.....	72

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Representación gráfica del ciclo de desarrollo de <i>Ct</i> (Marrazzo & Suchland, 2014)	28
Figura 2 . Diagrama de flujo del diseño del estudio.....	53
Figura 3. Diagrama de las tasas de infección, eliminación, persistencia y reinfección.	60
Figura 4. Gráficos de Kaplan-Meier para evaluar la infección, depuración, persistencia y reinfección de <i>Ct</i> en función del tiempo.....	61

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado	100
Anexo 2. Frecuencia de los alelos de HLA- <i>DRB1</i> y alelos HLA- <i>DQB1</i> en la población de estudio.....	103
Anexo 3. Alelos HLA- <i>DRB1</i> asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct	104
Anexo 4. Alelos HLA- <i>DQB1</i> asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct.	106
Anexo 5. Haplotipos HLA <i>DRB1-DQB1</i> asociados a la infección y depuración de Ct	107
Anexo 6. Haplotipos HLA <i>DRB1-DQB1</i> asociados a la persistencia y reinfección de Ct.....	113
Anexo 7. Péptidos de la proteína Ct 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase con unión al CMH-II de acuerdo al evento	119
Anexo 8. Péptidos de la proteína de Ct anti-sigma B con unión al CMH-II de acuerdo al evento.....	120
Anexo 9. Péptidos de la proteína de Ct CPFA con unión al CMH-II de acuerdo al evento	121
Anexo 10. Péptidos de la proteína de Ct PMP-C con unión al CMH-II de acuerdo al evento	122
Anexo 11. Péptidos de la proteína de Ct PMP-A con unión al CMH-II de acuerdo al evento	124
Anexo 12. Péptidos de la proteína de Ct PMP-B con unión al CMH-II de acuerdo al evento	125
Anexo 13. Péptidos de la proteína de Ct PMP-D con unión al CMH-II de acuerdo al evento	127
Anexo 14. Péptidos de la proteína Ct PMP-F con unión al CMH-II de acuerdo al evento	128
Anexo 15. Péptidos de la proteína de Ct PMP-G con unión al CMH-II de acuerdo al evento	129
Anexo 16. Péptidos de la proteína de Ct LSU con unión al CMH-II de acuerdo al evento	130
Anexo 17. Péptidos de la proteína de Ct OMP-A con unión al CMH-II de acuerdo al evento	131
Anexo 18. Péptidos de la proteína de Ct OMP-B con unión al CMH-II de acuerdo al evento	132
Anexo 19. Péptidos de la proteína de Ct OMP-C con unión al CMH-II de acuerdo al evento	133

Anexo 20. Péptidos de la proteína de Ct OMP-H con unión al CMH-II de acuerdo al evento 135

LISTA DE SIGLAS Y ABREVIATURAS

Abreviatura	Término
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
CC	Cáncer de Cérvix
Ct	<i>Chlamydia trachomatis</i>
CDC	de la sigla en inglés: Centers for Disease Control and Prevention
Coeff	de la sigla en inglés: regression coefficient
DE	Desviación estándar
dNTPs	Desoxinucleósidos trifosfato
DRB1	<i>DR beta 1</i>
DQB1	<i>DQ beta 1</i>
EB	de la sigla en inglés: Elementary body
EPI	Enfermedad pélvica inflamatoria
FIDIC	Fundación Instituto de Inmunología de Colombia
HLA	de la sigla en inglés: Human leukocyte antigen
IC	Intervalos de confianza
IFN-γ	Interferón gamma
ITS	Infecciones de Transmisión Sexual
LGV	Linfogranuloma venéreo
MLST	Tipificación de secuencias multilocus
MLVA	de la sigla en inglés: Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis
MOMP	de la sigla en inglés: Mitochondrial outer membrane permeabilization
NAAT	de la sigla en inglés: Nucleic Acids Amplification Tests
NGS	de la sigla en inglés: Next Generation Sequencing
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pc	P corregida
PCR	de la sigla en inglés: Polymerase Chain Reaction
Pgp3	Glicoproteína plasmídica 3
qPCR	de la sigla en inglés: Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction
RB	de la sigla en inglés: Reticulate Body
RFLP	de la sigla en inglés: Restriction Fragment Length Polymorphism
RIC	Rangos intercuartílicos
STI	de la sigla en inglés: sexual transmission infection
SIVIGILA	Sistema de Vigilancia en Salud Pública
SMMLV	Salario mínimo mensual legal vigente
SBT	de la sigla en inglés: sequence-based typing
SSO	de la sigla en inglés: sequence specific oligonucleotide

SSP de la sigla en inglés: sequence specific priming
T3SS de la sigla en inglés: Type three secretion system
VIH Virus de la Inmunodeficiencia Humana
VPH Virus del Papiloma Humano
WHO de la sigla en inglés: World Health Organization

1. INTRODUCCIÓN

Chlamydia trachomatis (Ct) es la bacteria transmitida por vía sexual de mayor frecuencia y distribución (Leonard & Borel, 2014). Para el 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó alrededor del mundo, cerca de 90 millones de personas infectadas, principalmente en países en vías de desarrollo (Leonard & Borel, 2014). No obstante, en los últimos años se ha reportado un incremento en las infecciones a nivel global, estimando que anualmente se presentan 131 millones de casos (Nguyen et al., 2020).

Esta infección bacteriana, afecta principalmente a mujeres entre los 18 a 20 años y hombres entre los 20 a 24 años; los casos por Ct fueron 2,5 veces más comunes en mujeres que en hombres, esto puede ser explicado en el hecho que las mujeres se realizan con mayor frecuencia controles a nivel cervical, lo que favorece la detección de infecciones, aún cuando no se presenten síntomas (Markle et al., 2013).

Dado que la mayoría de las infecciones por Ct, presentan un curso clínico asintomático (cerca del 70%), muchas de éstas, no son diagnosticadas tempranamente, careciendo de seguimientos adecuados y tratamiento oportuno (Markle et al., 2013). Esto trae graves consecuencias para la salud, como la cervicitis, uretritis, vaginitis, Enfermedad Pélvica Inflamatoria (EPI), entre otras; estas afecciones pueden traer graves complicaciones a largo plazo, como el cáncer cervical (Rowley et al., 2019; WHO, 2016). Entre la infección inicial y la aparición de síntomas (en los casos donde las infecciones cursan sintomáticas), éstos pueden aparecer semanas o meses después de la exposición (Markle et al., 2013).

En Colombia durante los años 2009 al 2011 se reportaron registros individuales de las ITS, siendo identificados en este periodo 4,276 casos de Ct (Paredes et al., 2015). En el país, la vigilancia sistemática de las ITS es deficiente, a pesar de que en el año 2006 se reglamentó el Sistema de Vigilancia en Salud Pública (Sivigila), en el cual se incluye el reporte obligatorio de VIH (Virus de inmunodeficiencia

humana), hepatitis B, sífilis gestacional y congénita (Gaitán-Duarte, 2017). A pesar de lo anterior, no se cuenta con una vigilancia y reporte reglamentado de otras ITS, como Ct, por lo que en la actualidad existe poca información que permita establecer la dinámica y circulación de esta bacteria en la población colombiana (Gaitán-Duarte, 2017).

Para nuestro país, en el año 2015 se realizó un estudio de prevalencia de Ct en el departamento de Cundinamarca; éste incluyó población adolescente (entre 14 y 19 años) sexualmente activa. La detección molecular se realizó en muestras de orina, mostrando una positividad para Ct del 2,2%, y las infecciones bacterianas se asociaron significativamente a factores de riesgo como el consumo de alcohol, otras sustancias y conductas sexuales de riesgo (Paredes et al., 2015).

Por otra parte, un estudio realizado por la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC), con un diseño longitudinal, que incluyó a 219 mujeres colombianas e infectadas por VPH (Virus del Papiloma Humano), mostró que la frecuencia de infección por Ct podría ser mayor, ya que un 28,0% de las mujeres iniciaron el seguimiento con infección por Ct, con un incremento significativo en la detección bacteriana a través de los seguimientos (Quinónez-Calvache et al., 2016). Además, los resultados mostraron que factores relacionados con el comportamiento sexual incrementan la probabilidad de adquirir infecciones por Ct (Quinónez-Calvache et al., 2016). Si bien se ha avanzado en la comprensión de factores conductuales relacionados con el curso clínico de las infecciones bacterianas, aquellos relacionados con el hospedero aún están pendientes por resolver.

En este contexto, aquellos factores asociados a la respuesta inmune no han sido evaluados ampliamente en el contexto de las infecciones por Ct; las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (CMH) son las responsables de presentar los péptidos derivados de la degradación de los patógenos a los Linfocitos T, lo que las convierte en inductoras de las respuestas inmunes adaptativas frente a enfermedades infecciosas; con esto en mente, diversos estudios han sido dirigidos

a comprender su rol en la dinámica de las infecciones, entre ellas las ocasionadas por Ct (Geisler et al., 2004).

En los humanos, los genes del CMH codifican para los Antígenos Leucocitarios Humanos (HLA, por sus siglas del inglés Human leukocyte antigens) (Geisler et al., 2004). La principal función del sistema HLA es la defensa contra los microorganismos a través de la presentación de péptidos (procedentes de patógenos) a células T para su reconocimiento y desarrollo de la respuesta inmune. Las principales clases de moléculas HLA son: Clase I y Clase II, cuya diferencia radica en su estructura y función (Gonzalez-Galarza et al., 2020).

En general, el reconocimiento de antígenos endógenos asociados con HLA clase I se da por células T CD8+, mientras que los péptidos exógenos relacionados con el HLA clase II, son reconocidos por células T CD4+ (Anaya et al., 2000). Estas moléculas son necesarias para la presentación de antígenos a linfocitos T CD8+ citotóxicos o linfocitos T CD4+ ayudadores; es importante destacar que las células T CD8+ son las responsables de eliminar los patógenos intracelulares como Ct; sin embargo, algunos experimentos en modelos murinos sugieren que las células T CD8+ no tienen un rol central en la resolución de la infección, sino que indican que las moléculas HLA clase II y las células T CD4+ son las esenciales en la depuración a largo plazo de las infecciones bacterianas (Geisler et al., 2004).

Teniendo en cuenta que uno de los factores determinantes en el desenlace de las infecciones por Ct lo constituye la respuesta inmune del hospedero, y que para nuestro país se han reportado una alta prevalencia de la infección, se planteó el presente estudio de cohorte retrospectiva, que busca comprender el efecto de los alelos HLA *DRB1-DQB1* en la infección, persistencia, depuración y reinfección de Ct en mujeres provenientes de tres ciudades de Colombia; con el desarrollo de esta propuesta de investigación, se aportó información que genera bases para que a futuro se puedan desarrollar medidas de prevención y promoción adecuadas.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En mujeres con vida sexual activa, las ITS son una causa importante de morbilidad; anualmente, estas infecciones generan gran impacto en la salud pública por las secuelas psicológicas, discapacidad, disminución en la calidad de vida y daño progresivo de la arquitectura cervical (Costa-Lira et al., 2017; WHO, 2016). Ct constituye la infección bacteriana más frecuente entre las distintas ITS; se estima que cerca de 131 millones de mujeres cursa con infecciones por esta causa, presentándose más del 60% de los casos en países en desarrollo; muchas de éstas infecciones pasan desapercibidas y sin tratamiento, debido a que presentan un curso clínico asintomático (Brunham & Rey-ladino, 2005; Costa-Lira et al., 2017)

La persistencia de las infecciones de Ct en el hospedero puede tener serias consecuencias para la salud, siendo una importante causa de inflamación pélvica, abortos espontáneos, salpingitis e infertilidad (Karuna P. et al., 2019); adicionalmente, debido a que su presencia facilita la adquisición de otras ITS, en la actualidad es considerada un cofactor en el progreso a lesiones cervicales inducidas por VPH (Brunham & Rey-ladino, 2005; Carrero et al., 2018; Kinuthia et al., 2016; Pinzón-Fernández et al., 2019; Plummer et al., 1991; Shardulendra Prasad Sherchand et al., 2016).

Las infecciones por Ct que afectan el tracto urogenital suele ser crónicas, con sintomatología solo en cerca del 20% de las mujeres que se infectan; factores como conductas sexuales de riesgo, entre las que se incluyen la promiscuidad e inicio temprano de la vida sexual, han contribuido al aumento y la distribución de Ct. Entre los factores del hospedero que afectan el curso clínico de las infecciones, se han descrito algunos polimorfismos en los genes HLA clase I (HLA-A, -B y -C) y clase II (HLA-DR y -DQ), asociados con enfermedades derivadas de las infecciones por Ct (Brunham, 2017).

Ct es una bacteria intracelular obligada, por lo que la respuesta eficiente por parte del hospedero incluye la respuesta celular y la humoral; estudios previos han

buscado establecer los mecanismos que promueven dichas respuestas, así como los involucrados en los procesos inflamatorios, la cronicidad y patogénesis de las infecciones bacterianas (Debattista, Joseph et al., 2003).

Durante la infección por Ct, la respuesta inmune inicia activando las células T CD4+ y CD8+; el rol de las células CD8+ ha sido de mayor estudio debido al comportamiento intracelular de Ct; sin embargo, estudios de la historia natural de la infección resaltan la respuesta mediada por las células T CD4+, dado su papel central en la resolución (persistencia o depuración) natural de infecciones (Karuna P. et al., 2019).

Otros factor relacionado con la respuesta inmune y que han sido foco de estudio, lo constituyen los polimorfismos en los alelos HLA; estudios han revelado la asociación de algunos de estos con patologías como la EPI e infertilidad tubárica, derivadas de las infecciones persistentes por Ct (Cohen et al., 2000, 2003; Conway et al., 1996; Gaur et al., 1999; Geisler et al., 2004; Kimani et al., 1996; Kinnunen et al., 2002; Ness et al., 2004; Olson et al., 2019). Los estudios desarrollados con el fin de evaluar la influencia del HLA sobre las infecciones y los diferentes eventos asociados a la presencia de Ct han sido pocos; aunque se ha determinado que en gran medida el HLA clase II tiene una importante influencia en algunos eventos relacionados con Ct, es necesario desarrollar más estudios que permitan comprender en mayor contexto, la respuesta inmune frente a las infecciones por Ct.

Dado que la respuesta inmune contra Ct cumple un rol esencial en la determinación del curso clínico de estas infecciones, realizar estudios comprensivos que permitan determinar las características inmunogenéticas involucradas, resulta esencial y aporta las bases que a futuro generen información que permita diseñar estrategias óptimas para el control de las infecciones por Ct.

3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuáles son los alelos y haplotipos de HLA *DRB1-DQB1* relacionados con la infección, depuración, persistencia y reinfección de las infecciones por Ct?

4. JUSTIFICACIÓN

Las ITS son una causa importante de morbilidad; entre las infecciones transmitidas sexualmente más comunes y de mayor impacto en la salud pública, se encuentra Ct (Díaz & Díez, 2011). La tasa de infección bacteriana es variable según la región geográfica y la población analizada; algunos estudios sugieren que las infecciones por Ct que no se tratan pueden durar un año o más; adicionalmente, se ha descrito que de las mujeres que inician tratamiento, cerca del 20% presentan falla terapéutica y son re infectadas por la bacteria (Olson et al., 2019). En la mayor parte de los casos, las infecciones presentan un curso clínico asintomático, por lo que no son tratadas oportunamente y se mantienen persistentes en el hospedero, lo que trae complicaciones para la salud sexual y reproductiva (Olson et al., 2019).

Estudios previos han establecido que limitaciones en la respuesta inmune son un factor clave en la comprensión del por qué algunas mujeres son más susceptibles a infecciones por Ct, no obstante, dichas asociaciones no se han evaluado completamente (Olson et al., 2019). Usando la eliminación de genes ($\beta_2m^{-/-}$, I-A (clase II $^{-/-}$), CD4 (CD4 $^{-/-}$) en modelos murinos, se ha demostrado que las respuestas inmunitarias (CD4+) son necesarias para la eliminación de las infecciones bacterianas, y del mismo modo se ha sugerido que la presentación por HLA clase II tiene un rol esencial en el desarrollo de la inmunidad protectora (Morrison et al., 1995; Olson et al., 2019; Wang et al., 2005).

El CMH es un sistema complejo presente en el cromosoma 6, que contiene más de 200 genes; las glicoproteínas codificadas por el CMH se conocen en el humano como HLA (Mosaad, 2015), las cuales son determinantes en la capacidad de montar una adecuada respuesta inmune. Algunos estudios han descrito la presencia de ciertos alelos HLA clase II involucrados en susceptibilidad a presentar EPI e infertilidad de origen tubárico (Ness et al., 2004); mientras que alelos HLA-DQ1 están asociados a eventos de reinfección bacteriana (Olson et al., 2019).

En este contexto, a través de estos estudios, se ha indicado que los alelos HLA principalmente de clase II, son los responsables de la presentación antigénica y a su vez se encuentran involucrados en el reconocimiento de Ct y su posterior eliminación (Ness et al., 2004; Olson et al., 2019); no obstante, hasta el momento existen pocos estudios que permitan ampliar la información sobre qué alelos específicos se encuentran asociados con el curso clínico de las infecciones por Ct y las posibles patologías presentadas por ésta. Dado que en la actualidad el desarrollo de estudios que determinen la relación e influencia del HLA en los distintos eventos asociados a la presencia de Ct han sido escasos en nuestro país, el presente estudio es pionero y aportará información de los factores inmunogenéticos del hospedero, involucrados en la resolución o no de las infecciones bacterianas por Ct.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. Generalidades y ciclo de vida de Ct

Ct es una bacteria no móvil, intracelular obligatoria y que exhibe un característico ciclo de vida bifásico (Horn, 2008; Horn et al., 2014). Su morfología es esférica u ovalada, con dos membranas (una interna y externa) y su división se da por fisión binaria (Marrazzo & Suchland, 2014). Ct presenta tropismo por las células epiteliales de la mucosa genital, reportándose un 20% de mujeres con resolución espontánea sin tratamiento con antibióticos, lo que podría sugerir que factores como la respuesta inmune del hospedero contribuye en la eliminación de la infección (Geisler et al., 2004).

Ct es una bacteria que se transmite principalmente por vía sexual y cuya infección persistente conlleva a el desarrollo de EPI e infertilidad (Tamayo A. et al., 2013). Fue descubierta por Tang Chang y Wang en el año 1957 y aislada como agente causal del tracoma (Tamayo A. et al., 2013). Su ciclo de vida inicia con la adhesión a la célula blanco, y para completarlo puede durar entre 48 a 96 horas, de acuerdo a la especie y el número de inclusiones. Los pasos esenciales en su ciclo de vida son: la adhesión, entrada, conversión y división, son asíncronos, lo que permite observar una población de células infectadas con inclusiones de tamaño variables (F. Vromman et al., 2014).

El ciclo de vida de Ct presenta un desarrollo bifásico, la primera fase está compuesta por un cuerpo elemental (EB, de las siglas del inglés Elementary Body), metabólicamente inactivo, responsable de la invasión y la diseminación de la infección a las células vecinas; la segunda fase cuenta con cuerpo reticulado (RB, de las siglas del inglés Reticulate Body) no infeccioso intracelular, pero metabólicamente activo (Wang, Fuyan et al., 2019). El EB es pequeño (diámetro entre 0,2-0,3 μm), de pared rígida, su material genético está densamente empaquetado, presenta actividad metabólica reducida y hace contacto con el

epitelio celular; posteriormente, ocurre una interacción ligando-receptor en la que por endocitosis se internaliza y se forma una vacuola parasitófora derivada de lípidos de la célula hospedera; en esta inclusión, ocurre la diferenciación a RB (Figura 1) (F. Vromman et al., 2014).

Los RBs son más grandes (1-2 μm) y se multiplican dentro de una vacuola llamada inclusión (F. Vromman et al., 2014). Después de un periodo de crecimiento logarítmico, la supresión de nutrientes y el uso del trifosfato de adenosina de la célula hospedera, estos maduran y posteriormente se transformaran en EB infecciosas y se liberan a través de lisis e infectan nuevos blancos celulares (Figura 1) (Wyrick, 2010).

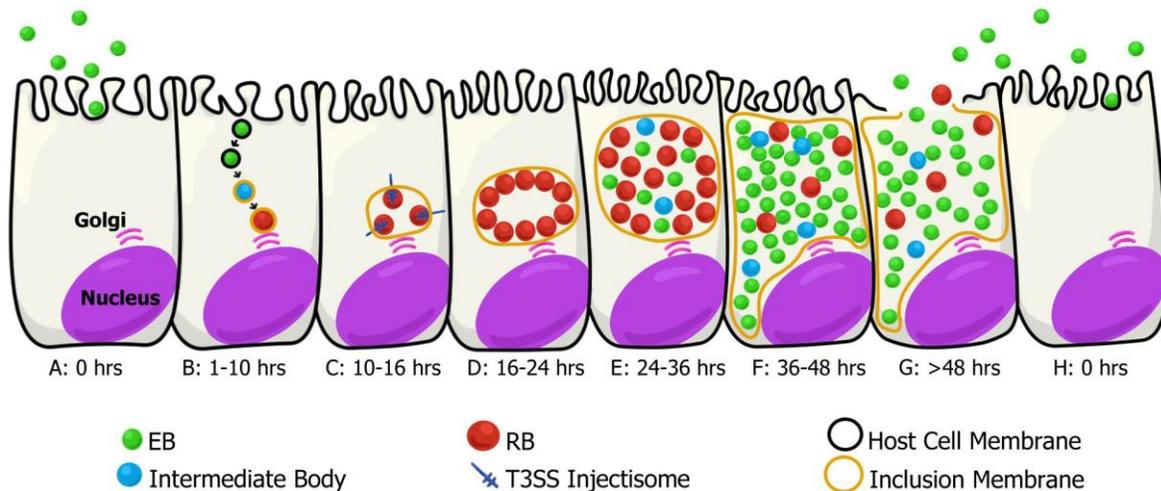


Figura 1. Representación gráfica del ciclo de desarrollo de *Ct* (Marrazzo & Suchland, 2014)

5.2. Clasificación taxonómica de *Ct*

El orden de *Chlamydiales* se agrupa en el Phylum BXVI: *Chlamydiae*; dentro de este orden, se distinguen 4 grupos a nivel de familia, 6 a nivel de género y 13 especies (Bush & Everett, 2001; Greub, 2010). Los miembros de este orden fueron inicialmente descritos en 1945 y denominados *Miyagawanella*; posteriormente, hacia 1966 fueron renombradas como actualmente se les conoce (Bavoil et al.,

2013). Este phylum comprende más de 9.000 familias génicas de las cuales cerca del 5% son conservadas entre todos los *Chlamydiae*; de éstas, veinte son altamente informativas y taxonómicamente confiables, permitiendo una mejor asignación de cepas a nivel de especie (D Domman & Horn, 2015; Daryl Domman et al., 2014; Pillonel et al., 2015; Vouga et al., 2016).

Inicialmente las especies pertenecientes al orden de las *Chlamydiales* se clasificaron con base en sus características morfológicas, bioquímicas, replicativas y a la especie que infectan; posteriormente, se realizó una clasificación molecular teniendo en cuenta la proteína principal de la membrana externa (MOMP), el operon ribosomal y el gen *RNase P* RNA, con porcentajes de identidad superiores al 80% (genes rRNA 16s y/o 23s), coherentes con la norma propuesta de porcentaje de identidad para la secuencias ribosómicas (Bom et al., 2011; Bush & Everett, 2001; Everett et al., 1999; Everett & Andersen, 2000; Hartley et al., 2001; Sachse et al., 2020).

A nivel taxonómico, *Chlamydiae* ha sido dividido en dos grupos filogenéticos principales, un grupo de familias que comprenden los *no-Chlamydiaceae* (como *Simkaniaceae* y *Parachlamydiaceae*), distribuidos principalmente a nivel ambiental y la familia *Chlamydiaceae*, con un género denominado *Chlamydia* y cuyas especies infectan un amplio rango de vertebrados (Everett et al., 1999; Horn, 2008).

Dentro del género *Chlamydia*, se han descrito hasta el momento 13 especies, dentro de las cuales *Ct* ha sido una de las especies de mayor importancia clínica y epidemiológica. Esta especie infecta exclusivamente a los seres humanos y sigue siendo la principal ITS de origen bacteriano prevenible en todo el mundo (Anaene et al., 2016; Dean et al., 2013; Greub, 2010; Lallemand et al., 2016; Shao et al., 2013).

Para *Ct* se han descrito 18 serotipos: A, B, Ba, C, D, E, F, G, H, I, Ia, J, K, L1, L2, L2a, L3, L3a (Tabla 1) (Marrazzo & Suchland, 2014). Las serovariantes asociadas a infecciones oculo-genitales, pueden tener un curso clínico asintomático y limitado a tejido escamo-columnar de membranas mucosas; serovariantes A-C son

responsables del tracoma, mientras que las D-K, Da, la y Ja afectan el tracto urogenital; las serovariantes L son las responsables del linfogranuloma venéreo (LGV), siendo sus infecciones son más agresivas y ulcerativas (Marrazzo & Suchland, 2014).

Patotipo	Serovariante	Transmisión	Enfermedad aguda	Complicaciones
Ocular	A - C	Contacto, fomites	Conjuntivitis (tracoma)	Triquiasis tracomatosa, ceguera.
Genital	D – K (no LGV)	Sexual	Hombres: Uretitis, epididimitis, proctitis. Mujeres: Uretritis, vaginitis cervicitis, endometritis, salpingitis, proctitis.	Partos prematuros, abortos, enfermedad pélvica inflamatoria, infertilidad, embarazo ectópico, artritis reactiva adquirida sexualmente, cáncer.
		Perianal	Conjuntivitis infantil, neumonía.	-
	L1, L2, L3 (LGV)	Sexual	Úlcera genital, proctitis, linfadenopatías.	Linfogranuloma venéreo.

Tabla 1. Serotipos de *Chlamydia trachomatis*, modificada de (Marrazzo & Suchland, 2014)

5.3. Genoma de Ct y Factores de Virulencia

Dado su estricto carácter intracelular, que le permite crecer, sobrevivir y atravesar un particular ciclo de vida, Ct ha evolucionado lentamente, caracterizándose por conservar un genoma pequeño, constituido por un cromosoma de aproximadamente 1,2 Mpb, eventos de duplicación y transferencia de genes en bajas tasas, así como alta conservación génica en términos de contenido y sintenia (Clarke, 2011; Pillonel et al., 2015; Sachse et al., 2020; Stephens et al., 2009).

El genoma de Ct posee casi 900 genes codificadores de proteínas, incluido el gen para la síntesis de peptidoglicano (Mestrovic et al., 2018). Adicionalmente, posee plásmidos pequeños (aproximadamente 7,5 kpb), altamente conservados (conservación de secuencias interespecies superior al 80%), no-conjugativo, no-

integrativo, con ocho marcos de lectura abiertos, un regulador iterón en el origen de replicación que controla el número de copias de plásmidos (con hasta 10 copias) (Jelocnik et al., 2016; Nunes & Gomes, 2014; Pawlikowska-Warych et al., 2015); aún no ha sido claramente establecido si estos plásmidos contienen genes de resistencia a los antibióticos (con excepción de *C. suis* donde se demostró la presencia del gen de resistencia a la tetraciclina); no obstante, son parte esencial del genoma, por lo que son reconocidos como el mayor factor de virulencia de los chlamydiales, ya que además participan en síntesis del glicógeno y codifican proteínas responsables de la virulencia (De Vries et al., 2015; Everett et al., 1999; Jelocnik et al., 2016; Pawlikowska-Warych et al., 2015).

El plásmido de Ct codifica para ocho proteínas, incluida la glicoproteína plasmídica 3 (Pgp3) que se encuentra en la envoltura de la *Chlamydia* y también en el citoplasma de la célula hospedera, siendo aparentemente uno de los principales factores de virulencia codificados por dicho plásmido (De la Maza et al., 2017). La Pgp3 es capaz de promover la colonización de Ct al neutralizar los efectores inmunitarios del hospedero, aunque este mecanismo de patogenicidad sigue sin ser estudiado a fondo (De la Maza et al., 2017) .

Además de la presencia de plásmidos como factor de virulencia, se ha determinado que la bacteria contiene genes que codifican para las proteínas necesarias que forman el sistema de secreción tipo III (T3SS), el T3SS de las clamidias consiste en dos conjuntos de proteínas: la inyectora (inyectosoma) y el translocador (Abdelsamed et al., 2013). El inyectosoma está formado por 20 a 25 proteínas de secreción dependientes del contacto; la proteína de membrana externa B (CopB/CT578) forma un poro en la membrana celular del hospedero, permitiendo la entrada del inyectosoma, con el fin de realizar la inyección de proteínas bacterianas efectoras en el citosol de la célula blanco (Abdelsamed et al., 2013).

Adicionalmente, en Ct se ha observado que las toxinas representan un valor importante como factor de virulencia. El gen de la toxina reside en una región genómica altamente polimórfica de 20,3 kpb denominada zona de plasticidad

(Abdelsamed et al., 2013). La toxina de Ct comparte cierta homología con el sitio activo de la toxina A y B de *Clostridium difficile*; recientemente se ha reportado que la toxina de la serovariante D de Ct (CT166) glicosila la GTPasa Rac1 causando una reorganización de la actina en las células HeLa usadas en los ensayos, efecto similar que se genera con la toxina B de *Clostridium*; esto genera una pérdida de fibras de actina y por consiguiente una pérdida de la morfología celular (Abdelsamed et al., 2013).

El factor similar a la proteasa de Ct (CPAF) es una proteasa conservada entre todas las especies de *Chlamydia*. CPAF es producida como un zimógeno y como segmento interno que es capaz de inhibir la actividad proteolítica; también tras la dimerización se comporta como una serina proteasa que una vez liberada en el citosol de la célula hospedera o de forma extracelular, puede actuar como un factor de virulencia al neutralizar proteínas con actividad anticlamidiana (factores C3 y B) afectando de forma favorable la colonización de Ct, por lo que su función es un buen ejemplo de factor de virulencia (De la Maza et al., 2017; Yang et al., 2016).

5.4. Importancia clínica de las infecciones por Ct

A nivel clínico las infecciones por Ct pueden conllevar a diversas complicaciones, las cuales dependerán de la serovariante en infección y el epitelio colonizado; algunas infecciones se relacionan con enfermedades a nivel ocular, las cuales si no son detectadas y tratadas a tiempo pueden derivar en ceguera; otras variantes que causan infecciones a nivel genital traen graves consecuencias en la salud sexual y reproductiva (Fehlner-Gardiner et al., 2002; Herrmann et al., 2015; Shardulendra P. Sherchand et al., 2016).

En mujeres la infección bacteriana puede ascender por el endometrio hasta las trompas de falopio, generando cervicitis, salpingitis, EPI, oclusión tubárica e infertilidad (Ruiz, 2011). En los hombres Ct causa infecciones urogenitales, que pueden causar epididimitis y prostatitis (Ruiz, 2011). También las infecciones por Ct representan un aumento en el riesgo de adquirir otros agentes como el VIH, el VPH, entre otros (Estrada, 2010).

Las infecciones por Ct que afectan el tracto urogenital suele ser crónicas, con sintomatología solo en aproximadamente el 20% de los casos (Mylonas, 2012), y cursan con procesos inflamatorios limitados, pero su persistencia en el cérvix conlleva a hipertrofia cervical y la inducción de metaplasia (Igietseme et al., 2015); este patógeno bacteriano pueden coexistir con VPH (agente causal del Cáncer de Cérvix) posiblemente con un efecto sinérgico para las dos infecciones (Paavonen, 2012; Paba et al., 2008; Simonetti et al., 2009).

Una de las principales consecuencia de las infecciones por Ct, la constituye su contribución en la displasia cervical; estudios epidemiológicos indican un significativo incremento en el riesgo de desarrollar anormalidad cervical en aquellas mujeres que cursan con infecciones persistentes por Ct (Bhatla et al., 2013; Paba et al., 2008; Singh et al., 1995). Aunque los mecanismos involucrados en la patogénesis no son claros aún, estudios longitudinales muestran asociaciones de riesgo entre la presencia bacteriana (principalmente variantes D, G e I) y la progresión de lesiones de mal pronóstico a nivel cervical (Anttila et al., 2001; Koskela et al., 2000).

Entre los posibles mecanismos involucrados en la patogénesis de bacteriana se incluyen la liberación de óxido nítrico, el favorecimiento de procesos inflamatorios, la inhibición de la apoptosis, la alteración de la estructura celular, la liberación de especies reactivas del oxígeno, entre otros (Fan et al., 1998; Jenkins et al., 2015; Paba et al., 2008).

Las infecciones por Ct, son de fácil tratamiento cuando se detectan a tiempo, sin embargo las limitaciones en el diagnóstico han facilitado su transmisión entre hospederos (Bhatla et al., 2013). De acuerdo con los lineamientos establecidos por la OMS y la Agencias de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) se sugiere como tratamiento para éstas: 1 gramo de azitromicina oral en dosis única o 100 mg de doxiciclina oral dos veces al día por siete días. Esta recomendación se basó en un metaanálisis de 12 ensayos clínicos realizado en el 2002, donde se demostró

que ambas son eficaces, con tasas de eliminación bacteriana para azitromicina del 97% y para doxiciclina del 98% (Gutiérrez & Sánchez Mora, 2018).

5.5. Distribución de Ct y métodos de detección

Ct afecta exclusivamente humanos, infectando principalmente el tracto urogenital y es considerada la infección bacteriana transmitida por vía sexual más común a nivel mundial (WHO, 2011), especialmente en países Áfricanos, del Medio Oriente y Latinoamérica (O'connell & Ferone, 2016). Las infecciones por Ct son comunes en mujeres jóvenes sexualmente activas, la frecuencia de la infección y el fracaso en los tratamientos varían entre regiones analizadas.

Se ha estimado 127,2 millones de casos nuevos de *Chlamydia* alrededor del mundo, con una tasa de incidencia global para el 2016 es de 34 casos por cada 1000 mujeres y 33 por cada 1000 hombres (Rowley et al., 2019). Estudios de la OMS mostraron que la región de las Américas tuvo la tasa más alta de incidencia de *Chlamydia* tanto en mujeres como en hombres (Rowley et al., 2019).

En cuanto a los procedimientos de diagnóstico de Ct, estos incluyen métodos directos e indirectos; para las infecciones localizadas se ha usado como método de diagnóstico los ensayos de detección directa del patógeno, como los cultivos, pruebas de detección de antígenos (enzimoinmunoensayos, anticuerpos fluorescentes y pruebas de inmunocromatografía), la hibridación de ácidos nucleicos y las pruebas de PCR (Meyer, 2016). Los métodos indirectos se valen del uso de anticuerpos contra Ct, que se pueden aplicar con el fin de valorar las infecciones crónicas/invasivas y las posibles complicaciones presentadas, aunque el uso de técnicas que implementen anticuerpos no son recomendables para el diagnóstico de infecciones agudas del tracto genital inferior y anal, ya que los anticuerpos solo son detectables semanas o meses después de iniciada la infección (Meyer, 2016).

En cuanto a las técnicas de cultivo, las muestras óptimas son aquellas procedentes de endocérvix, uretra, canal anal y conjuntivas, no obstante deben ser recogidas

con dispositivos y medios de transporte especiales; las líneas celulares establecidas para el crecimiento de Ct son las células McCoy, HeLa 229 y células de riñón de mono Buffalo Green (Meyer, 2016). La sensibilidad de los cultivos varía de acuerdo a la técnica de recolección de las muestras, el almacenamiento, transporte y presencia de sustancias tóxicas que alteren el crecimiento de Ct en el cultivo (Meyer, 2016). Una de las limitaciones del cultivo lo constituyen los tiempos de oportunidad y las dificultades para la estandarización, aunque el uso de anticuerpos específicos de MOMP para la tinción de los cultivos se consideró por mucho tiempo la prueba de referencia (Meyer, 2016). Es por esta razón, que en la actualidad la metodología de los cultivos celulares no es empleada en laboratorios de diagnóstico, pero sí es necesaria en algunos laboratorios de referencia para controlar la susceptibilidad a los antibióticos y evaluación de nuevos factores de virulencia (Meyer, 2016).

Actualmente, los métodos de diagnóstico comúnmente usados para la determinación de este patógeno son las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (Grillo-ardila C.F. et al., 2020). Las NAAT son las pruebas más sensibles para detectar Ct, además de su alta especificidad en comparación con la técnica de cultivo y algunos métodos inmunológicos (Jordá et al., 2018; Meyer, 2016). La mayoría de NAAT se basan en PCR donde se usan sondas marcadas con fluorescencia para detectar los productos de amplificación en tiempo real y disminuir los tiempos de reporte, permitiendo así tratamientos oportunos y el seguimiento de nuevos casos (Grillo-ardila C.F. et al., 2020; Meyer, 2016). Una de las desventajas principales de esta técnica es que las muestras podrían contener inhibidores de amplificación que causan falsos negativos (Grillo-ardila C.F. et al., 2020).

La tipificación tradicional de cepas de Ct se basa en distintos métodos de serotipificación como la inmunofluorescencia, el inmunoensayo enzimático y el radioinmunoensayo que fueron herramientas de diagnóstico hasta mediados de los 90 (Rawre et al., 2017). La caracterización se basa en la detección de la proteína externa de membrana (MOMP) usando anticuerpos específicos, aunque la principal limitante es que requiere el crecimiento de Ct en cultivos celulares; debido a esto,

las técnicas de serotipificación son aplicadas en los laboratorios clínicos y estudios epidemiológicos (Rawre et al., 2017).

En cuanto a las técnicas para la determinación de serovariantes de Ct, se han desarrollado otras herramientas de tipificación, que dan alto grado de resolución, especificidad y brindan gran sensibilidad en estudios epidemiológicos moleculares (Bavoil et al., 2013), estas son la tipificación de secuencias multilocus (MLST) y los análisis de repeticiones en tandem de un número variable de loci (MLVA) (Bom et al., 2011; De Vries et al., 2015; Klint et al., 2007; Pedersen et al., 2008; Xia & Xiong, 2014).

Por otro lado, existen técnicas de diagnóstico rápido basadas en inmunocromatografía; estas son capaces de detectar el antígeno LSP de Ct en muestras genitales y de orina. En comparación con los cultivos y la PCR, estas pruebas son significativamente menos sensibles y menos específicas, aunque una de sus ventajas es que se puede realizar cerca al paciente y proporcionar resultados en pocos minutos, permitiendo que los pacientes reciban tratamientos inmediatos, si los resultados son positivos (Meyer, 2016).

Por último, el análisis por RFLP ha permitido la distinción de las 18 serovariantes de Ct (Ikehata et al., 2000). Esta técnica es considerada como una de las más sensibles y específicas, además proporcionar medios valiosos y sensibles para el análisis y la ejecución de estudios epidemiológicos que identifiquen las serovariantes más frecuentes en las poblaciones de riesgo (De Jesús De Haro-Cruz et al., 2011).

5.6. Respuesta inmune frente la infección por Ct

La infección crónica por Ct está caracterizada por la inflamación del tracto genital y la infiltración en la mucosa de todos los tipos de células inflamatorias, predominando la respuesta de linfocitos (Mascellino et al., 2011). Se conoce que la inflamación y el desarrollo de la infección presenta múltiples factores como: la virulencia de la cepa, factores ambientales y la respuesta inmune del hospedero; aunque las infecciones por Ct inducen y mantienen la respuesta innata y adquirida, se ha

observado que, en pocos casos, la respuesta inmune permite la eliminación de la infección, gracias a la capacidad que tiene Ct de evadir los mecanismos de defensa del sistema inmune (Mascellino et al., 2011).

Estudios sobre los procesos que están involucrados en la respuesta inmune adquirida contra Ct en la mucosa genital son aún limitados (Estrada, 2010). Cuando el patógeno entra en contacto con el hospedero, las células endoteliales son la primera línea de defensa; la respuesta inmune inicia con la secreción de quimioquinas (atractantes del sistema inmune innato), junto con células proinflamatorias, que llegan al sitio de infección (Estrada, 2010); dentro de éstas células se encuentran los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas, esta línea de defensa busca fagocitar al microorganismo y destruirlo (Estrada, 2010). Después de la infección, las células epiteliales producen distintos mediadores proinflamatorios que aumentan la respuesta celular y así estimulan el daño sobre los tejidos, produciendo un incremento en la molécula de adhesión endotelial que permite la atracción de células inmunitarias (Mascellino et al., 2011).

Los macrófagos y las células dendríticas en su superficie son capaces de expresar moléculas del CMH, estableciendo su función como células presentadoras de antígeno y activando la respuesta inmunidad adquirida (Estrada, 2010). El sistema inmune adquirido está compuesto por una función humoral (linfocitos B) y una función mediada por células (linfocitos T, relacionados directamente con la respuesta a patógenos intracelulares). Los linfocitos T son activados por las células presentadoras de antígeno; por una parte, los linfocitos T citotóxicos (CD8+) destruyen el patógeno al producir citocinas proinflamatorias, así como al secretar perforinas y granzimas (Estrada, 2010). A su vez, en distintos estudios se ha informado que los linfocitos T ayudadores (CD4+) se encuentran relacionados con la resolución de las infecciones genitales y los procesos de cicatrización, al activar diferentes ramas de la respuesta inmune mediante la secreción de diferentes grupos de citocinas (Mascellino et al., 2011).

Los estudios sobre los procesos de inducción de la respuesta inmune adquirida contra *Chlamydia* específicamente en la mucosa genital aún son limitados (Weissenbacher, 2014). Los primeros estudios en modelos murinos han demostrado que los linfocitos T CD4+ son incapaces de eliminar el patógeno de la mucosa genital hasta dos meses después de la infección inicial, por otro lado, algunos informes publicados confieren la responsabilidad a los linfocitos T CD8+ a la resolución de las infecciones genitales por Ct (Weissenbacher, 2014). Una infección de tipo crónico en los ratones desnudos estudiados podía persistir por hasta 200 días, mientras que en ratones normales la infección era resuelta entre 18-21 días después de una inoculación vaginal; a su vez, se demostró que en las líneas de ratones que carecían de las moléculas CMH clase II fueron incapaces de eliminar a Ct del tracto genital, resaltando la necesidad de las células CD8+ y CD4+ en la resolución de estas infecciones (Weissenbacher, 2014).

Al evaluar la alteración de células CD4+, se encontró que las infecciones por Ct eran más frecuentes cuando los animales tenían recuentos bajos de estas células; estos resultados sugirieron que un número bajo de Linfocitos T CD4+ podrían eliminar las infecciones por Ct (Weissenbacher, 2014). Algunos estudios han demostrado que además de las células CD4+ y CD8+, las células dendríticas también se encuentran involucradas en el reconocimiento de antígenos de Ct. Tras el proceso de fagocitosis por las células dendríticas en el tracto genital, los linfocitos CD4+ se localizan en la mucosa genital estimulando la producción de IFN- γ de la primera a la tercera semana después de la infección; la producción dominante del IFN- γ también se observa en los ganglios linfáticos iliacos y en los mesentéricos, incrementando la respuesta ante el patógeno (Weissenbacher, 2014).

Los linfocitos T CD4+ y los alelos HLA clase II son moléculas esenciales en la respuesta inmune protectora frente al Ct (Karuna P. et al., 2019). Un estudio realizado en modelo murino probó la hipótesis de que las células dendríticas y las células epiteliales infectadas por Ct presentan conjuntos superpuestos de epítopes por CMH clase II, que permiten unir las fases inductivas (los antígenos son presentados por las células dendríticas) y efectoras (las células T específicas se

expanden ante la presentación antigénica), lo que, en conjunto, promueve la inmunidad protectora; adicionalmente, se identificaron 26 péptidos (CMH clase I) y 4 (CMH clase II) derivados de Ct a partir de células epiteliales infectadas; de manera interesante, se puede resaltar que ninguno de los péptidos unidos a las células epiteliales se solaparon con los péptidos presentados por las células dendríticas, lo que sugiere una discordancia entre los inmunoproteomas de ambos tipos celulares, surgiendo implicaciones en la eliminación de Ct y el futuro desarrollo de métodos de prevención como las vacunas (Karuna P. et al., 2019).

5.7. Antígenos leucocitario humanos (HLA: *Human Leukocyte Antigens*)

El CMH es un sistema complejo que se localiza en el brazo corto del cromosoma 6, ocupando una zona de cerca de 3,6 Mpb, esta región se caracteriza por presentar un elevado grado de polimorfismos. En esta región se encuentran genes que codifican el HLA clase I, II y III, responsables de controlar la respuesta inmune por medio del reconocimiento de lo propio y lo extraño, siendo su rol de gran importancia en la presentación antigénica (Takashi S. et al., 2009).

Este segmento ha sido relevante en diversas investigaciones, ya que permite identificar distintos polimorfismos, que intervienen en un amplio rango de fenotipos, incluyendo enfermedades autoinmunes, infecciosas y oncológicas (Hosomichi K et al., 2015)

La mayoría de los genes de la región del CMH expresan polimorfismos que son fundamentales para su funcionamiento, uno de los genes de mayor importancia es el HLA (Mosaad, 2015). La molécula de HLA difiere en su secuencia de aminoácidos, lo que genera una estructura diferente en la unión al péptido (Mosaad, 2015). También se observa que los dominios más alejados de la membrana ($\alpha 1$, $\alpha 2$ en HLA clase I and $\alpha 1$, $\beta 1$ en HLA clase II) presentan un alto grado de variabilidad, mientras que los dominios de la membrana proximal ($\alpha 3$ en HLA clase I y $\alpha 2$, $\beta 2$ en HLA clase II), así como los dominios transmembranales y citoplasmáticos tienen un polimorfismo bajo o nulo; la mayoría de la variabilidad se concentra en el exón 2 de

los genes de HLA clase II y en los exones 2 y 3 de los genes de HLA clase I (Mosaad, 2015).

Las moléculas de HLA clase I son expresadas por casi todas las células, con excepción de los glóbulos rojos, células germinales y embrión; éstas son glicoproteínas polimórficas, que se unen de manera no covalente a la β 2-microglobulina, que sirve de soporte para la cadena α (Shankarkumar, U. et al., 2002). Su función es la presentación de antígenos de origen intracelular como partículas virales, algunas degradadas por el proteosoma y los péptidos derivados del retículo endoplasmático; hay tres tipos de moléculas clásicas de HLA clase I: HLA-A, HLA-B y HLA-C (Klein, 2000; Shankarkumar, U. et al., 2002; Takashi S. et al., 2009), las cuales son llevadas a la superficie celular, para presentarle los péptidos cargados en la hendidura a los linfocitos T CD8+.

Respecto a las moléculas HLA clase II, se pueden encontrar en células profesionales presentadoras de antígeno, principalmente células dendríticas, monocitos, macrófagos y Linfocitos B. Dichas células son responsables del procesamiento y presentación de antígenos de origen extracelular a los linfocitos T CD4+ (Klein, 2000; Shankarkumar, U. et al., 2002; Takashi S. et al., 2009).

5.7.1. Nomenclatura alelos HLA

En cuanto a la nomenclatura de los alelos HLA, cada alelo contiene 4 conjuntos de dígitos separados por dos puntos. Todos los alelos tienen al menos cuatro dígitos agrupados en dos y la longitud depende de la secuencia del alelo; con respecto a la nomenclatura, los dos primeros dígitos corresponden a la familia alélica, que es equivalente al antígeno serológico (Group, 2015; Marsh et al., 2010). Los siguientes dígitos son asignados en el orden en que la secuencia ha sido determinada, las diferencias en los primeros cuatro dígitos significan que existen sustituciones nucleotídicas que cambian la secuencia de aminoácidos de la proteína codificada. Los alelos que difieren por la presencia de sustituciones sinónimas dentro de la secuencia codificante, se destacan con el uso de un tercer conjunto de dígitos y se

diferencian sólo por polimorfismos de secuencia en intrones o regiones 5' o 3' no transcritas (Group, 2015; Marsh et al., 2010).

El comité de nomenclatura de la OMS para el sistema HLA, determinó que el carácter dos puntos (:) sería empleado para separar partes importantes del nombre de los alelos, entre la familia alélica y el código asignado. Los códigos genéricos empleados tendrán que aceptar más de dos dígitos, algunos códigos empleados fueron removidos o contienen ahora (:) después del segundo dígito de cada miembro (Torres & Moraes, 2001).

Se creó un sistema codificado para reportar los alelos ambiguos, aquellos que tienen secuencias nucleotídicas idénticas en los exones que codifican para dominios de unión al péptido (exón 2 y 3 para HLA clase I y exón 2 para HLA clase II), se acompañan del sufijo G que sigue la nomenclatura del alelo menor en el grupo (Marsh et al., 2010). Para los alelos con secuencia nucleotídicas que codifican la misma secuencia proteica de los dominios de unión a péptidos, se designan con una P que sigue la nomenclatura del alelo menor del grupo (Marsh et al., 2010).

Las secuencias que han sido oficialmente reconocidas por el comité de nomenclatura de la OMS para factores del sistema HLA se encuentran en la base de datos IMGT/HLA, que provee mecanismos digitales como los reportes de alelos y herramientas de alineamiento (Marsh et al., 2010).

5.7.2. Tipificación HLA

La tipificación basada en ADN tiene ventajas particulares sobre otras por su alta especificidad y flexibilidad con respecto a los reactivos usados en la identificación de nuevos alelos (Bontadini, 2012). La amplia diversidad alélica ha generado que la tipificación del HLA sea de un reto altamente complejo. Uno de los primeros intentos de tipificación fue el análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), pero esta técnica tenía limitaciones importantes (Erlich, 2012).

El desarrollo de la técnica de PCR permitió la amplificación de los exones polimórficos de los genes HLA I y II, dividiéndose en dos categorías: los análisis con sondas de hibridación de oligonucleótidos (SSO), que generan productos con polimorfismos detectados por una segunda técnica. El uso de inmovilización de sondas en membradas y posteriormente las microesferas empleadas junto con cebadores específicos de secuencias (SSP) permitió la tipificación completa del HLA (Erlich, 2012).

- PCR-SSP (polymerase chain reaction-sequence specific priming)

Es una técnica basada en la especificidad de cebadores; cada par de cebadores amplifica uno o varios alelos; estos cebadores son seleccionados con el fin de que la amplificación sea específica de una región polimórfica (Arrazola-García, 2005; Bontadini, 2012). Existen kits disponibles con una amplia gama de cebadores, los productos amplificados obtenidos se detectan por medio de electroforesis, lo que representa una herramienta útil, aunque de baja resolución (Bontadini, 2012).

- PCR-SSO (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide probe)

Es una técnica basada en la amplificación específica del locus HLA por medio de la PCR, con una posterior hibridación del producto amplificado por medio de sondas de oligonucleótidos de secuencias específicas (Arrazola-García, 2005). Se tienen oligonucleótidos de 20 pares de bases aproximadamente y son capaces de reconocer alelos de igual secuencia (Bontadini, 2012). Este sistema usa sondas específicas marcadas con digoxigenina; cuando la secuencia complementaria está presente en el producto amplificado, el anticuerpo antidigoxigenina conjugado con fosfatasa alcalina permite la emisión de luz, al reaccionar con un sustrato quimioluminiscente (Arrazola-García, 2005). Es una técnica útil cuando se usa con un alto flujo de muestras, sin embargo, requiere

tiempo y un número elevado de sondas para lograr una mayor especificidad (Bontadini, 2012).

- PCR-SSO rev (polymerase chain reaction-sequence specific oligonucleotide reverse)

La SSO reverse dot blotting usa el mismo mecanismo de amplificación que la SSO, aunque el panel de sondas se une a un soporte sólido y la muestra que será amplificada se hibrida con este soporte. Se han descrito distintas variantes, entre ellas las que usan una cola de poli-T para unir la sonda a la membrana, cada sonda es específica y se hibrida con el producto de PCR (Bontadini, 2012). Posterior a la hibridación, se adiciona un conjugado de estreptavidina-peroxidasa que revela las reacciones positivas. Otro método que usa un principio similar es el realizado en una bandeja de 96 pocillos, donde el ADN se amplifica con un cebador biotinilado permitiendo la unión del producto con avidina y las sondas se conjugan con fosfatasa alcalina, detectando las reacciones de forma colorimétrica (Bontadini, 2012).

El desarrollo de nuevos enfoques como las microperlas usadas en la plataforma Luminex, permite la medición de múltiples analitos de forma simultánea en un solo pozo de reacción; estas perlas fueron diseñadas para detectar específicamente las secuencias de nucleótidos en los sitios polimórficos del HLA. Algunas limitaciones descritas son los polimorfismos fuera de la región amplificada o aquellos localizados en los sitios de unión del cebador (Bontadini, 2012).

- PCR-SBT: Tipificación basada en secuenciación

La principal ventaja de esta herramienta es su precisión, al ser la única técnica que permite detectar directamente las secuencias de nucleótidos de un alelo permitiendo una asignación exacta (Bontadini, 2012).

La secuenciación de Sanger ha sido uno de los métodos más usados para la tipificación del HLA, donde se usan cuatro diferentes fluorocromos para identificar las bases nucleotídicas (Bontadini, 2012). La incorporación de los fluorocromos se realiza de forma aleatoria y detiene la elongación de la cadena, por lo que se producen fragmentos de tamaños variables; los fragmentos son separados posteriormente por electroforesis capilar y cada una de las bases se identifica y se diferencia por la fluorescencia emitida (Tipu & Shabbir, 2015). El software de análisis de la secuencia genera una secuencia de nucleótidos que son comparados con una base de datos que contiene todos los alelos conocidos (Bontadini, 2012).

Este tipo de secuenciación se limita a las secciones con sitios polimórficos, como el exón 2 para el HLA clase II y los exones 2 y 3 para el HLA clase I. Es una gran herramienta para definir alelos e identificar los desconocidos, aunque tiene una gran limitante que es la ambigüedad en la tipificación, ya que el producto de la amplificación y secuenciación de dos alelos juntos, no identifica la fase de secuencias polimórficas, permitiendo que resulten dos o más combinaciones de alelos (Bontadini, 2012). Con el fin de resolver estas restricciones, se han implementado métodos con SSO o SSP, seguidos de una amplificación de dos alelos heterocigotos y la secuenciación de Sanger de alelos por separado (Bontadini, 2012; Erlich, 2012).

En la actualidad, el uso de la secuenciación de última generación (Next Generation Sequencing) es una alternativa útil para los resultados inconclusos obtenidos mediante las herramientas anteriormente descritas (Erlich, 2012). Con este fin, se han empleado distintas plataformas de secuenciación como el sistema de Roche 454, Ion Torrent, Illumina y PacBio (Tipu & Shabbir, 2015).

Es así como la tipificación de los genes de HLA ha evolucionado desde la detección de variación en las moléculas expresadas, hasta la tipificación alélica de alta resolución basada en secuenciación; además, los métodos descritos en la categoría de NGS han permitido una mayor resolución y rendimiento, sin las

interferencias generadas por los métodos tradicionales (Tipu & Shabbir, 2015). Uno de los métodos de tipificación basados en la secuenciación es la plataforma Illumina, que tiene mayor precisión en la determinación del genotipo y la resolución de alelos (Erlich, 2012; Tipu & Shabbir, 2015).

6. ESTADO DEL ARTE

En los últimos años se han realizado grandes avances en el conocimiento de la dinámica de las infecciones por Ct; no obstante, falta mayor información acerca de los factores del hospedero (como los inmunogenéticos) relacionados con la resolución o no de las infecciones bacterianas (Brunham, 2017; De la Maza et al., 2017).

Estudios previos han descrito polimorfismos involucrados en las enfermedades inducidas por Ct, como tracoma (Conway et al., 1996), EPI (Kimani et al., 1996; Ness et al., 2004) e infertilidad (Cohen et al., 2000, 2003; Kinnunen et al., 2002); mientras que otros pocos estudios se han llevado a cabo con el objetivo de evaluar la asociación de alelos HLA con la prevalencia de infección y reinfección bacteriana (Tabla 2) (Gaur et al., 1999; Geisler et al., 2004; Olson et al., 2019).

Un estudio desarrollado en 302 trabajadoras sexuales procedentes de Kenia, contempló a través de un análisis de regresión logística multivariada, que el uso de anticonceptivos orales aumentaba el riesgo de infección cervical por Ct y, a su vez, la presencia de HLA-A31 se relacionaba con una forma de EPI inducida por la presencia de Ct (Kimani et al., 1996).

Un estudio de casos y controles con 153 mujeres, donde se quería comprobar si los alelos HLA clase I (A, B y C) o clase II (*DRB1* y *DQB1*) influían en el riesgo de cicatrización tracomatosa por infecciones con Ct, no encontró ningún tipo de asociación entre alelos HLA y la cicatrización por Ct; no obstante, se encontró que uno de los antígenos clase I, específicamente el alelo HLA-A28 fue significativamente más común entre los casos, mientras que el alelo HLA-A6801 era igualmente común en toda la población analizada (Conway et al., 1996).

Otro estudio, en el que participaron 113 trabajadoras sexuales, determinó a través de técnicas de ELISA y microinmunofluorescencia que los alelos HLA *DQA1*0401* y *DQB1*0402* estaban asociados significativamente con una alta prevalencia de Ct y mayor cantidad de anticuerpos contra Chsp60, aunque estos anticuerpos no

alteraron el riesgo de presentar EPI por Ct; esto indicó que el HLA-DQ podría estar involucrado en la patogénesis de la enfermedad por Ct (Gaur et al., 1999).

De igual forma se ha investigado que factores epidemiológicos de riesgo se encuentran asociados a la infertilidad tubárica, la presencia de Ct y la relación entre los alelos HLA clase II. Un estudio donde se tipificó el HLA clase II y se determinó la presencia de Ct en 47 mujeres con infertilidad tubárica y 46 con ligadura tubárica, encontró que la presencia de los alelos *DQA*0101* y *DQB*0501* se correlaciona positivamente con la presencia de Ct, mientras que mujeres con el alelo *DQA*0102* se correlacionaban negativamente con la infección bacteriana (Cohen et al., 2000).

Por otra parte, un estudio de casos y controles que evaluó la asociación entre la infertilidad tubárica y Ct, reportó que los alelos HLA-*DQB1* y HLA-*DQA1* no fueron significativos para los grupos analizados; sin embargo, los alelos HLA-*DQA1*0102* y *DQB1*0602* se encontraron en una frecuencia significativa en el grupo de casos frente al grupos de controles (Kinnunen et al., 2002).

A través del tiempo se han desarrollado estrategias para comprender los mecanismos inmunogenéticos que median las infecciones por Ct y las patologías desarrolladas a partir de éstas, como la infertilidad tubárica. Es así como, a través de un análisis transversal en 63 mujeres con infertilidad tubárica, donde 31 eran seropositivas para Ct y 32 seronegativas, se estableció la presencia de dos alelos clase II (HLA-*DRB1*1503* y *DRB5*0101*), que fueron detectados con menos frecuencia en mujeres seropositivas para Ct, lo que puede indicar que es un mecanismo de protección mediado inmunológicamente contra la infecciones bacterianas (Cohen et al., 2003).

Dadas las asociaciones previamente descritas entre los alelos HLA clase II, la presencia de Ct, el desarrollo de patologías agudas como la endometritis y la infertilidad, un estudio realizado con 92 mujeres encontró que el alelo *DQA*0301* fue más frecuente en mujeres con endometritis e infertilidad, mientras que los alelos *DQA*0501* y *DQB*0402* fueron menos comunes en esta misma población de

estudio, concluyendo que estos alelos pueden alterar la ocurrencia de las infecciones en el tracto genital inferior (Ness et al., 2004).

Además de estudios de asociación del HLA con patologías derivadas de Ct, algunos estudios se han realizado con el fin de evaluar características de la respuesta inmune del hospedero asociadas con la prevalencia de la infección bacteriana; en este sentido, un estudio que incluyó 485 adolescentes (124 masculinos y 361 femeninos) seguidos durante un periodo de 56 meses, reportó que las variantes alélicas *DQB1*0602* y *DQB1*0603* y el haplotipo *HLA-B*44-Cw*04* se relacionaron con la infección por Ct de forma negativa, afectando la eliminación del microorganismo; esto a su vez, permite entender que la presentación de antígenos en la respuesta inmune adaptativa puede ser un factor importante en el control de las infecciones por Ct (Geisler et al., 2004).

Finalmente, en un estudio realizado en una población de 185 mujeres seronegativas a HIV se encontró que el alelo *DQB1*06* se asoció con eventos de reinfección por Ct y se ve implicado como un marcador de riesgo para la presencia del microorganismo (Olson et al., 2019). Es así como los estudios desarrollados han establecido la asociación presentada entre el HLA y la presencia de Ct, predominando los genes de HLA clase II. De esta manera, es como la determinación y el desarrollo de análisis exhaustivos en distintas poblaciones, permitirá establecer asociaciones longitudinales relacionadas con el desenlace de las infecciones por Ct.

Tabla 2. Estudios de los alelos HLA asociados con las enfermedades e infecciones relacionadas con Ct

Año	País	Tipo de Estudio	Población	Hallazgos	Referencia
1996	Kenia	Cohorte	302 mujeres trabajadoras sexuales	HLA*A31 se asoció de forma EPI inducida por la presencia de Ct	(Kimani et al., 1996)
1996	Gambia	Casos y controles	151 casos con tracoma cicatricial y controles pareados	HLA*A28 fue significativamente más común entre los casos que entre los controles	(Conway et al., 1996)

1999	Kenia	Cohorte	113 mujeres trabajadoras sexuales	Alelos <i>DQB1*0402</i> se asociaron estadísticamente con una mayor cantidad de anticuerpos contra Chsp60	(Gaur et al., 1999)
2000	Kenia	Transversal	47 mujeres con infertilidad de origen tubárico y 46 con ligadura de trompas	<i>DQA*0101</i> y <i>DQB*0501</i> se correlacionaron positivamente con presencia de Ct, <i>DQA*0102</i> se correlacionó negativamente con la infección bacteriana	(Cohen et al., 2000)
2002	Finlandia	Casos y controles	52 casos (infertilidad de origen tubárico) y 61 controles	<i>DQA1*0102</i> y <i>DQB1*0602</i> se asociaron con mujeres con mujeres con infertilidad de origen tubárico	(Kinnunen et al., 2002)
2003	Kenia	Transversal	63 mujeres con infertilidad por factor tubárico incluidas, de las cuales 31 fueron seropositivas para Ct y 32 seronegativas	<i>DRB1*1503</i> y <i>DRB5*0101</i> , se detectaron con menos frecuencia en mujeres seropositivas a Ct	(Cohen et al., 2003)
2004	USA	Transversal	485 adolescentes con infección incidentes de Ct	Se encontraron asociados a la infección bacteriana, los alelos <i>DQB1*06</i> (principalmente *0602 y *0603) y el haplotipo <i>B*44-Cw*04</i>	(Geisler et al., 2004)
2004	USA	Transversal	92 mujeres con EPI	EPI fue más común en mujeres con el alelo <i>DQA*0301</i> , mientras que en aquellas mujeres con alelos <i>DQA*0501</i> y <i>DQB*0402</i> fue menos común	(Ness et al., 2004)
2019	USA	Cohorte	Se incluyeron 185 mujeres, de las cuales 147 no presentaron reinfección, mientras que en	<i>DQB1*06</i> se asoció con la reinfección bacteriana	(Olson et al., 2019)

			38 mujeres, sí se presentó		
--	--	--	----------------------------	--	--

7. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Determinar los alelos y haplotipos de las moléculas HLA *DRB1* y *DQB1* relacionados con la infección, persistencia, depuración y reinfección por *Chlamydia trachomatis* en una cohorte de mujeres colombianas.

7.2. Objetivos específicos

- Describir las características sociodemográficas y clínicas de la población de estudio.
- Estimar la tasa de infección, persistencia, depuración y reinfección para *Chlamydia trachomatis* en la población de estudio.
- Determinar las diferencias en la distribución de las variables sociodemográficas, los factores de riesgo y los hallazgos cervicales, teniendo en cuenta el curso clínico de la infección por *Chlamydia trachomatis* (infección, persistencia, depuración y reinfección).
- Identificar los alelos y haplotipos HLA-*DRB1* y *DQB1* relacionados con la infección, persistencia, depuración y reinfección por *Chlamydia trachomatis*.

8. METODOLOGÍA

8.1. Diseño y población de estudio

Este estudio hace parte de una cohorte birideccional; el componente prospectivo buscó determinar la historia natural de la infección por VPH; dicho estudio se llevó a cabo entre abril de 2007 y marzo de 2010 y se invitó a participar mujeres entre 17 y 69 años de edad (Del Río-Ospina et al., 2020; Soto-De León et al., 2014).

Para el componente retrospectivo, se tuvieron en cuenta como criterios de inclusión: la disponibilidad de la muestra cervical para tipificar HLA-*DRB1* y *DQB1*, mujeres que contaran con al menos cuatro seguimientos (uno de línea base y tres visitas) y una periodicidad entre visitas de 6 meses (± 3 meses). Cabe destacar que las mujeres no recibieron tratamiento con antibiótico para la infección, dada la naturaleza retrospectiva de este estudio (Figura 2).

8.2. Definición de sujetos de estudio

Las mujeres incluídas en el estudio asistieron a los programas de promoción y prevención (P&P) de cáncer de cérvix (CC) en centros hospitalarios de tres ciudades colombianas: Hospital San Juan Bautista en la ciudad de Chaparral en el departamento del Tolima; el Nuevo Hospital San Rafael en Girardot en Cundinamarca y el Hospital de Engativá Nivel II, en Bogotá, capital de Colombia.

A todas las mujeres se les explicó del objeto del estudio, procedimientos, riesgos, beneficios, entre otros, y aceptaron a través de la firma de un consentimiento informado (Anexo 1), autorizando el uso de la muestra para el presente estudio y futuros análisis. Junto con el consentimiento informado, las mujeres diligenciaron un cuestionario que recopiló información sociodemográfica, historial reproductivo y comportamiento sexual. Todos los protocolos fueron evaluados y aprobados por los Comités de Ética de cada hospital participante (Soto-De León et al., 2014).

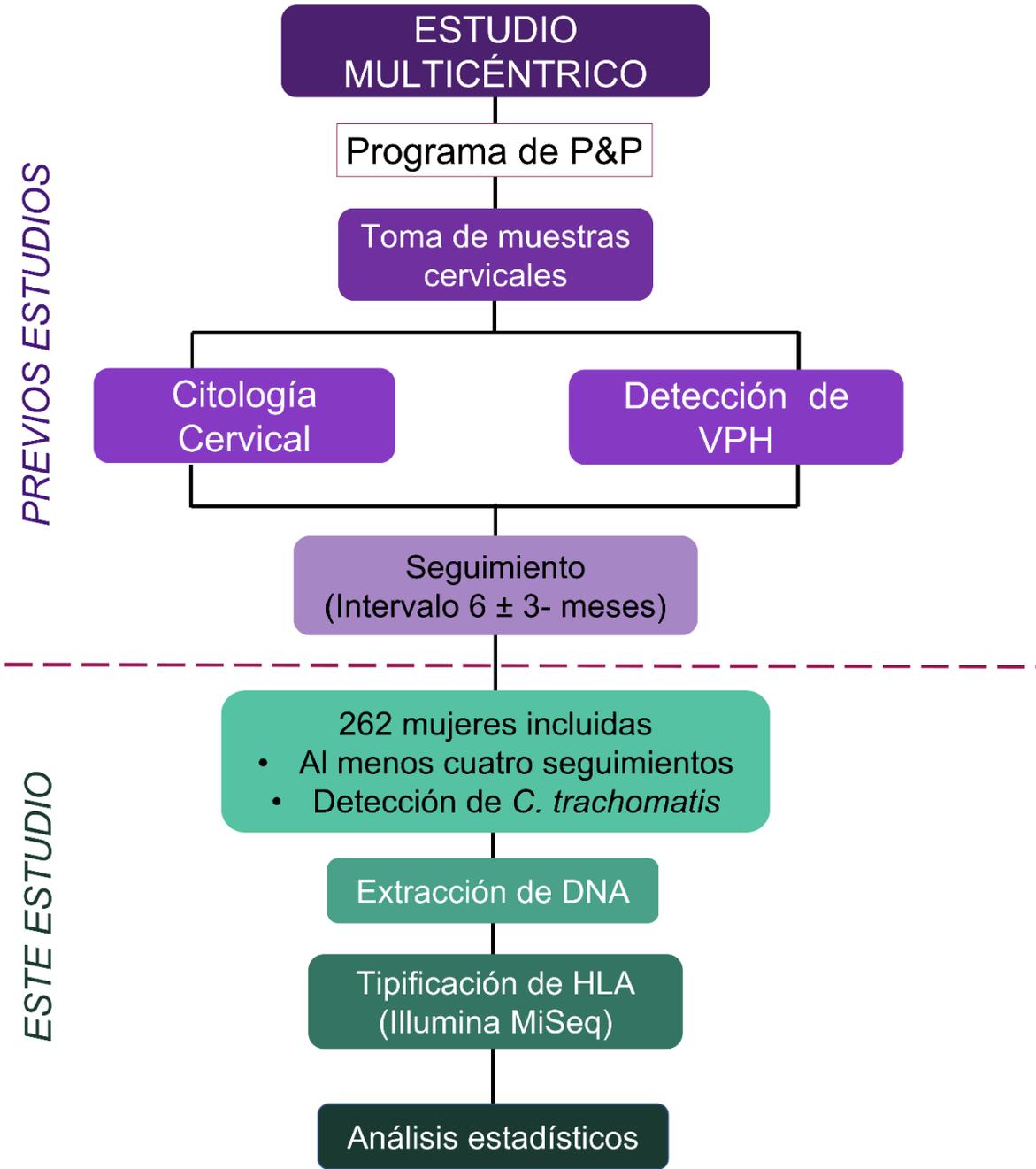


Figura 2 . Diagrama de flujo del diseño del estudio

8.3. Obtención del material biológico y extracción de ADN

El material biológico se obtuvo a partir de raspado cervical, recolectado durante la realización de la citología; una vez se tomaron las muestras se conservaron a 4°C, en el medio de transporte de etanol al 95%. Posteriormente, fueron procesadas bajo las técnicas estandarizadas y publicadas por el grupo de Biología Molecular de la FIDIC (Soto-De León et al., 2014).

A partir de alícuotas de muestras de cérvix, se realizó la extracción de ADN genómico empleando el kit QIAamp 96 DNA Blood kit (Quiagen, Hilden, Alemania) siguiendo el protocolo de la casa comercial. La calidad del ADN genómico se determinó con concentraciones >10 ng/μL y una relación de absorbancia $\geq 1.8/2.0$ a 260/280. Este ADN genómico se empleó para la detección molecular de Ct y la tipificación de los alelos HLA-*DRB1-DQB1*.

8.4. Detección molecular de Ct y Tipificación de HLA-*DRB1-DQB1*

La detección de Ct se llevó a cabo mediante PCR, con sets de cebadores dirigidos hacia el plásmido críptico (Quinónez-Calvache et al., 2016). Para la amplificación bacteriana, se emplearon dos conjuntos de cebadores: KL5/KL6 que amplifica un fragmento de 350 pb del ORF2 del plásmido y KL1/KL2 que amplifica un fragmento de 241 pb del ORF2 (Cribb et al., 2002; Occhionero et al., 2007).

Las condiciones de la PCR, se reportaron previamente (Quinónez-Calvache et al., 2016). En resumen, se corrieron PCRs independientes para KL1/KL2 y KL5/KL6, se realizó la mezcla con 3mM de MgCl₂, 1,25 mM de dNTPs, 20 pmol de cada cebador y 1,25 μL de Taq ADN polimerasa (5U/μL). El ciclo térmico para ambos sets de cebadores inicia con una temperatura de 94°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos de 1 minuto a 93°C, la fase de elongación para los cebadores KL1/KL2 se mantuvo en 1 minuto a 55°C y para los cebadores KL5/KL6 se uso por 1 minuto a 56,8°C, posteriormente se mantuvo por 1 minuto a 72°C y la extensión final a 72°C por 10 minutos (Quinónez-Calvache et al., 2016).

La tipificación de los alelos HLA se realizó por NGS, a partir de los exones 2 y 3 de los *loci DRB1-DQB1* (resolución 3x) a través de la plataforma Illumina MiSeq (San Diego, CA, USA; Histogenetics, Ossining, NY, USA). El ADN genómico extraído fue enviado Histogenetics, donde realizaron el procedimiento de NGS. La base de datos IPD-IMGT/HLA (<https://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla>) publicada en enero de 2018 se usó para la asignación alélica. Se siguieron las directrices del Comité de Nomenclatura de la OMS (Organización Mundial de la Salud) para Factores del Sistema HLA para el reporte de alelos, usando los códigos del Programa Nacional de Donantes de Medula Ósea (NMDP) y los códigos G para los alelos ambiguos (aquellos con secuencias de nucleótidos idénticas en el sitio de reconocimiento del antígeno en el exón 2).

8.5. Análisis estadístico

La descripción de las variables se realizó teniendo en cuenta la naturaleza de éstas; se emplearon medidas de tendencia central (media o mediana) y de dispersión (desviación estándar-DE o rangos intercuartílicos-RIC) para describir las variables cuantitativas. Las variables cualitativas se mostraron en términos de frecuencias, las diferencias entre grupos se estimaron con la prueba Chi² o la prueba exacta de Fisher. Las tasas de incidencia para los distintos eventos se informaron con intervalos de confianza (IC) del 95% y se estimó la probabilidad de continuar libre de eventos en el tiempo calculando la función de Kaplan Meier.

Para fines de este estudio, la infección por Ct se definió como la detección por PCR del ADN bacteriano en cualquier punto del seguimiento (2 años); la depuración se definió como la eliminación de la infección, teniendo en cuenta un resultado previo positivo para Ct; por otra parte, teniendo en cuenta que antes de ser eliminadas, una fracción de las infecciones fue persistente, este evento se evaluó en el estudio y se definió como la detección bacteriana en dos o más seguimientos consecutivos; finalmente, la reinfección se definió como la detección de Ct después de la no detección del ADN bacteriano en un seguimiento previo.

Se desarrollaron modelos de riesgos proporcionales de Cox para evaluar la probabilidad de desarrollar los desenlaces a través del tiempo; los coeficientes de dichos modelos se expresaron en términos de Hazard ratios (HR) y se usaron para identificar los alelos/haplotipos relacionados con los eventos evaluados (infección, depuración, persistencia y reinfección); para la interpretación de estos coeficientes, los valores de HR menores a 1 representaron una menor probabilidad de ocurrencia del evento, mientras que los valores mayores a 1 se interpretaron como una asociación positiva, es decir, una mayor probabilidad de ocurrencia del evento de interés. Adicionalmente, se estimó el supuesto de riesgos proporcionales con tests basados en los residuos de Schoenfeld; las covariables consideradas para el ajuste fueron aquellas con valores $p < 0,200$ en el análisis univariado.

En aquellos casos donde no se cumplieron los supuestos de proporcionalidad, se llevaron a cabo diferentes modelos (Lognormal, Log-logistic, Weibull y Gompertz) de supervivencia paramétricos de tiempo de evento acelerado (reportando Times Ratios-TR) (Lee & Go, 1997). El modelo con el menor valor en el criterio de información de Akaike y el criterio de información bayesiano BIC fue seleccionado. Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni (Armstrong, 2014). Para la interpretación de los valores TR, se tuvo en cuenta que aquellos menores a 1 significaban que la ocurrencia del evento era más temprana, mientras que valores mayores a 1 indicaban que la ocurrencia del evento era más tardía.

Todos los análisis se realizaron a dos colas con una significación de 0,05. El Software STATA14® fue empleado para los análisis descritos.

8.6. Predicción de células T y B

Teniendo en cuenta que el análisis *in silico* de los epítopes contribuye a predeción de péptidos que pueden ser opciones terapéuticas, se llevó a cabo un trabajo adicional, en el que a través de herramientas inmunoinformáticas se realizó la predicción de péptidos. En este contexto, secuencias de proteínas derivadas de las serovariantes de Ct se descargaron de la base PATRIC 3.5.11 (<https://www.>

patricbrc.org) (Tabla 3) y se analizaron primero mediante el predictor de secreción de vía clásica (SignalP 5.0) (Almagro Armenteros et al., 2019), y las que no fueron asignadas por este predictor se analizaron mediante el predictor de vía no clásica (SecretomeP 2.0) (Bendtsen et al., 2005). Las proteínas predichas como secretadas, fueron seleccionadas para evaluar que péptidos que tenían una alta actividad de unión al alelo HLA-DRB1 y HLA-DQB1, usando el servidor NetMHCIIpan 3.2 del Departamento de Biología de Sistemas de la Universidad Técnica de Dinamarca (Nielsen et al., 2008). Se consideró que los péptidos con un rango <2,0% tenían una fuerte unión. Se usó la herramienta BepiPred 2.0 (el umbral de epítopes fue de 0,6) para calcular los epítopes de células B derivados de las proteínas cuyos péptidos se asociaron a un efecto de protección (Jespersen et al., 2017).

Tabla 3. Serovariante de Ct e información de acceso a la base de PATRIC

Serovariante	Genoma ID	Cepa	No. acceso BioProject	No. acceso GenBank
A	315277.5	A/HAR-13	PRJNA13885	CP000051.CP000052
B	813210	SC98	PRJNA244648	JPNC01000000
C	1431547.3	C/TW-3	PRJNA230246	CP006945.1.CP006946.1
D	813136	SQ29	PRJNA338746	CP017731
E	813.93	E-DK-20	PRJNA316787	CP015304.CP015305
F	813.94	F-6068	PRJNA316787	CP015306.CP015307
H	813137	SQ20	PRJNA338746	CP017732
Ia	813140	SQ10	PRJNA338746	CP017737
J	813145	SQ05	PRJNA338746	CP017742
Ja	813146	SQ25	PRJNA338746	CP017743
K	813147	SQ15	PRJNA338746	CP017745
L2	813316	KANU:L2 CT036::Tn	PRJNA386688	NHAU01000000
LGV	813132	cdu1::Tn	PRJNA362456	CP019385

9. RESULTADOS

9.1. Descripción de la población de estudio y tasas de infección, persistencia, depuración y reinfección de Ct.

Un total de 262 mujeres que cumplieron con los criterios de inclusión del estudio retrospectivo fueron incluidas. La media de edad fue de 41,7 años (DE= 23,1) y la mediana de edad de inicio de vida sexual fue de 18,0 años (RIC= 4,0) (Tabla 4).

Respecto a las características sociodemográficas de la población, los resultados mostraron que el 11,9% de las mujeres empleaba como método de planificación el hormonal, la mayor parte reportaron estado civil casada o unión libre (88,1%) y un 8,9% presentaron al inicio del estudio alguna anomalía cervical reportada por la citología; otras características se describen en la Tabla 4.

Tabla 4. Características demográficas y factores de riesgo de las 262 mujeres incluidas en el estudio

Variable	Años	
Edad media (DE)	41,7 (23,1)	
Edad media de la primera relación sexual (RIC)	18,0 (4,0)	
	<i>n</i>	(%)
Etnia no mestiza ^a	7	(2,6)
Más de tres parejas sexuales	55	(21,8)
Estado marital casado/cohabitando	231	(88,1)
Más de dos embarazos	37	(14,5)
Historial de abortos	93	(35,5)

Historial de enfermedades de transmisión		
sexual	60	(22,9)
Método anticonceptivo hormonal	29	(11,9)
Escolaridad, analfabeta/primaria	122	(47,8)
Procedencia, fuera de Bogotá	180	(68,7)
Promedio mensual, ingresos menos del mínimo	232	(89,6)
VPH positivo	218	(83,2)
Hallazgos citológicos anormales	23	(8,9)

^a Esta categoría incluía a las etnias indígenas y afrocolombianas

^b El ingreso mensual medio mínimo (tasa de 2020) de 877.802 pesos colombianos.

En cuanto a Ct, los resultados mostraron que el 70,2% (n=184) de las mujeres iniciaron el estudio sin infección bacteriana; la tasa de infección fue de 5,1 por cada 100 personas en un mes. Por otra parte, un 29,8% (n=78) de las mujeres iniciaron el estudio con infección por Ct, la tasa de depuración fue de 16,1 por cada 100 personas en un mes. Finalmente, en cuanto a la persistencia y la reinfección, las tasas fueron 26,0 y 15,6 por cada 100 personas en un mes, respectivamente (Figura 3).

Los análisis de Kaplan–Meier permitieron estimar la probabilidad del riesgo para cada evento (infección, depuración, persistencia y reinfección) de Ct a lo largo del periodo de seguimiento y se muestran en la Figura 4. El 50% de las mujeres que iniciaron sin infección por Ct habían adquirido la bacteria a los 12 meses de seguimiento; por otro lado, en aquellas que iniciaron con infección bacteriana, cerca del 75% habían depurado la infección pasados los 10 meses. Las infecciones de mayor persistencia duraron alrededor de 15 meses en el hospedero. Finalmente, al evaluar la proporción de reinfección en función del tiempo, se observó que la mayor parte de estos eventos ocurren al mes 8 (Figura 4).

Figura 3. Diagrama de las tasas de infección, eliminación, persistencia y reinfección.

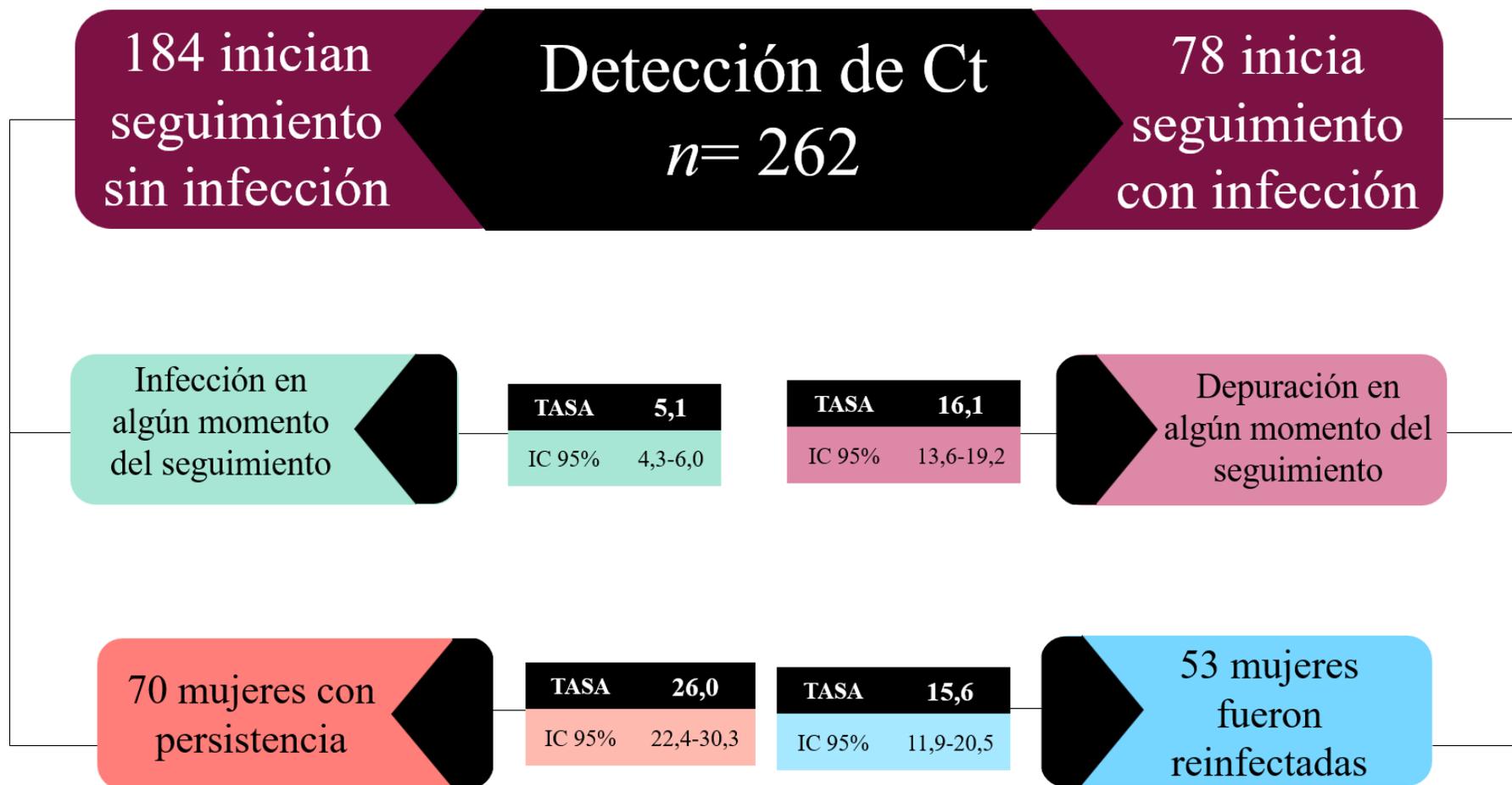
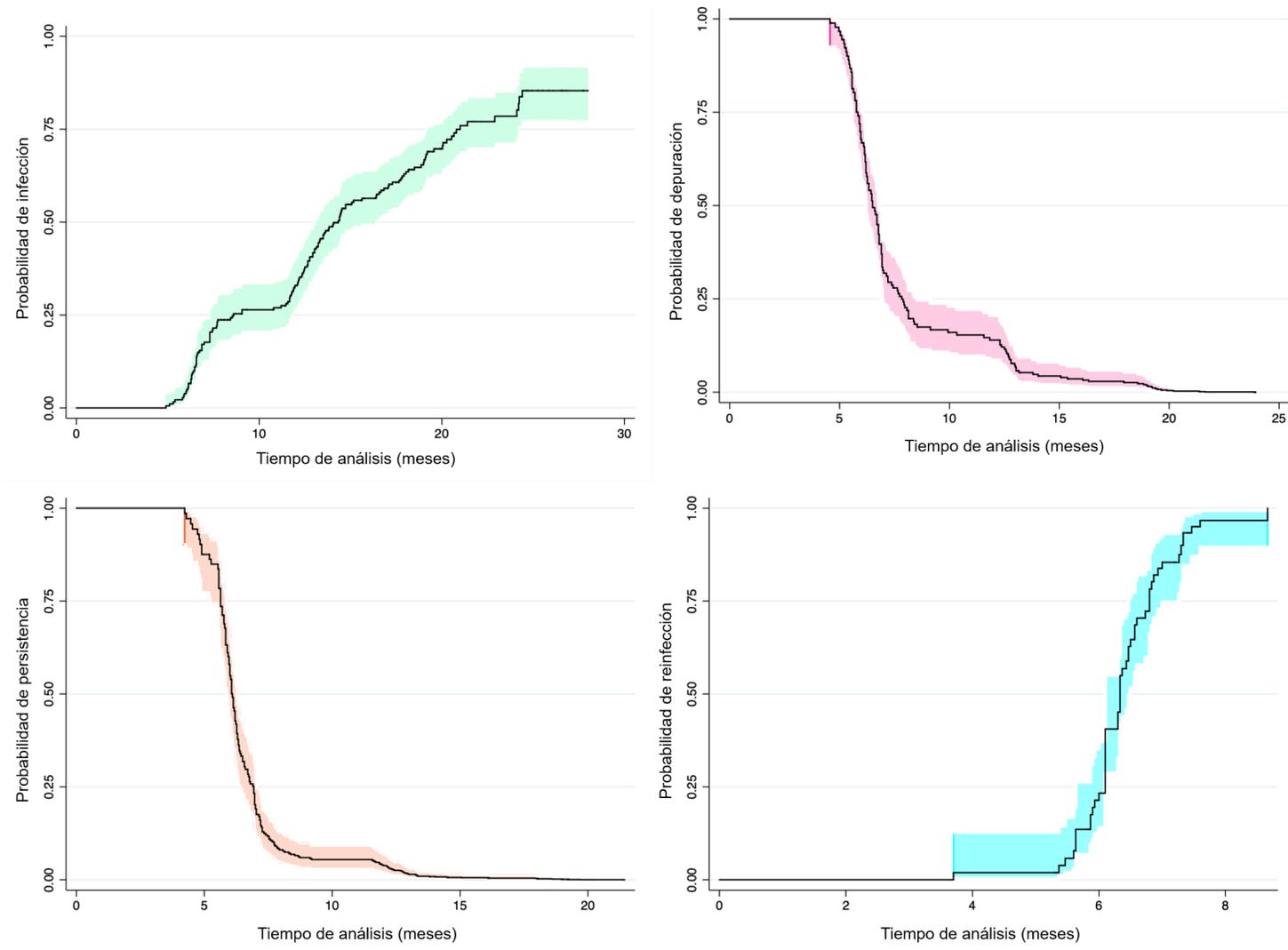


Figura 4. Gráficos de Kaplan-Meier para evaluar la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct en función del tiempo.



Al evaluar las diferencias en la distribución de las variables sociodemográficas y factores de riesgo entre los tres desenlaces considerados (infección, depuración, persistencia y redetección), se encontraron diferencias estadísticamente significativas para las variables como edad, número de parejas sexuales, método anticonceptivo, entre otras (Tabla 5); estas covariables fueron empleadas para hacer el ajuste a los modelos multivariados (semiparamétricos y paramétricos).

Tabla 5 . Distribución de covariables en relación con el resultado del Ct.

CARACTERÍSTICA	Desenlace Ct								P-valor
	Infección		Depuración		Persistencia		Reinfección		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Edad (años)									
< 30	27	14,7	12	15,4	8	11,4	8	15,1	0,001
30-40	38	20,7	27	34,6	17	24,3	14	26,4	
> 40	119	64,7	39	50,0	45	64,3	31	58,5	
Número de parejas sexuales									
Una	80	44,9	35	44,9	32	47,1	18	34,0	0,001
Dos	64	36,0	20	25,6	20	29,4	17	32,1	
≥ 3	34	19,1	23	29,5	16	23,5	18	34,0	
Método anticonceptivo									
Ninguno	66	38,4	27	38,0	28	41,8	20	41,7	0,165
Hormonal	20	11,6	6	8,5	7	10,4	6	12,5	
Otro ^a	86	50,0	38	53,5	32	47,8	22	45,8	
Edad de inicio de relaciones sexuales									
≤ 18 años	112	60,9	42	53,8	36	51,4	31	58,5	0,001
> 18 años	72	39,1	36	46,2	34	48,6	22	41,5	
Abortos									
No	72	52,9	39	52,7	23	46,0	19	48,7	0,001
Si	64	47,1	35	47,3	27	54,0	20	51,3	
Antecedentes de otras ITS									
No	141	76,6	65	83,3	61	87,1	38	71,7	0,001
Si	43	23,4	13	16,7	9	12,9	15	28,3	
Presencia de VPH									
Negativo	28	15,2	10	12,8	4	5,7	4	7,5	0,001

^a La categoría de método anticonceptivo "otros" incluía los métodos de barrera y la cirugía

9.2. Efecto de los alelos HLA-*DRB1-DQB1* en el desenlace de Ct

Un total de 47 alelos se identificaron para el locus *DRB1*, de los cuales el alelo *DRB1*04:07:01G* se encontró en mayor frecuencia en la población; para *DQB1*, se encontraron 14 alelos, siendo *DQB1*03:02:01G* el de mayor aparición en la población (Anexo 2).

Con el fin de identificar los alelos HLA-*DRB1* y *DQB1* que podrían presentar alguna asociación con los distintos eventos de *Ct* evaluados, se llevaron a cabo modelos semiparamétricos y paramétricos ajustados a las covariables y corregidos con el método Bonferroni (Anexo 3 y 4). Para HLA-*DRB1*, los resultados mostraron 19 asociaciones significativas (representadas por 16 alelos) (Tabla 6).

Tabla 6. Alelos HLA *DRB1-DQB1* asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct

Locus	Alelo	Evento	Coeff.	IC95%	Pc ^d	Efecto
DRB1	01:02:01G	Infección	8,36	1,71-4,08	0,000	Mayor Probabilidad
	01:03:01	Reinfección	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	Ocurrencia Temprana
	03:02:01	Infección	-0,98 ^b	-1,29-(-0,67)	0,000	Ocurrencia Temprana
	03:02:02	Infección	-0,55 ^b	-0,86-(-0,25)	0,000	Ocurrencia Temprana
	04:10:01G	Infección	2,91 ^b	2,49-3,36	0,000	Ocurrencia Tardía
	08:01:01G	Infección	-0,87 ^b	-1,20-(-0,54)	0,000	Ocurrencia Temprana
	08:02:01G	Persistencia	12,71	4,35-37,09	0,000	Mayor Probabilidad
		Reinfección	-0,32 ^a	-0,51-(-0,13)	0,030	Ocurrencia Temprana
	09:01:02G	Depuración	5,53	2,91-10,49	0,000	Mayor Probabilidad
	10:01:01G	Persistencia	0,33	0,19-0,57	0,000	Menor Probabilidad
	11:01:01G	Persistencia	22,20	5,70-86,49	0,000	Mayor Probabilidad
	11:01:02	Infección	3,00 ^b	2,48-3,51	0,000	Ocurrencia Tardía
	12:01:01G	Infección	3,23 ^b	2,73-3,73	0,000	Ocurrencia Tardía
		Depuración	5,53	2,91-10,49	0,000	Mayor Probabilidad
	13:05:01	Persistencia	3,67	1,74-7,75	0,032	Mayor Probabilidad

	14:01:01G	Persistencia	3,92	1,86-8,25	0,000	Mayor Probabilidad
	14:02:01G	Infección	2,40^b	1,87-3,10	0,000	Ocurrencia Tardía
		Persistencia	27,79	5,30-145,59	0,000	Mayor Probabilidad
	16:01:01	Reinfección	-0,17^a	-0,27-(-0,08)	0,000	Ocurrencia Temprana
DQB1	05:03:01G	Depuración	4,97	1,79-13,74	0,024	Mayor Probabilidad
		Persistencia	3,92	1,86-8,25	0,000	Mayor Probabilidad

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico lognormal

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos, antecedentes de otras ITS e infección por VPH.

Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones verdes y rojas, respectivamente.

Para la infección por Ct, un total de 8 alelos fueron significativos, 4 de ellos (*DRB1**01:02:01G, *03:02:01, *03:02:02 and *08:01:01G) favoreciendo la infección bacteriana (con efecto de mayor probabilidad ó ocurrencia temprana), mientras que los otros 4 alelos (*DRB1**04:10:01G, *11:01:02, *12:01:01G and *14:02:01G) no favorecían el evento es decir presentaban baja probabilidad y ocurrencia tardía del mismo.

En cuanto a los eventos de depuración, dos alelos (*DRB1**09:01:02G y *12:01:01G) presentaron un efecto a favor de la eliminación bacteriana, es decir mayor probabilidad (Tabla 6).

En cuanto a la persistencia, los resultados mostraron que 5 alelos (*DRB1**08:02:01G, *11:01:01G, *13:05:01 *14:01:01G y *14:02:01G) tuvieron un comportamiento favorable a la permanencia de la bacteria, con un efecto de mayor probabilidad, y solo uno (*DRB1** 10:01:01G) presentó un comportamiento contrario con una menor probabilidad de persistencia (Tabla 6).

En cuanto a los eventos de reinfección, 3 alelos (*DRB1**01:03:01, *08:02:01G y *16:01:01) fueron significativamente asociados favoreciendo el evento de ocurrencia temprana del mismo (Tabla 6).

Finalmente, tres alelos *DRB1* se encontraron relacionados con más de un evento; el alelo *DRB1*08:02:01G* presentó una mayor probabilidad de persistencia y ocurrencia tardía de la reinfección. El alelo *DRB1*12:01:01G* tuvo un comportamiento de ocurrencia tardía en el evento de infección y se observó una mayor probabilidad de presentar depuración. El alelo *DRB1*14:02:01G* presentó un comportamiento diferente en distintos eventos; se determinó un efecto de ocurrencia tardía para la infección, mientras que se observó una mayor probabilidad para el evento de persistencia.

En cuanto a *HLA-DQB1* se identificaron 14 alelos en la población estudiada; de éstos, sólo el alelo *DQB1*05:03:01G* se relacionó con más de un evento, siendo observado un efecto de mayor probabilidad en los eventos de depuración y de persistencia (Tabla 6).

Por otra parte, se evaluó el efecto de la homocigocidad de alelos *HLA-DRB1* y *HLA-DQB1*. Los resultados mostraron que para homocigocidad de *HLA-DRB1* se observó menor probabilidad en la depuración y mayor probabilidad en la persistencia (Tabla 7).

Tabla 7. Efecto de la homocigocidad de *HLA DRB* y *DQB1* en la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct.

Locus		Desenlace Ct			
		Infección	Depuración	Persistencia	Reinfección
<i>DRB1</i>	Coeff	-0,27	0,58	0,20	NA
	IC95%	-0,57-0,51	0,37-0,52	0,05-0,36	
	P	0,922	0,000	0,000	
	Pc	.	0,000	0,000	
	HR	0,57	1,30	0,54	0,49
<i>DQB1</i>	IC95%	-0,25-0,37	0,80-2,11	0,26-1,12	0,10-2,23
	P	0,721	0,279	0,101	0,358
	Pc

9.3. Efecto de los haplotipos HLA-*DRB1-DQB1* en el desenlace de Ct

Se identificaron 142 haplotipos HLA *DRB1-DQB1* en la población de estudio (Anexo 5 y 6); los resultados mostraron 56 asociaciones significativas (representadas en 47 haplotipos) (Tabla 8). Para los eventos de infección se encontraron 27 asociaciones, donde 16 favorecen el evento de infección, es decir presentan mayor probabilidad y ocurrencia temprana (p.ej. *DRB1*01:02:01G-DQB1*03:03:02G*), mientras que 11 haplotipos mostraron una ocurrencia tardía de las infecciones bacterianas; un ejemplo de esto es el haplotipo *DRB1*12:01:01G-DQB1*03:02:01G* (Tabla 8 y Anexo 5).

Para los eventos de depuración, se observó que los haplotipos *DRB1*09:01:02G-DQB1*03:01:01G* y *DRB1*12:01:01G-DQB1*03:02:01G* tenían un comportamiento favorable estableciendo una ocurrencia temprana del evento, por el contrario, el haplotipo *DRB1*04:05:01-DQB1*03:01:01G* presentó una menor probabilidad del mismo (Tabla 8 y Anexo 5).

Para la persistencia, los resultados mostraron 18 asociaciones, donde 16 favorecían el evento, es decir presentaba una mayor probabilidad ó una ocurrencia temprana, siendo los haplotipos *DRB1*04:05:01-DQB1*03:01:01G* y *DRB1*11:01:01G-DQB1*03:02:01G* los de mayor efecto. Por el contrario, los haplotipos *DRB1*10:01:01G-DQB1*05:01:01G* y *DRB1*14:02:01G-DQB1*05:01:01G* no favorecen el evento de persistencia de Ct, ya que mostraron una menor probabilidad u ocurrencia tardía.

En los casos de reinfección, se encontraron 8 haplotipos asociados; todos ellos tenían un comportamiento que favorecía el evento, es decir mayor probabilidad ó ocurrencia temprana (Tabla 8 y Anexo 6).

Por último, encontramos que 9 haplotipos presentaban relación con más de un evento; 6 de ellos presentaron un efecto en el mismo sentido, por ejemplo *DRB1*04:05:01-DQB1*02:01:01G* con ocurrencia temprana de la infección y reinfección de Ct, y el haplotipo *DRB1*12:01:01G-DQB1*03:02:01G* con ocurrencia

tardía en la infección y mayor probabilidad de depuración (Tabla 8). Por otro lado, los haplotipos *DRB1*01:01:01G-DQB1*03:01:01G*, *DRB1*13:05:01-DQB1*03:01:01G* y *DRB1*13:05:01-DQB1*03:02:01G*, presentaron un efecto contrario en los eventos, es decir ocurrencia tardía en eventos de infección y ocurrencia temprana en persistencia (Tabla 8).

Tabla 8. Haplotipos HLA *DRB1-DQB1* asociados con la infección, depuración, persistencia y redetección de *Ct*

Haplotipo <i>DRB1 DQB1</i>	Evento	Coeff.	IC95%	Pc ^d	Efecto
01:01:01G 03:01:01G	Infección	2,73 ^b	2,21-3,25	0,000	Ocurrencia Tardía
	Persistencia	0,48 ^a	0,31-0,66	0,000	Ocurrencia Temprana
01:01:01G 03:02:01G	Persistencia	4,76	2,03-11,14	0,000	Mayor Probabilidad
01:01:01G 03:03:02G	Infección	3,10 ^b	2,61-3,59	0,000	Ocurrencia Tardía
01:02:01G 03:03:02G	Infección	14,82	4,54-48,31	0,000	Mayor Probabilidad
01:03:01 02:01:01G	Persistencia	9,52	2,77-32,71	0,000	Mayor Probabilidad
	Reinfección	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	Ocurrencia Temprana
01:03:01 03:01:01G	Infección	-1,27 ^b	-1,64-(-0,90)	0,000	Ocurrencia Temprana
01:03:01 03:02:01G	Infección	2,97 ^b	2,44-3,49	0,000	Ocurrencia Tardía
01:03:01 05:01:01G	Persistencia	9,52	2,77-32,71	0,000	Mayor Probabilidad
	Reinfección	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	Ocurrencia Temprana
03:01:01G 05:01:01G	Infección	14,08	5,36-36,96	0,000	Mayor Probabilidad
03:02:01 04:02:01G	Infección	-0,98 ^b	-1,29-(-0,67)	0,000	Ocurrencia Temprana
03:02:02 03:01:01G	Infección	-0,55 ^b	-0,86-(-0,25)	0,000	Ocurrencia Temprana
04:02:01 03:01:01G	Infección	0,83 ^b	0,41-1,26	0,000	Ocurrencia Temprana
04:03:01G 02:01:01G	Persistencia	5,25	2,10-13,15	0,000	Mayor Probabilidad
04:03:01G 03:01:01G	Infección	5,32	2,58-10,95	0,000	Mayor Probabilidad
04:03:01G 03:02:01G	Persistencia	6,89	2,82-16,83	0,000	Mayor Probabilidad
04:05:01 02:01:01G	Infección	-0,80 ^b	-1,30-(-0,48)	0,000	Ocurrencia Temprana
	Reinfección	-0,47 ^a	-0,61-(-0,34)	0,000	Ocurrencia Temprana
04:05:01 03:01:01G	Depuración	0,23	0,11-0,47	0,000	Menor Probabilidad
	Persistencia	51,72	10,70-249,94	0,000	Mayor Probabilidad
04:05:04 03:02:01G	Infección	3,08 ^b	2,57-3,59	0,000	Ocurrencia Tardía
04:08:01 02:01:01G	Infección	3,10 ^b	2,60-3,61	0,000	Ocurrencia Tardía
04:08:01 03:01:01G	Infección	3,10 ^b	2,60-3,61	0,000	Ocurrencia Tardía

07:01:01G	02:01:01G	Reinfección	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	Ocurrencia Temprana
07:01:01G	03:02:01G	Persistencia	5,25	2,10-13,15	0,000	Mayor Probabilidad
07:01:01G	05:01:01G	Persistencia	9,52	2,77-32,71	0,000	Mayor Probabilidad
		Reinfección	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	Ocurrencia Temprana
07:11	04:02:01G	Infección	2,63 ^b	2,14-3,12	0,000	Ocurrencia Tardía
08:01:01G	03:01:01G	Infección	-0,87 ^b	-1,20-(-0,54)	0,000	Ocurrencia Temprana
08:02:01G	03:01:01G	Persistencia	31,40	5,96-165,42	0,000	Mayor Probabilidad
09:01:02G	03:01:01G	Depuración	5,53	2,91-10,49	0,000	Mayor Probabilidad
10:01:01G	05:01:01G	Persistencia	0,36	0,21-0,62	0,000	Menor Probabilidad
11:01:01G	03:01:01G	Persistencia	21,83	5,62-84,75	0,000	Mayor Probabilidad
11:01:01G	03:02:01G	Persistencia	51,72	10,70-249,94	0,000	Mayor Probabilidad
11:04:01G	02:01:01G	Persistencia	10,34	2,87-37,24	0,000	Mayor Probabilidad
11:04:01G	03:02:01G	Infección	0,65 ^b	0,38-0,92	0,000	Ocurrencia Temprana
11:04:01G	05:01:01G	Infección	-1,27 ^b	-1,64-(-0,90)	0,000	Ocurrencia Temprana
		Infección	3,23 ^b	2,73-3,73	0,000	Ocurrencia Tardía
12:01:01G	03:02:01G	Depuración	5,53	2,91-10,49	0,000	Mayor Probabilidad
		Reinfección	-0,17 ^a	-0,27-(-0,08)	0,000	Ocurrencia Temprana
13:01:01G	06:02:01G	Infección	9,58	4,44-20,64	0,000	Mayor Probabilidad
13:03:01G	04:02:01G	Infección	-1,07 ^b	-1,44-(-0,71)	0,000	Ocurrencia Temprana
13:05:01	03:01:01G	Infección	2,50 ^b	1,87-3,13	0,000	Ocurrencia Tardía
		Persistencia	4,20	1,97-8,95	0,000	Mayor Probabilidad
13:05:01	03:02:01G	Infección	2,50 ^b	1,87-3,13	0,000	Ocurrencia Tardía
		Persistencia	4,20	1,97-8,95	0,000	Mayor Probabilidad
14:02:01G	03:02:01G	Infección	0,69 ^b	0,41-0,97	0,000	Ocurrencia Temprana
14:02:01G	04:02:01G	Persistencia	31,42	5,96-165,42	0,000	Mayor Probabilidad
14:02:01G	05:01:01G	Persistencia	0,48 ^a	0,31-0,66	0,000	Ocurrencia Temprana
15:01:01G	05:02:01G	Infección	-0,98 ^b	-1,29-(-0,67)	0,000	Ocurrencia Temprana
15:01:01G	06:03:01G	Infección	9,58	4,44-20,64	0,000	Mayor Probabilidad
16:01:01	05:02:01G	Reinfección	-0,17 ^a	-0,27-(-0,08)	0,000	Ocurrencia Temprana
16:01:01	06:03:01G	Reinfección	-0,17 ^a	-0,27-(-0,08)	0,000	Ocurrencia Temprana
16:02:01G	05:01:01G	Infección	2,73 ^b	2,21-3,25	0,000	Ocurrencia Tardía

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico lognormal

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos, antecedentes de otras ITS e infección por VPH.

Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones verdes y rojas, respectivamente.

9.4. Péptidos asociados a eventos de Ct

Para la predicción de epítopes se seleccionaron proteínas reportadas en otros estudios, y que presentaban alguna asociación con la inmunidad protectora o la susceptibilidad hacia las infecciones por Ct (De la Maza et al., 2017). Con el fin de garantizar que estas proteínas son transportadas al medio externo y entran en contacto directo con el sistema inmune, se llevó a cabo la predicción de su vía de secreción (Tabla 9) (De la Maza et al., 2017; Hong Yu et al., 2012).

Tabla 9. Predicción de vías de secreción clásica y no clásica para las proteínas Ct

Nombre de la proteína	Vía de secreción	
	Clásica	No clásica
	SignalP 5.0	SecretomeP 2.0
3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase	-	x
Anti-sigma B factor antagonist RsbV	-	x
Clp protease proteolytic subunit ClpP	-	-
Clp protease proteolytic subunit ClpP-2	-	-
HSP60 family chaperone GroEL-1	-	-
HSP60 family chaperone GroEL-2	-	-
HSP60 family chaperone GroEL-3	-	-
HSP60 family chaperone GroEL-4	-	-
Hypothetical protein-CPAF	x	-
Hypothetical protein-OMP-A (MOMP)	x	-
Hypothetical protein-OMP-C	x	-
Hypothetical protein-PMP-A	-	x
Hypothetical protein-PMP-B	-	x
Hypothetical protein-PMP-D	x	-
Hypothetical protein-PMP-F	x	-
Hypothetical protein-PMP-G	-	x
Inclusion membrane protein-11_incA	-	-
LSU ribosomal protein L6p (L9e)-Rplf	-	x
NAD-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	-	-
Ortholog of Bordetella pertussis	-	-

Outer membrane protein B precursor	x	-
Outer membrane protein H precursor-OMP-H	x	-
Virulence plasmid protein (VPP) pGP3-D	-	x

Un total de 23 proteínas fueron preseleccionadas, de las cuales 14 mostraron señales de secreción por la vía clásica o no clásica (Tabla 9); posteriormente, a través de herramientas inmunoinformáticas se obtuvo una predicción de 109 péptidos en 13 proteínas (de las 14 seleccionadas) (Anexo 7-20).

De los péptidos predichos, se encontraron epítopes de células T que se unían fuertemente a las moléculas HLA-*DRB1* pero no a las moléculas HLA-*DQB1*. Para la proteína OMP (A, B, C y H), se predijeron 25 péptidos donde 7 se relacionaron con la protección, debido a que se encontró una fuerte unión predicha a alelos que presentaban efectos favorables sobre la infección (ocurrencia tardía) y un efecto no favorecedor para la persistencia (baja probabilidad) (Anexo 17-20). De acuerdo a los trabajos experimentales desarrollados para esta proteína, donde se demuestra que es capaz de inducir la protección de forma sólida, además de contar con especificidad sobre epítopes de varias serovariantes, es un buen candidato a ser evaluado en la formulación de vacunas (De la Maza et al., 2017).

Por otro lado, para la PMP (A, D y G) se observó un efecto opuesto, 19 péptidos de los 38 evaluados tuvieron predicción de unión fuerte con alelos que favorecían los eventos de infección, persistencia y reinfección (mayor susceptibilidad); sin embargo, 14 péptidos presentaron una unión con alelos que confirieron protección contra Ct para los eventos de infección y alelos con efectos favorables en eventos de depuración (mayor probabilidad) (Anexo 10-15).

Adicionalmente, los resultados mostraron la predicción de varios péptidos derivados de una misma proteína, y que son específicos para un determinado HLA, por ejemplo los péptidos derivados de la proteína PMP-C, que presentan predicción de unión al alelo *DRB1*14:02*, se relacionan a dos eventos de forma opuesta; para la infección presentan un efecto favorable (ocurrencia tardía) y para la persistencia uno no favorable (mayor probabilidad); estos hallazgos podrían en parte explicar

porque se observaron efectos contrarios para un mismo alelo HLA respecto a los eventos de Ct.

Para diversas proteínas estudiadas se observaron comportamientos variables; en el análisis de la proteína 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase, se encontraron 5 péptidos, donde 4 tenían fuertes uniones predichas a alelos que presentaban efectos favorables (mayor probabilidad) sobre los eventos de infección y persistencia, el péptido restante se asoció al alelo *DRB1*09:01* que establecía una mayor probabilidad de depuración, otorgando un efecto protector en el hospedero (Anexo 7).

De las diferentes proteínas evaluadas, sólo para CPAF no se encontraron epítopes de unión fuerte predichos para alelos HLA-*DRB1-DQB1*, por lo que no se presentó relación con algún evento (Anexo 9).

Finalmente, se analizaron las regiones proteicas con potencial para ser epítope de células B; los resultados mostraron que 11 de éstos presentaron regiones con potencial para ser epítopes de células B, destacando así su posible papel como mediadores de la respuesta inmune humoral y/o celular (Tabla 10).

Tabla 10. Predicción del epítopes de células T o B

Nombre proteína	Evento	Locus	Alelo	Efecto	Péptido
3-OXO-RED	Depuración		*09:01	Mayor probabilidad	RGSPGQTN YAAAKAGII GFS
OMP-C	Infeción		*04:10	Ocurrencia tardía	MAESLSTNVISLADTKAKDN
	Depuración		*09:01	Mayor probabilidad	SYVCKPVE YVIVSVNPG DLV VENPV PDGYAHSSGQRV LTF
PMP-A	Infeción		*04:10	Ocurrencia tardía	ANKKGGAI YAQYVNLE QNNQD SGDFAGSR ILFLNNQQI TFE
			*12:01		EDVANRTSIFNQPVHLY NGT ^a
	Depuración		*09:01	Mayor probabilidad	PFFSPKGM IVFSGANLL DDA ^a
PMP-B	Infeción		*04:10	Ocurrencia tardía	TCENSHRLQFLKNSSDK QGG SITNITGII EIANNKATDVG VSFENITSLKVQTN GAE EKG
		Persistencia	*10:01		Menor probabilidad
					GAIAAQEIVSIQNNQ AGISF NCELVDNGYVLF RDNRGRVY
PMP-D			*04:10		
PMP-F	Infeción		*04:10	Ocurrencia tardía	RGKAEQP ILSIETTNDG QLG
			*12:01		GAIRSGGPIRFLNNQ DVLFY ^a
PMP-G			*04:10		VAGVRGGG IAAVQDGG QGV S
			*12:01		EIGVGLP IVITPSKLY LNEL ^a GTIYSKTD LLLLNNEK FSFY ^a
LSU					I AVKGNEVFVTPAAH VDRP
OMP-B	Depuración		*09:01	Mayor probabilidad	RH ASCPIDYIIANSQAN PEV ^b
OMP-H	Infeción		*04:10	Ocurrencia tardía	VLLNEDI VLSIDSSAD KTDA SSADKTD AVIKVLDDSF QNN
	Persistencia		*10:01	Menor probabilidad	AAELRKKFEDLSAEY NTA QG
VPP	Depuración		*09:01	Mayor probabilidad	EPLKDQ QIILGTT STP VAAK

Se muestra la predicción del epítopo de células T (verde) o de células B (rojo); las regiones con doble predicción se muestran en purpura

^a Péptidos que podrían estar relacionados con mayor probabilidad de eliminación cuando son presentados por el mismo alelo

^b Este péptido además se relacionó con la menor probabilidad de persistencia de Ct cuando se presenta por el alelo *DRB1*10:01*

10. DISCUSIÓN

Ct es la bacteria más común transmitida por contacto sexual a nivel mundial; su infección crónica puede generar consecuencias graves para la salud sexual y reproductiva (Leonard & Borel, 2014). La evaluación simultánea de la respuesta inmune del hospedero y la dinámica de la infección por Ct proporciona una alternativa para desarrollar herramientas de control eficaces (Unemo et al., 2017; Ziklo et al., 2016).

En Colombia, el seguimiento de las infecciones por Ct y las patologías generadas como consecuencia de ésta son pobremente evaluadas, lo que puede llevar a un diagnóstico tardío y, a la vez, tiempos de respuesta poco oportunos a los tratamientos. En nuestro conocimiento, este es el primer estudio inmunológico que ha evaluado el efecto de los alelos HLA *DRB1-DQB1* en el resultado de la infección por Ct.

Para HLA-*DRB1*, sólo se ha visto asociado *DRB1*15:03*, relacionado con eventos de infección y a algunas patologías asociadas a Ct (Cohen et al., 2003). En nuestro análisis, se encontró que los alelos HLA-*DRB1* se asociaron a la presencia de Ct en el cuello uterino, específicamente se relacionó una mayor cantidad de alelos asociados al favorecimiento de la infección (*DRB1*01:02:01G*, **03:02:01*, **03:02:02* y **08:01:01G*); algunos de éstos, son menos frecuentes a los reportados previamente, en comparación con los encontrados en la población estudiada. Si bien la diversidad alélica puede explicarse mediante procesos coevolutivos entre los patógenos y el CMH, los cambios en la frecuencia de algunos alelos pueden ser atribuidos a la composición racial de la población estudiada. La baja frecuencia de alelos asociados a protección puede deberse a una adaptación de los patógenos para persistir en la población con alelos más frecuentes, pero asociados a susceptibilidad (Borghans et al., 2004; Hedrick, 2002).

Estudios anteriores han reportado asociaciones entre los alelos *DQB1*06* y *DQB1*04:02* con eventos de infección, reinfección por Ct y el aumento del marcador

de persistencia bacteriana (cHSP60) (Geisler et al., 2004; Olson et al., 2019). No obstante, en nuestra población de estudio, estas mismas asociaciones no fueron halladas; en nuestro caso, reportamos la asociación a los eventos de Ct sólo para el alelo *DQB1*05:03:01G*, esta discrepancia presentada, y de acuerdo con reportes previos, podría deberse a diferencias en las poblaciones analizadas, puesto que estudios anteriores fueron llevados a cabo en la población africana, que presenta antecedentes genéticos propios de su étnia y que podrían contribuir a la modulación en la respuesta inmune frente a la infección bacteriana (Mosaad, 2015; Ness et al., 2004). Sin embargo, una mayor cantidad de alelos *HLA-DQB1* mostraron efectos significativos al ser configurados como haplotipos (Tabla 8); esto puede deberse a la diversidad de las poblaciones existentes en Colombia, en gran medida por la mezcla étnica y algunos eventos de migración ocurridos durante la colonización (Homburger et al., 2015).

Las diferencias en los alelos asociados dentro de nuestra población de estudio en comparación con análisis previos, pueden deberse a la técnica de tipificación empleada y la diversidad intra e interpoblacional que ha sido reportada como consecuencia del alto nivel polimórfico presentado por el sistema HLA (Sanchez-mazas & Meyer, 2014).

Nuestros resultados mostraron que la homocigocidad de alelos *HLA-DRB1* favorece la permanencia de Ct en el hospedero (Tabla 7); se ha reportado que la homocigocidad está relacionada con la susceptibilidad a las infecciones, mientras que la heterocigocidad se asocia con una mayor probabilidad de depuración; esto puede explicarse por la mayor cantidad de epítopes restringidos a HLA-II que puede presentar a las células T un heterocigoto, con respecto a un homocigoto; esta propiedad permite potenciar la respuesta inmune, favoreciendo la eliminación de los patógenos (Blackwell et al., 2009; Burgner et al., 2006; Hedrick, 2002).

Datos adicionales obtenidos, destacaron la importancia de algunos péptidos predichos para diferentes proteínas bacterianas, entre ellos los encontrados para la proteína n3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductasa 1, donde el péptido

RGSPGQNTNYAAAKAGIIGFS que presentó una unión predicha fuerte al alelo *DRB1**09:01 se asoció a eventos que favorecían la eliminación de Ct (Anexo 7). Esta proteína junto con su péptido derivado fue descrito previamente en un estudio de inmunoproteómica, donde se observó que a través de la inoculación de células dendríticas previamente pulsadas con una mezcla de péptidos (que incluía el péptido anteriormente mencionado) se podía desencadenar una respuesta capaz de proteger de forma parcial a los ratones de la infección intranasal y del tracto genital por Ct (Karunakaran et al., 2008). De esta forma, se confirma que el uso de predicciones bioinformáticas es de gran ayuda y permite realizar acercamientos hacia el uso y confirmación biológica de sus productos, por lo que se reduce sustancialmente la cantidad de experimentos que hay que realizar *in vitro* o *in vivo*.

Por otro lado, se ha descrito en modelos murinos transgénicos que péptidos derivados de la proteína CPAF asociados con HLA-DR4 (*HLA-DRB1**04:01), presentan un efecto que induce la protección hacia Ct (Weidang et al., 2013); sin embargo, en el presente estudio, no encontramos predicción de péptidos para esta proteína (Anexo 9); esto puede deberse a la baja frecuencia de este alelo en nuestra población (menos del 0,2%), lo que además sugiere un efecto alelo-específico.

Las proteínas OMP y PMP exhibieron varias regiones con epítopes de células T, siendo los más importantes aquellos relacionados con eventos asociados a la eliminación de las infecciones de Ct (Anexo 10-20). Interesantemente, encontramos discrepancias entre varios eventos que podrían explicarse por mutaciones presentadas en el núcleo de unión para algunos péptidos predichos derivados de PMP (PMP-B y PMP-F), y que permiten discriminar entre variantes invasivas (L2 y LGV) y no invasivas (A, B, C, D, E, F, H, J, Ja y La) (Anexo 12 y 14). Ha sido previamente reportado que la vacunación con varios serovares de las OMPs (D, E and F) provoca una respuesta de anticuerpos que neutralizan las bacterias *in vitro* (Olsen et al., 2015). Por otra parte, las PMPs son capaces de desencadenar una respuesta inmune frente a la infección por Chlamydia a nivel genital, ocular y una respuesta serológica en humanos (Inic-Kanada et al., 2015; Karunakaran et al., 2008; Vasilevsky et al., 2016). Además, ratones vacunados con péptidos derivados

de PMPs (G, E y F) o con los inmunógenos en formulación, desarrollan inmunidad contra la infección por Chlamydia a nivel del tracto genital y pulmonar, reduciendo de forma significativa las unidades formadoras de inclusión de la bacteria (H Yu et al., 2008; Hong Yu et al., 2012).

Estos hallazgos, junto con los previamente descritos, soportan la idea de que los epítopes de células T derivados de los antígenos aquí analizados (principalmente moléculas derivadas de la superficie, en particular las que se encuentran totalmente conservadas) servirían como candidatos óptimos para una proponer una vacuna basada en subunidades; de esta forma, se requiere ampliar la actividad científica e investigativa con el fin de confirmar esta hipótesis.

Dado que las herramientas empleadas hasta el momento en el control de Ct no han mostrado un impacto significativo en la reducción de la carga de las infecciones bacterianas, el desarrollo de nuevos blancos profilácticos o terapéuticos están siendo de alta prioridad. Al evaluar epítopes de células B vinculados con eventos que favorecen la eliminación de Ct, se encontró que algunos pueden estimular específicamente las células B mientras que otros pueden ser presentados tanto a células T como B (Tabla 10); considerando que las células T CD4 son esenciales para resolver la infección genital primaria (incluyendo su capacidad de potencial la respuesta B) y las células T CD8 son importantes para eliminar las células infectadas por Ct mediante mecanismos efectoras, péptidos que estimulan los diferentes tipos de respuesta efectora (B, T CD4 y T CD8), podrían considerarse más adecuados para controlar la infección por Ct y, por lo tanto, como candidatos prometedores para futuros blancos para formulaciones profilácticas (Tabla 10). Adicionalmente, péptidos antigénicos reconocidos por las células T CD4 y CD8 podrían ser prometedores candidatos a herramientas diagnósticas y terapéuticas, ya que una de las principales limitaciones para desarrollar una vacuna eficaz, radica en la identificación de epítopes de Ct capaces de ser reconocidos por ambos tipos de células (Russi et al., 2018); además, una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos reduciría la carga bacteriana, lo que facilitaría una mayor eliminación

de la infección a través de una respuesta celular (Olsen et al., 2015; Russi et al., 2018).

Sin embargo, no se puede excluir el papel de otros factores involucrados en la respuesta inmune y que también podrían estar relacionados con la respuesta a los diferentes desenlaces, por lo que esto constituye una limitante del estudio. En este sentido, futuros estudios deben llevarse a cabo a fin de validar las propiedades inmunogénicas de los epítopes predichos con el fin de incluirlos en el desarrollo de una vacuna contra Ct.

El abordaje de nuevos objetivos profilácticos y terapéuticos deberá convertirse en una prioridad, ya que las herramientas y mecanismos usados hasta la fecha para el control de Ct no han tenido un impacto significativo en la reducción de las infecciones bacterianas. El desarrollo de este proyecto permite ampliar la información propuesta por otras investigaciones y desarrolla futuras propuestas científicas que generen medidas de prevención eficaces contra las infecciones por Ct, adicionalmente, se describe por primera vez los alelos y haplotipos HLA-*DRB1* y HLA-*DQB1* relacionados con la resolución de la infección por Ct y los péptidos potencialmente implicados en la respuesta inmune del hospedero.

11. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Factores como la edad, número de parejas sexuales y la presencia de VPH, mostraron diferencias estadísticamente significativas en su distribución de acuerdo a los eventos de Ct evaluados (infección, persistencia, depuración y persistencia).

Alelos HLA-*DRB1* y HLA-*DQB1* se encontraron asociados significativamente con la resolución o no de las infecciones por Ct; muchos de los alelos identificados en el presente estudio, son reportados por primera vez como relacionados con un efecto en el curso clínico de las infecciones por Ct.

Se encontró que la homocigidad de los alelos HLA-*DRB1* favorecía la permanencia de Ct en el hospedero, observando que estos alelos se relacionaron con efectos de menor probabilidad en los eventos de depuración y un efecto de mayor probabilidad en la persistencia.

Los alelos identificados para el locus *DRB1* representan un efecto significativo sobre los distintos eventos evaluados; estudios previos han relacionado en mayor proporción la presencia de *DQB1* con efectos favorables y no favorables sobre las infecciones por Ct, pero es claro que las poblaciones estudiadas tienen diferentes orígenes étnicos y geográficos, lo que destaca la importancia de llevar a cabo análisis extensos en la población colombiana debido a su alto grado de variabilidad genética.

Se identificaron 142 haplotipos HLA *DRB1-DQB1* en la población de estudio, de los cuales 47 (56 asociaciones) se asociaron significativamente a los distintos eventos evaluados; en estudios previos estos alelos de forma individual fueron reportados con un impacto directo sobre las infecciones por Ct, mientras que en nuestro estudio, al configurarse como haplotipos, presentaron efectos significativos sobre los eventos analizados.

La predicción de péptidos mostró que algunos de ellos pueden ser reconocidos por las células T CD4 y B; estos podrían ser prometedores candidatos a herramientas diagnósticas y terapéuticas, puesto que una de las principales limitaciones para desarrollar una vacuna eficaz radica en identificar epítopes bacterianos capaces de ser reconocidos por ambos tipos de células, facilitando una mayor eliminación de la infección.

Recomendaciones

Se recomienda llevar a cabo futuros estudios con un mayor número de participantes y de muestras que permiten dar un panorama más amplio de alelos/haplotipos y algunos claves involucrados en el curso clínico de las infecciones por Ct.

El análisis principal del estudio se centro en la identificación de los alelos HLA-*DRB1-DQB1* asociados con los desenlaces de las infecciones por Ct, a su vez, se mostró el abordaje a través de herramientas inmuno-informáticas que permitieron predecir blancos potenciales a ser usados en futuras vacunas; no obstante, los análisis futuros deben estar dirigidos a validar las propiedades inmunogénicas e inmunológicas *in vitro* e *in vivo* de los epítopes predichos, y su seguridad y eficacia en modelos experimentales y, posteriormente en humanos. Dichos datos proporcionarán conocimientos relevantes para comprender la utilidad de los péptidos como componente de la vacuna y la influencia de los factores del huésped en el curso clínico de la infección por Ct.

Dada la importancia de la respuesta mediada por LT CD8 frente a Ct, valdría la pena estudiar, a futuro, la asociación de los alelos del CMH clase I clásicos (HLA-A, -B y -C) en el desenlace de la infección por Ct en la población colombiana.

12. PRODUCTOS

12.1. Generación de nuevo conocimiento

Tipo de producto	Resultado	Beneficiario	Medio de verificación
Artículo científico	Identifying HLA <i>DRB1-DQB1</i> alleles associated with <i>Chlamydia trachomatis</i> infection and in silico prediction of potentially-related peptides	Comunidad académica y científica de carácter nacional e internacional	Artículo publicado en la revista Scientific Reports (FI: 4.380; Q1). (Anexo 21)

13. BIBLIOGRAFÍA

- Abdelsamed, H., Peters, J., & Byrne, G. (2013). Genetic variation in *Chlamydia trachomatis* and their hosts: impact on disease severity and tissue tropism. *Future Microbiology*, 9(2), 1129–1146. <https://doi.org/10.2307/2800087>
- Almagro Armenteros, J. J., Tsirigos, K. D., Sønderby, C. K., Petersen, T. N., Winther, O., Brunak, S., von Heijne, G., & Nielsen, H. (2019). SignalP 5.0 improves signal peptide predictions using deep neural networks. *Nature Biotechnology*, 37(4), 420–423. <https://doi.org/10.1038/s41587-019-0036-z>
- Anaene, M., Soyemi, K., & Caskey, R. (2016). International Journal of Infectious Diseases Factors associated with the over-treatment and under-treatment of gonorrhea and chlamydia in adolescents presenting to a public hospital emergency department. *International Journal of Infectious Diseases*, 53, 34–38. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.10.009>
- Anaya, J., Shoenfeld, Y., Rojas, A., Levy, R., & Cervera, R. (2000). Autoimmunity From Bench to Bedside. In *Cancer and Autoimmunity*. <https://doi.org/10.1016/b978-0-444-50331-2.x5000-0>
- Anttila, T., Saikku, P., Koskela, P., Bloigu, A., Dillner, J., & Ikaheimo, I. (2001). Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and Risk for Development of Cervical Squamous Cell Carcinoma. *JAMA*, 285(1), 47–51.
- Armstrong, R. A. (2014). When to use the Bonferroni correction. *Ophthalmic & Physiological Optics : The Journal of the British College of Ophthalmic Opticians (Optometrists)*, 34(5), 502–508. <https://doi.org/10.1111/opo.12131>
- Arrazola-García, M. A. (2005). Tipificación de los alelos HLA clases I y II. *Revista Médica Del IMSS*, 43.
- Bavoil, P., Kaltenboeck, B., & Greub, B. (2013). In *Chlamydia veritas*. *Pathogens and Disease*, 67(February), 89–90. <https://doi.org/10.1111/2049-632X.12026>

- Bendtsen, D. J., Lars, K., Anders, F., & Søren, B. (2005). Non-classical protein secretion in bacteria. *BMC Microbiology*, 5, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-58>
- Bhatla, N., Puri, K., Joseph, E., Kriplani, A., Iyer, V., & Sreenivas, V. (2013). No Association of Chlamydia trachomatis infection with human papillomavirus (HPV) & cervical intraepithelial neoplasia - a pilot study Title. *Indian J Med Res*, 137(3), 533–539.
- Blackwell, J. M., Jamieson, S. E., & Burgner, D. (2009). HLA and infectious diseases. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), 370–385. <https://doi.org/10.1128/CMR.00048-08>
- Bom, R. J. M., Christerson, L., Loeff, M. F. S. Van Der, & Coutinho, R. A. (2011). Evaluation of High-Resolution Typing Methods for Chlamydia trachomatis in Samples from Heterosexual Couples □ †. 49(8), 2844–2853. <https://doi.org/10.1128/JCM.00128-11>
- Bontadini, A. (2012). HLA techniques: Typing and antibody detection in the laboratory of immunogenetics. *Methods*, 56(4), 471–476. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.03.025>
- Borghans, J. A. M., Beltman, J. B., & Boer, R. J. De. (2004). MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. 732–739. <https://doi.org/10.1007/s00251-003-0630-5>
- Brunham, R. C. (2017). Perspective: my 37 year journey through Chlamydia research: Chlamydia antigen analysis using monoclonal antibodies and major histocompatibility complex molecules. July, 1–9. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftx089>
- Brunham, R. C., & Rey-ladino, J. (2005). IMMUNOLOGY OF CHLAMYDIA INFECTION: IMPLICATIONS FOR A CHLAMYDIA TRACHOMATIS VACCINE. 5(February). <https://doi.org/10.1038/nri1551>

- Burgner, D., Jamieson, S., & Blackwell, J. M. (2006). Genetic susceptibility to infectious diseases: big is beautiful, but will bigger be even better? *The Lancet Infectious Diseases*, 6(October), 19–21.
- Bush, R. M., & Everett, K. D. (2001). *Molecular evolution of the Chlamydiaceae*. 203–220.
- Carrero, Y., Bracho, A., García, W., Arguello, M., Silva, C., González, M., Marín, D., & Atencio, R. (2018). Hallazgos citológicos y factores de riesgo asociados a lesión cervical en mujeres pertenecientes a tres etnias indígenas del Estado Zulia. *Kasmera*, 46(2), 159–169.
- Clarke, I. (2011). Evolution of Chlamydia trachomatis. *ANNALS OF THE NEW YORK ACADEMY OF SCIENCES*, 1230, 11–18. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06194.x>
- Cohen, C. R., Gichui, J., Rukaria, R., Sinei, S. S., Gaur, L. K., & Brunham, R. C. (2003). Immunogenetic correlates for Chlamydia trachomatis - Associated tubal infertility. *Obstetrics and Gynecology*, 101(3), 438–444. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(02\)03077-6](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(02)03077-6)
- Cohen, C. R., Sinei, S. S., Bukusi, E. A., Bwayo, J. J., Holmes, K. K., & Brunham, R. C. (2000). Human leukocyte antigen class II DQ alleles associated with Chlamydia trachomatis tubal infertility. *Obstetrics and Gynecology*, 95(1), 72–77. [https://doi.org/10.1016/S0029-7844\(99\)00541-4](https://doi.org/10.1016/S0029-7844(99)00541-4)
- Conway, D. J., Holland, M. J., Campbell, A. E., Bailey, R. L., Krausa, P., Peeling, R. W., Whittle, H. C., & Mabey, D. C. W. (1996). HLA class I and II polymorphisms and trachomatous scarring in a Chlamydia trachomatis - Endemic population. *Journal of Infectious Diseases*, 174(3), 643–646. <https://doi.org/10.1093/infdis/174.3.643>
- Costa-Lira, E., Jacinto, A., Silva, L., & Napoleão, P. (2017). trachomatis , and Trichomonas vaginalis infections in Amazonian women with normal and abnormal cytology. *Genetics and Molecular Research*, 16(2).

- Cribb, P., Scapini, J. P., & Serra, E. (2002). One-tube nested polymerase chain reaction for detection of *Chlamydia trachomatis*. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(6), 897–900. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000600027>
- De Jesús De Haro-Cruz, M., Deleón-Rodríguez, I., Escobedo-Guerra, M. R., López-Hurtado, M., Arteaga-Troncoso, G., Ortiz-Ibarra, F. J., & Guerra-Infante, F. M. (2011). Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from endocervical specimens of infertile Mexican women. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 29(2), 102–108. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2010.08.014>
- De la Maza, L., Zhong, G., & Brunham, R. C. (2017). Update on *Chlamydia trachomatis* Vaccinology. *Clinical and Vaccine Immunology*, 24(4), 1–25.
- De Vries, H. J. C., Schim Van Der Loeff, M. F., & Bruisten, S. M. (2015). High-resolution typing of *Chlamydia trachomatis*: Epidemiological and clinical uses. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 28(1), 61–71. <https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000129>
- Dean, D., Rothschild, J., Ruettger, A., Kandel, R. P., & Sachse, K. (2013). *Zoonotic Chlamydiaceae Species Associated with Trachoma , Nepal*. 19(12).
- Debattista, Joseph et al. (2003). Immunopathogenesis of *Chlamydia trachomatis* infections in women. *Fertility and Sterility*, 79(6), 1273–1287. [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(03\)00396-0](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(03)00396-0)
- Del Río-Ospina, L., Camargo, M., Soto-De León, S. C., Sánchez, R., Moreno-Pérez, D. A., Patarroyo, M. E., & Patarroyo, M. A. (2020). Identifying the HLA DRB1-DQB1 molecules and predicting epitopes associated with high-risk HPV infection clearance and redetection. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64268-x>
- Díaz, A., & Díez, M. (2011). Infecciones de transmisión sexual: epidemiología y control. *Revista Española de Sanidad Penitenciaria*, 13(2), 58–66.
- Domman, D, & Horn, M. (2015). *Following the Footsteps of Chlamydial Gene*

Regulation Article Fast Track. 32(12), 3035–3046.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msv193>

Domman, Daryl, Collingro, A., Lagkourdos, I., Gehre, L., Weinmaier, T., Rattei, T., Subtil, A., & Horn, M. (2014). *Massive Expansion of Ubiquitination-Related Gene Families within the Chlamydiae.* 31(11), 2890–2904.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msu227>

Erlich, H. (2012). *HLA DNA typing: past, present, and future.* January, 1–11.
<https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2012.01881.x>

Estrada, S. et al. (2010). Infección por *Chlamydia trachomatis* asociado a factor tubárico de subfertilidad: aspectos inmunogenéticos. *Revista Waxapa*, 43–59.

Everett, K. D. E., & Andersen, A. A. (2000). *The Ribosomal Intergenic Spacer and Domain I of the 2 s rRNA Gene Are Phylogenetic Markers for Chlamydia spp .* 461–473.

Everett, K. D. E., Bush, R. M., & Andersen, A. A. (1999). *Emended description of the order Chlamydiales , proposal of Parachlamydiaceae fam . nov . and Simkaniaceae fam . nov ., each containing one monotypic genus , revised taxonomy of the family Chlamydiaceae , including a new genus and five new species , and s. 1 999,* 415–440.

F. Vromman et al. (2014). Quantitative Monitoring of the *Chlamydia trachomatis* Developmental Cycle Using GFP-Expressing Bacteria , Microscopy and Flow Cytometry. *Public Library of Science*, 9(6).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099197>

Fan, T., Lu, H., Hu, H., Shi, L., McClarty, G. A., Nance, D. M., Greenberg, A. H., & Zhong, G. (1998). Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: Blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *Journal of Experimental Medicine*, 187(4), 487–496.
<https://doi.org/10.1084/jem.187.4.487>

- Fehlner-Gardiner, C., Roshick, C., Carlson, J. H., Hughes, S., Belland, R. J., Caldwell, H. D., & McClarty, G. (2002). Molecular basis defining human *Chlamydia trachomatis* tissue tropism: A possible role for tryptophan synthase. *Journal of Biological Chemistry*, 277(30), 26893–26903. <https://doi.org/10.1074/jbc.M203937200>
- Gaitán-Duarte, H. (2017). Sexually transmitted infections: A public health problem that Colombia needs to face. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 68(3), 164–167. <https://doi.org/10.18597/rcog.3080>
- Gaur, L. K., Peeling, R. W., Cheang, M., Kimani, J., Bwayo, J., Plummer, F., & Brunham, R. C. (1999). Association of *Chlamydia trachomatis* heat-shock protein 60 antibody and HLA class II DQ alleles. *Journal of Infectious Diseases*, 180(1), 234–237. <https://doi.org/10.1086/314838>
- Geisler, W. M., Tang, J., Wang, C., Wilson, C. M., & Kaslow, R. A. (2004). Epidemiological and genetic correlates of incident *Chlamydia trachomatis* infection in North American adolescents. *Journal of Infectious Diseases*, 190(10), 1723–1729. <https://doi.org/10.1086/425077>
- Gonzalez-Galarza, F. F., McCabe, A., Melo dos Santos, E. J., Jones, A. R., & Middleton, D. (2020). A snapshot of human leukocyte antigen (HLA) diversity using data from the Allele Frequency Net Database. *Human Immunology*, October, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2020.10.004>
- Greub, G. (2010). International Committee on Systematics of Prokaryotes: Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae - Minutes of the inaugural closed meeting , Minutes International Committee on Systematics of Prokaryotes Subcommittee on the taxonomy of the Chlamydiae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60, 2691–2693. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.028225-0>
- Grillo-ardila C.F. et al. (2020). Rapid point of care test for detecting urogenital *Chlamydia trachomatis* infection in nonpregnant women and men at

- reproductive age (Review). *Cochrane Database of Systematic Reviews*.
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD011708.pub2>.www.cochranelibrary.com
- Group, H. I. (2015). *Nomenclature for Factors of the HLA System: hla.alleles.org*.
<http://hla.alleles.org/nomenclature/naming.html>
- Gutiérrez, D. L., & Sánchez Mora, R. M. (2018). Alternative Treatments of Traditional Medicine for Chlamydia trachomatis , Causal Agent of an Asymptomatic Infection. *Nova*, 16(30), 65–74.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702018000200065&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Hartley, J. C., Kaye, S., Stevenson, S., & Bennett, J. (2001). *PCR Detection and Molecular Identification of Chlamydiaceae Species*. 39(9), 3072–3079.
<https://doi.org/10.1128/JCM.39.9.3072>
- Hedrick, P. W. (2002). Pathogen resistance and genetic variation at MHC loci. *Evolution*, 56(10), 1902–1908. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb00116.x>
- Herrmann, B., Isaksson, J., Ryberg, M., Tångrot, J., Saleh, I., Versteeg, B., Gravningen, K., & Bruisten, S. (2015). Global multilocus sequence type analysis of Chlamydia trachomatis strains from 16 countries. *Journal of Clinical Microbiology*, 53(7), 2172–2179. <https://doi.org/10.1128/JCM.00249-15>
- Homburger, J. R., Moreno-estrada, A., Gignoux, C. R., Nelson, D., Sanchez, E., Ortiz-tello, P., Pons-estel, B. A., Acevedo-vasquez, E., Miranda, P., Langefeld, C. D., & Gravel, S. (2015). *Genomic Insights into the Ancestry and Demographic History of South America*. 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005602>
- Horn, M. (2008). *Chlamydiae as Symbionts in Eukaryotes*. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162818>
- Horn, M., Horn, M., Collingro, A., Schmitz-esser, S., Beier, C. L., Purkhold, U., Fartmann, B., Brandt, P., Nyakatura, G. J., Droege, M., Frishman, D., Rattei, T.,

- Mewes, H., & Wagner, M. (2014). *Illuminating the Evolutionary History of Chlamydiae*. 728(2004). <https://doi.org/10.1126/science.1096330>
- Hosomichi K et al. (2015). The impact of next-generation sequencing technologies on HLA research. *Journal of Human Genetics*, 60(11), 665–673. <https://doi.org/10.1038/jhg.2015.102>
- Igietseme, J. U., Omosun, Y., Stuchlik, O., Reed, M. S., Partin, J., He, Q., Joseph, K., Ellerson, D., Bollweg, B., George, Z., Eko, F. O., Bandea, C., Liu, H., Yang, G., Shieh, W. J., Pohl, J., Karem, K., & Black, C. M. (2015). Role of epithelial-mesenchyme transition in chlamydia pathogenesis. *PLoS ONE*, 10(12), 1–26. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145198>
- Ikehata, M., Numazaki, K., & Chiba, S. (2000). Analysis of Chlamydia trachomatis serovars in endocervical specimens derived from pregnant Japanese women. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 27(1), 35–41. [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(99\)00158-3](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(99)00158-3)
- Inic-Kanada, A., Stojanovic, M., Schlacher, S., Stein, E., Belij-Rammerstorfer, S., Marinkovic, E., Lukic, I., Montanaro, J., Schuerer, N., Bintner, N., Kovacevic-Jovanovic, V., Krnjaja, O., Mayr, U. B., Lubitz, W., & Barisani-Asenbauer, T. (2015). Delivery of a chlamydial adhesin N-PmpC subunit vaccine to the ocular mucosa using particulate carriers. *PLoS ONE*, 10(12), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144380>
- Jelocnik, M., Bachmann, N. L., Seth-Smith, H., Thomson, N. R., Timms, P., & Polkinghorne, A. M. (2016). Molecular characterisation of the Chlamydia pecorum plasmid from porcine, ovine, bovine, and koala strains indicates plasmid-strain co-evolution. *PeerJ*, 2016(2), 1–17. <https://doi.org/10.7717/peerj.1661>
- Jenkins, W. D., LeVault, K., & Sutcliffe, S. (2015). Chlamydia trachomatis infection: Possible cofactor for oropharyngeal cancer development? *Oral Oncology*, 51(2), e8–e9. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.11.015>

- Jespersen, C. M., Bjoern, P., Morten, N., & Paolo, M. (2017). BepiPred-2.0: Improving sequence-based B-cell epitope prediction using conformational epitopes. *Nucleic Acids Research*, *45*(W1), W24–W29. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx346>
- Jordá, G. B., Hanke, S. E., Ramos-, J. M., Mosmann, J., Lopéz, M. L., & Entrocassi, A. C. (2018). Prevalencia y análisis filogenético de *Chlamydia trachomatis* en una población de mujeres de. *Revista Especializada Quimioterapia*, *31*(1), 21–26.
- Karuna P. et al. (2019). Discordance in the epithelial cell-dendritic cell MHC class II immunoproteome: implications for *Chlamydia* vaccine development. *Journal Infect Disease*, 1–25. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiz522>
- Karunakaran, K. P., Rey-Ladino, J., Stoyanov, N., Berg, K., Shen, C., Jiang, X., Gabel, B. R., Yu, H., Foster, L. J., & Brunham, R. C. (2008). Immunoproteomic Discovery of Novel T Cell Antigens from the Obligate Intracellular Pathogen *Chlamydia*. *The Journal of Immunology*, *180*(4), 2459–2465. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.180.4.2459>
- Kimani, J., Maclean, I. W., Bwayo, J. J., MacDonald, K., Oyugi, J., Maitha, G. M., Peeling, R. W., Cheang, M., Nagelkerke, N. J. D., Plummer, F. A., & Brunham, R. C. (1996). Risk factors for *Chlamydia trachomatis* pelvic inflammatory disease among sex workers in Nairobi, Kenya. *Journal of Infectious Diseases*, *173*(6), 1437–1444. <https://doi.org/10.1093/infdis/173.6.1437>
- Kinnunen, A. H., Surcel, H. M., Lehtinen, M., Karhukorpi, J., Tiitinen, A., Halttunen, M., Bloigu, A., Morrison, R. P., Karttunen, R., & Paavonen, J. (2002). HLA DQ alleles and interleukin-10 polymorphism associated with *Chlamydia trachomatis*-related tubal factor infertility: A case-control study. *Human Reproduction*, *17*(8), 2073–2078. <https://doi.org/10.1093/humrep/17.8.2073>
- Kinuthia, J., Drake, A., Mameto, D., B, R., Zeh, C., Osborn, L., Overbaugh, J., McClelland, R. S., & John-, G. (2016). Characteristics : A Cohort Study. *PMC*,

29(15), 2025–2033. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000793>.HIV

Klein, J. (2000). The HLA system. *The New England Journal of Medicine Review*, 343(10), 702–709.

Klint, M., Fuxelius, H. H., Goldkuhl, R. R., Skarin, H., Rutemark, C., Andersson, S. G. E., Persson, K., & Herrmann, B. (2007). High-resolution genotyping of *Chlamydia trachomatis* strains by multilocus sequence analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(5), 1410–1414. <https://doi.org/10.1128/JCM.02301-06>

Koskela, P., Anttila, T., Bjørge, T., Brunsvig, A., Dillner, J., Hakama, M., Hakulinen, T., Jellum, E., Lehtinen, M., Lenner, P., Luostarinen, T., Pukkala, E., Saikku, P., Thoresen, S., Youngman, L., & Paavonen, J. (2000). *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *International Journal of Cancer*, 85(1), 35–39. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0215\(20000101\)85:1<35::AID-IJC6>3.0.CO;2-A](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0215(20000101)85:1<35::AID-IJC6>3.0.CO;2-A)

Lallemand, A., Bremer, V., Jansen, K., Nielsen, S., Münstermann, D., & Lucht, A. (2016). Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in women , heterosexual men and MSM visiting HIV counselling institutions in North Rhine-Westphalia , Germany - should *Chlamydia* testing be scaled up ? *BMC Infectious Diseases*, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1915-2>

Lee, E. T., & Go, O. T. (1997). Survival analysis in public health research. *Annual Review of Public Health*, 18, 105–134. <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.18.1.105>

Leonard, C. A., & Borel, N. (2014). Chronic Chlamydial Diseases: From Atherosclerosis to Urogenital Infections. *Current Clinical Microbiology Reports*, 1(3–4), 61–72. <https://doi.org/10.1007/s40588-014-0005-8>

Markle, W., Conti, T., & Kad, M. (2013). Sexually transmitted diseases. *Primary Care - Clinics in Office Practice*, 40(3), 557–587. <https://doi.org/10.1016/j.pop.2013.05.001>

- Marrazzo, J., & Suchland, R. (2014). Recent advances in understanding and managing *Chlamydia trachomatis* infections. *F1000Prime Reports*, 6(December), 1–7. <https://doi.org/10.12703/P6-120>
- Marsh, S. G. E., Albert, E. D., Bodmer, W. F., Bontrop, R. E., Dupont, B., Erlich, H. A., Fernández-Viña, M., Geraghty, D. E., Holdsworth, R., Hurley, C. K., Lau, M., Lee, K. W., Mach, B., Maiers, M., Mayr, W. R., Müller, C. R., Parham, P., Petersdorf, E. W., Sasazuki, T., ... Trowsdale, J. (2010). Nomenclature for factors of the HLA system, 2010. *Tissue Antigens*, 75(4), 291–455. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01466.x>
- Mascellino, M. T., Boccia, P., & Oliva, A. (2011). Immunopathogenesis in *Chlamydia trachomatis* Infected Women . *ISRN Obstetrics and Gynecology*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.5402/2011/436936>
- Mestrovic, T., Ljubin-sternak, S., Microbiology, C., Unit, P., & Profozic, P. Z. (2018). *Chlamydial mechanisms of antimicrobial resistance*. 3, 656–670.
- Meyer, T. (2016). Diagnostic Procedures to Detect *Chlamydia trachomatis* Infections. *Microorganisms*, 4(3), 25. <https://doi.org/10.3390/microorganisms4030025>
- Morrison, R. P., Feilzer, K., & Tumas, D. B. (1995). Gene Knockout Mice Establish a Primary Protective Role for Major Histocompatibility Complex Class II-Restricted Responses in *Chlamydia trachomatis* Genital Tract Infection. *American Society for Microbiology*, 63(12), 4661–4668.
- Mosaad, Y. M. (2015). Clinical Role of Human Leukocyte Antigen in Health and Disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, 82(4), 283–306. <https://doi.org/10.1111/sji.12329>
- Mylonas, I. (2012). Female genital *Chlamydia trachomatis* infection: Where are we heading? *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 285(5), 1271–1285. <https://doi.org/10.1007/s00404-012-2240-7>

- Ness, R. B., Brunham, R. C., Shen, C., & Bass, D. C. (2004). Associations among Human Leukocyte Antigen (HLA) Class II DQ Variants, Bacterial Sexually Transmitted Diseases, Endometritis, and Fertility among Women with Clinical Pelvic Inflammatory Disease. *Sexually Transmitted Diseases*, 31(5), 301–304. <https://doi.org/10.1097/01.OLQ.0000123649.52033.75>
- Nguyen, N. D. N. T., Olsen, A. W., Lorenzen, E., Andersen, P., Hvid, M., Follmann, F., & Dietrich, J. (2020). Parenteral vaccination protects against transcervical infection with *Chlamydia trachomatis* and generate tissue-resident T cells post-challenge. *Npj Vaccines*, 5(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41541-020-0157-x>
- Nielsen, M., Lundegaard, C., Blicher, T., Peters, B., Sette, A., Justesen, S., Buus, S., & Lund, O. (2008). Quantitative predictions of peptide binding to any HLA-DR molecule of known sequence: NetMHCIIpan. *PLoS Computational Biology*, 4(7), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000107>
- Nunes, A., & Gomes, J. P. (2014). Evolution, phylogeny, and molecular epidemiology of *Chlamydia*. *Infection, Genetics and Evolution*, 23(February), 49–64. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.01.029>
- O'connell, C. M., & Ferone, M. E. (2016). *Chlamydia trachomatis* genital infections. *Microbial Cell*, 3(9), 390–403. <https://doi.org/10.15698/mic2016.09.525>
- Occhionero, M. R., Lucia, M., Vaulet, G., Paniccia, L., Pedersen, D., Rossi, G., Costamagna, S. R., Fernández, D., Carrica, A., Mazzucchini, H., & Fermepin, M. R. (2007). PREVALENCIA DE LA INFECCIÓN POR *Chlamydia trachomatis* EN MUJERES DE LA CIUDAD DE BAHÍA BLANCA. PROVINCIA DE BUENOS AIRES, ARGENTINA. *Revista de La Asociación Médica de Bahía Blanca*, 17(1), 10–14.
- Olsen, A. W., Follmann, F., Erneholm, K., Rosenkrands, I., & Andersen, P. (2015). Protection Against *Chlamydia trachomatis* Infection and Upper Genital Tract Pathological Changes by Vaccine-Promoted Neutralizing Antibodies Directed to

- the VD4 of the Major Outer Membrane Protein. *Journal of Infectious Diseases*, 212(6), 978–989. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiv137>
- Olson, K. M., Tang, J., Brown, L. D., Press, C. G., & Geisler, W. M. (2019). HLA-DQB1*06 is a risk marker for chlamydia reinfection in African American women. *Genes and Immunity*, 20(1), 69–73. <https://doi.org/10.1038/s41435-018-0014-3>
- Paavonen, J. (2012). Chlamydia trachomatis infections of the female genital tract: State of the art. *Annals of Medicine*, 44(1), 18–28. <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.546365>
- Paba, P., Bonifacio, D., Di Bonito, L., Ombres, D., Favalli, C., Syrjänen, K., & Ciotti, M. (2008). Co-expression of HSV2 and Chlamydia trachomatis in HPV-positive cervical cancer and cervical intraepithelial neoplasia lesions is associated with aberrations in key intracellular pathways. *Intervirology*, 51(4), 230–234. <https://doi.org/10.1159/000156481>
- Paredes et al. (2015). Prevalence of infections by Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae among high school students in the Sabana Central area of Cundinamarca, Colombia. *Biomedica*, 35(3), 314–324. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v35i3.2398>
- Pawlikowska-Warych, M., Śliwa-Dominiak, J., & Deptuła, W. (2015). Chlamydial plasmids and bacteriophages. *Acta Biochimica Polonica*, 62(1), 1–6. https://doi.org/10.18388/abp.2014_764
- Pedersen, L. N., Pødenphant, L., & Møller, J. K. (2008). Highly discriminative genotyping of Chlamydia trachomatis using omp1 and a set of variable number tandem repeats. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(7), 644–652. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02011.x>
- Pillonel, T., Bertelli, C., Salamin, N., & Greub, G. (2015). Taxogenomics of the order Chlamydiales Printed in Great Britain. 1381–1393. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000090>

- Pinzón-Fernández, M. V., Caldas-Arias, L., Stiven Burgos, A., Ibarra-Gimbuel, D. S., & Valencia-Mesa, C. (2019). Mecanismos de patogenicidad y respuesta inmune de la infección por *Chlamydia trachomatis* y su relación con cáncer cervical. *Ces Medicina*, 33(1), 51–59. <https://doi.org/10.21615/cesmedicina.33.1.6>
- Plummer, F. A., Simonsen, J. N., Cameron, D. W., Ndinya-achola, J. O., Kreiss, J. K., Gakinya, M. N., Waiyaki, P., Cheang, M., Piot, P., Ronald, A. R., & Ngugi, E. N. (1991). *Cofactors in Male-Female Sexual Transmission of Human Immunodeficiency Virus Type 1*. 233–239.
- Quinónez-Calvache, E. M., Ríos-Chaparro, D. I., Ramírez, J. D., Soto-De León, S. C., Camargo, M., Río-Ospina, L. Del, Sánchez, R., Patarroyo, M. E., & Patarroyo, M. A. (2016). *Chlamydia trachomatis* Frequency in a Cohort of HPV-infected colombian women. *PLoS ONE*, 11(1), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147504>
- Rawre, J., Juyal, D., & Dhawan, B. (2017). Molecular Typing of *Chlamydia trachomatis* : An Overview. *Indian Journal of Medical Microbiology, March*, 16–26. <https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM>
- Rowley, J., Hoorn, S. Vander, Korenromp, E., Low, N., Unemo, M., Abu-Raddad, L. J., Chico, R. M., Smolak, A., Newman, L., Gottlieb, S., Thwin, S. S., Broutet, N., & Taylor, M. M. (2019). *Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis. Bulletin of the World Health Organization*, 97(8), 548–562.
- Ruiz, R. P. (2011). Identificación de *Chlamydia trachomatis* en parejas infértiles. *Revista Mexicana de Medicina de La Reproducción*, 4(2), 78–82.
- Russi, R. C., Bourdin, E., García, M. I., & Veaute, C. M. I. (2018). In silico prediction of T- and B-cell epitopes in PmpD: First step towards to the design of a *Chlamydia trachomatis* vaccine. *Biomedical Journal*, 41(2), 109–117. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.04.007>
- Sachse, K., Bavoil, P. M., Kaltenboeck, B., Stephens, R. S., Kuo, C., Rosselló-móra, R., & Horn, M. (2020). *Chlamydia* , to include all currently recognized species.

Systematic and Applied Microbiology, 2015.
<https://doi.org/10.1016/j.syapm.2014.12.004>

Sanchez-mazas, A., & Meyer, D. (2014). *The Relevance of HLA Sequencing in Population Genetics Studies*. 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/971818>

Shankarkumar, U. et al. (2002). The Human Leucocyte Antigen (HLA) system. *Journal of Association of Physicians of India*, 50(7), 916–926. <https://doi.org/10.1080/09723757.2004.11885875>

Shao, R., Hu, J., & Billing, H. (2013). Toward Understanding Chlamydia Infection–Induced Infertility Caused by TDysfunctional Oviducts. *Journal of Infectious Diseases*, 1–2. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit216>

Sherchand, Shardulendra P., Ibane, J. A., Zea, A. H., Quayle, A. J., & Aiyar, A. (2016). The high-risk human papillomavirus e6 oncogene exacerbates the negative effect of tryptophan starvation on the development of chlamydia trachomatis. *PLoS ONE*, 11(9), 1–28. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163174>

Sherchand, Shardulendra Prasad, Ibane, J. A., Quayle, A. J., & Aiyar, A. (2016). Cell Intrinsic Factors Modulate the Effects of IFN γ on the Development of Journal of Bacteriology & Parasitology Cell Intrinsic Factors Modulate the Effects of IFN γ on the Development of Chlamydia trachomatis. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 7(October). <https://doi.org/10.4172/2155-9597.1000282>

Simonetti, A. C., Humberto de Lima Melo, J., Eleutério de Souza, P. R., Brunaska, D., & Luiz de Lima Filho, J. (2009). Immunological's host profile for HPV and Chlamydia trachomatis, a cervical cancer cofactor. *Microbes and Infection*, 11(4), 435–442. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.01.004>

Singh, V., Sehgal, A., Satyanarayana, L., Gupta, M. M., Parashari, A., & Chattopadhyaya, D. (1995). Clinical presentation of gynecologic infections among Indian women. *Obstetrics and Gynecology*, 85(2), 215–219. [https://doi.org/10.1016/0029-7844\(94\)00367-M](https://doi.org/10.1016/0029-7844(94)00367-M)

- Soto-De León, S. C., Del Río-Ospina, L., Camargo, M., Sánchez, R., Moreno-Pérez, D. A., Pérez-Prados, A., Patarroyo, M. E., & Patarroyo, M. A. (2014). Persistence, clearance and reinfection regarding six high risk human papillomavirus types in Colombian women: A follow-up study. *BMC Infectious Diseases*, *14*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-14-395>
- Stephens, R. S., Myers, G., Eppinger, M., & Bavoil, P. M. (2009). *Divergence without divergence: phylogenetics and taxonomy of Chlamydia resolved*. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2008.00516.x>
- Takashi S. et al. (2009). The HLA genomic loci map: Expression, interaction, diversity and disease. *Journal of Human Genetics*, *54*(1), 15–39. <https://doi.org/10.1038/jhg.2008.5>
- Tamayo A. et al. (2013). Factores asociados a la infección por Chlamydia trachomatis en mujeres atendidas en dos hospitales provinciales . Matanzas 2010-2012 Factors associated to Chlamydia trachomatis infection in women attended in two provincial hospitals . Matanzas 2010- 2013. *Revista Médica Electrónica*, *36*, 700–710.
- Tipu, H. N., & Shabbir, A. (2015). Evolution of DNA sequencing. *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, *25*(3), 210–215. <https://doi.org/03.2015/JCPSP.210215>
- Torres, M., & Moraes, M. (2001). Nomenclature for factors of the HLA system. *Tissue Antigens*, *57*(3), 236–283. <https://doi.org/10.1034/j.1399-0039.2001.057003236.x>
- Unemo, M., Bradshaw, C. S., Hocking, J. S., Vries, H. J. C. De, Francis, S. C., Mabey, D., Marrazzo, J. M., Sonder, G. J. B., Schwebke, J. R., Hoornenborg, E., Peeling, R. W., Philip, S. S., Low, N., & Fairley, C. K. (2017). The Lancet Infectious Diseases Commission Sexually transmitted infections : challenges ahead. *The Lancet Infectious Diseases*, *3099*(17). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30310-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30310-9)

- Vasilevsky, S., Stojanov, M., Greub, G., & Baud, D. (2016). Chlamydial polymorphic membrane proteins: Regulation, function and potential vaccine candidates. *Virulence*, 7(1), 11–22. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1111509>
- Vouga, M., Baud, D., & Greub, G. (2016). Critical Reviews in Microbiology *Simkania negevensis* , an insight into the biology and clinical importance of a novel member of the Chlamydiales order. *Critical Reviews in Microbiology*, 0(0), 000. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2016.1165650>
- Wang, Fuyan et al. (2019). Inflammatory mechanism of Chlamydia trachomatis-infected HeLa229 cells regulated by Atg5. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 520(1), 205–210. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.09.132>
- Wang, C., Tang, J., Geisler, W. M., Crowley-Nowick, P. A., Wilson, C. M., & Kaslow, R. A. (2005). Human leukocyte antigen and cytokine gene variants as predictors of recurrent Chlamydia trachomatis infection in high-risk adolescents. *Journal of Infectious Diseases*, 191(7), 1084–1092. <https://doi.org/10.1086/428592>
- Weidang, L., Ashlesh, M., Gopala, L., Senthilnath, C., Jieh-Juen, Y., James, C., Guangming, T., Thomas, F., Neal, G., & Bernard, P. (2013). A T Cell Epitope-Based Vaccine Protects Against Chlamydial Infection in HLA-DR4 Transgenic Mice. *Vaccine*, 31. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2013.09.036.A>
- Weissenbacher, E. R. (2014). Immunology of the female genital tract. In *Immunology of the Female Genital Tract* (Vol. 9783642149). <https://doi.org/10.1007/978-3-642-14906-1>
- WHO. (2011). Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections: Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, syphilis and Trichomonas vaginalis: Methods and results used by WHO to generate 2005 estimates. *World Health Organization*, 1–38.
- WHO. (2016). *Draft global health sector strategies: Viral hepatitis, 2016-2021*. 2(April), 1–44.

- Wyrick, P. B. (2010). Chlamydia trachomatis Persistence In Vitro: An Overview . *The Journal of Infectious Diseases*, 201(S2), 88–95. <https://doi.org/10.1086/652394>
- Xia, Y., & Xiong, L. K. (2014). Progress in genotyping of Chlamydia trachomatis. *Chinese Medical Journal*, 127(22), 3980–3986. <https://doi.org/10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20141415>
- Yang, Z., Tang, L., Zhou, Z., & Zhong, G. (2016). Neutralizing antichlamydial activity of complement by chlamydia-secreted protease CPAF. *Microbes and Infection*, 18(11), 669–674. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.07.002>
- Yu, H, Jiang, X., Shen, C., Karuna P, K., & Brunham, R. (2008). Novel Chlamydia muridarum T cell Antigens Induce Protective Immunity against Lung and Genital Tract Infection in Murine Models. *Bone*, 23(1), 1–7.
- Yu, Hong, Karunakaran, K. P., Jiang, X., Shen, C., Andersen, P., & Brunham, R. C. (2012). Chlamydia muridarum T cell antigens and adjuvants that induce protective immunity in mice. *Infection and Immunity*, 80(4), 1510–1518. <https://doi.org/10.1128/IAI.06338-11>
- Ziklo, N., Huston, W. M., Hocking, J. S., & Timms, P. (2016). Chlamydia trachomatis Genital Tract Infections : When Host Immune Response and the Microbiome Collide. *Trends in Microbiology*, xx. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2016.05.007>

14. ANEXOS

Anexo 1. Consentimiento informado

Participante N:



Solo ingresará al estudio previo a la firma de este consentimiento informado. Se le recuerda que su participación es totalmente voluntaria.

El virus de papiloma humano o VPH causa el **cáncer de útero**.

Es el segundo cáncer más frecuente en las mujeres del mundo y el primero en países en vías de desarrollo como el nuestro.

Su participación en este estudio es una generosa contribución al desarrollo de la ciencia y a la mejoría de la salud de nuestros semejantes, así como su propio beneficio.

Procedimientos a seguir

Si usted está de acuerdo en participar en este estudio, previa evaluación médica, se le solicitará la donación de una (1) muestra de sangre de 5 cc y una (1) muestra citológica cervicovaginal para análisis de ADN viral que se tomará en el momento de realizar la colposcopia.

Período de participación

Tiempo necesario para la toma de la muestra de sangre (Aproximadamente 5 minutos).

Riesgos

Este estudio se considera de bajo riesgo. El volumen de sangre por individuo es mínimo (5cc). Se puede tener algo de dolor o enrojecimiento en el área de la venopunción y en raras ocasiones se presenta sensación de mareo de la que se recupera espontáneamente. La toma de la muestra cervical no presenta molestias adicionales a la colposcopia.

Beneficios

Usted recibirá a través de su servicio de salud, el resultado de laboratorio de la seropositividad o no para el **Virus del Papiloma Humano**. Esto ayudará a su médico tratante para la toma de decisión en su caso particular. Además significa un nuevo conocimiento acerca de los mecanismos de defensa del ser humano contra la infección por **Virus del Papiloma Humano** y hace parte del proceso de evaluación de la prueba que podría, en el futuro, ser la base para el desarrollo de métodos de diagnóstico más precisos y posibles vacunas.

Confidencialidad

Su nombre no será usado en ningún informe de este estudio.

Hallazgos nuevos de importancia para su salud

Cualquier información adicional e importante encontrada durante el periodo de duración del estudio, que pudiese resultar importante para su salud, le será comunicada inmediatamente.

IMPORTANTE: Si existe alguna parte de este documento que no entienda, por favor pregunte a uno de los investigadores antes de firmar.

Por medio de la presente constancia, en pleno y normal uso de mis facultades mentales, otorgo en forma libre mi consentimiento a la FUNDACIÓN INSTITUTO DE INMUNOLOGIA DE COLOMBIA para que me sea practicada la prueba de tamizaje para la detección de anticuerpos contra el virus del papiloma humano (VPH), mediante la técnica ELISA. Declaro que se me ha suministrado información sobre la prueba y aspectos concernientes a la infección por el VPH, dentro del desarrollo de un trabajo de investigación que busca detectar este virus en la muestra de mi sangre que se toma cuando la citología vaginal presenta resultados anormales para recibir posteriormente las indicaciones que se requieran en el manejo de esta infección.

La información acerca del resultado de esta prueba se maneja con confidencialidad por parte del equipo de salud que participa de la investigación.

Soy consciente que la sangre que donaré y la colaboración que prestaré, será utilizada con fines de investigación solamente y que nadie obtendrá ningún tipo de lucro con ellas. Soy también consciente que mi participación en este estudio no representa ningún peligro para mi salud y que el procedimiento para la toma de la muestra es seguro.

Nombre: _____

Identificación _____

Dirección: _____

Lugar y fecha: _____

Testigo1 _____

Firma e identificación del testigo:

Parentesco con Relación con el sujeto de investigación _____

Testigo2 _____

Firma e identificación del testigo:

Parentesco con Relación con el sujeto de investigación _____

BOGOTA, _____

AUTORIZACIÓN PARA USO DE LA MUESTRA

Una vez procesada la muestra cervical y realizada la detección del VPH, existe muestra que sobra y que es almacenada en las instalaciones de FIDIC sede Bogotá. Esta muestra podría emplearse para nuevos estudios, por lo que requerimos que usted apruebe su uso, lo cual sería un generoso aporte de su parte para el avance del conocimiento sobre CC.

De igual manera, en futuros estudios se manejará la confidencialidad en su información personal. Por lo anterior, sírvase marcar su decisión con respecto a esto:

Autorizo conservar el volumen restante de la muestra que he aportado, para estudios de investigación complementarios, colaborativos con otras instituciones nacionales y/o internacionales, siempre y cuando exista: (i) acuerdo interinstitucional entre las entidades participantes; (ii) aprobación por un comité de ética para la realización del estudio y (iii) se conserve en anonimato mis datos de identificación.

Si ____ No____

Firma del participante del estudio
Documento:

Datos del Investigador que administra el consentimiento

Firma: _____

Nombre: _____

Cargo: _____

_____, día_____, del mes de _____, del año_____.

Si tiene cualquier pregunta acerca de este estudio puede comunicarse con el Laboratorio de Biología Molecular de la Fundación Instituto de Inmunología de Colombia (FIDIC) en Bogotá, al teléfono: (1) 3244671/72/73/74 extensión 143-144 y preguntar por el Dr Manuel Alfonso Patarroyo ó a la extensión 132 con las coordinadoras del proyecto de VPH.

Anexo 2. Frecuencia de los alelos de HLA-*DRB1* y alelos HLA-*DQB1* en la población de estudio

Alelo	No. observados	%
<i>DRB1</i>		
01:01:01G	19	3,47
01:02:01	15	2,74
01:02:01G	5	0,91
01:03	1	0,18
01:03:01	7	1,28
03:01:01G	30	5,47
03:02:01	2	0,36
03:02:02	4	0,73
04:01:01G	1	0,18
04:02:01	9	1,64
04:03:01	1	0,18
04:03:01G	8	1,46
04:04:01	20	3,65
04:05:01	9	1,64
04:05:04	10	1,82
04:06:01G	1	0,18
04:07:01G	72	13,14
04:08:01	2	0,36
04:10:01G	2	0,36
04:11:01	10	1,82
07:01:01G	43	7,85
07:11	2	0,36
08:01:01G	5	0,91
08:02:01	21	3,83
08:02:01G	7	1,28
08:03:02	1	0,18
08:04:01	6	1,09

Alelo	No. observados	%
<i>DRB1</i>		
08:06	1	0,18
08:07	4	0,73
09:01:02G	5	0,91
10:01:01G	10	1,82
11:01:01G	12	2,19
11:01:02	2	0,36
11:02:01	6	1,09
11:04:01	1	0,18
11:04:01G	13	2,37
11:14:01	1	0,18
12:01:01G	5	0,91
13:01:01G	29	5,29
13:02:01G	23	4,2
13:03:01	2	0,36
13:03:01G	3	0,55
13:04	2	0,36
13:05:01	4	0,73
14:01:01G	8	1,46
14:02:01	13	2,37
14:02:01G	8	1,46
14:04:01	1	0,18
14:06:01	1	0,18
15:01:01G	38	6,93
15:02:01G	5	0,91
15:03:01G	3	0,55
16:01:01	6	1,09
16:02:01G	29	5,29

Alelo	No. observados	%
<i>DQB1</i>		
02:01:01G	74	13,5
03:01:01G	110	20,07
03:02:01G	124	22,63
03:02:03	1	0,18
03:03:02G	8	1,46
04:02:01G	56	10,22
05:01:01G	62	11,31
05:02:01G	10	1,82
05:03:01G	9	1,64
06:01:01G	5	0,91
06:02:01G	37	6,75
06:03:01G	30	5,47
06:04:01G	8	1,46
06:09:01G	14	2,55
Total	548	100%

Anexo 3. Alelos HLA-*DRB1* asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct

Alelo	Infección				Depuración				Persistencia				Reinfección			
	Coeff	IC95%	P	Pc ^b	Coeff	IC95%	P	Pc ^b	Coeff	IC95%	P	Pc ^d	Coeff	IC95%	P	Pc ^d
<i>DRB1</i>																
01:01:01G	0,24 ^a	-0,83	0,247	.	0,94	0,64-1,39	0,791	.	1,4	0,72-2,72	0,314	.	14,51 ^b	2,48-84,62	0,003	0,090
01:02:01G	8,36	1,71-4,08	0	0.000	0,27	0,09-0,75	0,013	0,442	1,27	0,56-2,83	0,558	.	0,00 ^a	.	.	.
01:03:01	-0,03 ^a	-1,56	0,937	.	1,71	0,90-3,22	0,096	.	4,25	1,37-13,12	0,012	0,384	0,01^c	0,00-0,05	0,000	0,000
03:01:01G	0,18 ^a	-0,84	0,378	.	0,55	0,33-0,92	0,024	0,816	0,31	0,68-1,40	0,129	.	16,88 ^b	1,55-183,05	0,020	0,600
03:02:01	-0,98^a	-0,62	0	0.000	0,74	0,43-1,26	0,272	.	NA	.	.	.	-0,07 ^a	-0,20-0,05	0,237	.
03:02:02	-0,55^a	-0,61	0	0.000	0,48	0,30-0,76	0,002	0,068	0,82	0,46-1,46	0,506	.	NA	.	.	.
04:01:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:02:01	0,07 ^a	-1,16	0,798	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:03:01G	2,86	0,80-10,13	0,103	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:04:01	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:05:01	2,37	0,81-6,92	0,112	.	0,64	0,36-1,13	0,127	.	1,09	0,46-2,60	0,838	.	-0,09 ^a	-0,52-0,34	0,672	.
04:05:04	1,18	0,34-4,12	0,787	.	1,02	0,26-4,02	0,969	.	1,43	0,74-2,73	0,277	.	5,86 ^b	0,91-37,68	0,062	.
04:06:01G	1,02	0,18-5,74	0,978	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:07:01G	0,94	0,57-1,56	0,836	.	1,6	1,07-2,37	0,002	0,68	1,1	0,63-1,91	0,723	.	0,08 ^a	0,02-0,14	0,007	0,210
04:08:01	0,85	0,39-1,98	0,716	.	0,41	0,19-0,88	0,022	0,748	0,73	0,36-1,48	0,384	.	NA	.	.	.
04:10:01G	2,91^a	2,49-3,36	0	0.000	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:11:01	-0,35 ^a	-0,54	0,011	0,495	0,92	0,57-1,51	0,764	.	0,61	0,33-1,14	0,123	.	0,10 ^b	0,01-0,82	0,032	0,960
07:01:01G	-0,11 ^a	-0,56	0,419	.	0,78	0,38-1,60	0,512	.	1,52	0,35-6,62	0,57	.	0,03 ^c	0,00-0,31	0,002	0,060
07:11	0,29 ^a	-0,93	0,224	.	NA	.	.	.	1,03	0,47-2,23	0,935	.	NA	.	.	.
08:01:01G	-0,87^a	-0,66	0	0.000	NA	.	.	.	1,53	0,47-4,98	0,473	.	-0,17 ^a	-0,36-0,02	0,081	.
08:02:01G	-0,41 ^a	-1,07	0,129	.	0,68	0,27-1,69	0,416	.	12,71	4,35-37,09	0	0	-0,32^a	-0,51--(-0,13)	0,001	0,030
08:03:02	0,00 ^a	.	.	.	1,11	0,54-2,25	0,768	.	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
08:04:01	0,63 ^a	0,09-1,16	0,02	0,900	0,92	0,53-1,60	0,785	.	2,5	1,33-4,72	0,004	0,128	NA	.	.	.
08:06	1,59	0,46-5,49	0,46	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.

08:07	1	.	.	.	6,45	1,27-32,75	0,024	0,816	NA	.	.	.	0,03 ^a	-0,09-0,15	0,626	.
09:01:02G	-0,34 ^a	-0,91	0,139	.	5,53	2,91-10,49	0	0	1,69	0,87-3,31	0,12	.	0,03a	-0,05-0,12	0,425	.
10:01:01G	0,73	0,09-5,66	0,765	.	0,85	0,50-1,45	0,565	.	0,33	0,19-0,57	0,000	0,000	-0,10 ^a	-0,23-0,02	0,122	.
11:01:01G	1,02	0,48-2,14	0,955	.	1,02	0,54-1,91	0,948	.	22,2	5,70-86,49	0,000	0,000	2,42 ^b	0,48-12,10	0,279	.
11:01:02	3,00^a	2,48-3,51	0	0.000	1,52	0,40-5,66	0,531	.	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
11:02:01	0,7	0,18-2,62	0,601	.	1,34	0,68-2,64	0,385	.	0,84	0,35-1,98	0,696	.	0,01 ^a	-0,08-0,11	0,792	.
11:04:01G	-0,11 ^a	-0,67	0,511	.	1,32	0,69-2,52	0,388	.	2,81	1,10-7,18	0,031	0,992	3,52 ^b	0,68-18,05	0,131	.
11:14:01	0,25 ^a	-0,71	0,17	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
12:01:01G	3,23^a	2,73-3,73	0	0.000	5,53	2,91-10,49	0	0	NA	.	.	.	0,03 ^a	-0,05-0,12	0,425	.
13:01:01G	0,44 ^a	0,03-0,85	0,032	1.440	0,82	0,50-1,32	0,42	.	0,52	0,27-1,01	0,054	.	-0,02 ^a	-0,13-0,08	0,662	.
13:02:01G	1,4	0,67-2,90	0,361	.	1,82	0,69-4,73	0,22	.	0,54	0,22-1,36	0,196	.	0,10 ^a	-0,04-0,25	0,187	.
13:03:01G	-0,10 ^a	-2,7	0,875	.	1,24	0,67-2,31	0,483	.	2,24	0,65-7,68	0,198	.	NA	.	.	.
13:04	4,87	1,30-18,27	0,019	0.855	NA	.	.	.	1,39	0,72-2,70	0,319	.	NA	.	.	.
13:05:01	NA	.	.	.	0,83	0,55-1,27	0,414	.	3,67	1,74-7,75	0,001	0,032	-0,02 ^a	-0,10-0,05	0,567	.
14:01:01G	-0,07 ^a	-0,99	0,768	.	4,97	1,79-13,74	0,002	0,068	3,92	1,86-8,25	0,000	0,000	-0,02 ^a	-0,25-0,21	0,843	.
14:02:01G	2,40^a	1,87-3,10	0	0.000	1,51	0,87-2,62	0,140	.	27,79	5,30-145,59	0,000	0,000	0,00 ^a	-0,90-0,91	0,988	.
14:04:01	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
14:06:01	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
15:01:01G	1,33	0,49-3,57	0,569	.	1,05	0,61-1,79	0,848	.	0,64	0,34-1,18	0,16	.	6.,6 ^b	1,77-22,76	0,004	0,120
15:02:01G	0,39 ^a	-0,98	0,12	.	3,67	1,34-10,04	0,011	0,374	1,04	0,60-1,80	0,861	.	NA	.	.	.
15:03:01G	0,10 ^a	-1,59	0,792	.	1	.	.	.	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:01:01	2,77	0,83-9,27	0,097	.	1,23	0,55-2,76	0,608	.	2,07	0,98-4,36	0,055	.	-0,17^a	-0,27-(-0,08)	0,000	0,000
16:02:01G	1,29	0,71-2,34	0,395	.	0,54	0,31-0,96	0,038	1.292	1,28	0,48-3,38	0,613	.	0,01 ^a	-0,06-0,08	0,798	.

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de Weibull

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos e infección por VPH. Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones de color verde y rojo, respectivamente.

Los valores en negrita indican significación estadística basada en el IC 95%, p<0,05.

Anexo 4. Alelos HLA-DQB1 asociados a la infección, depuración, persistencia y reinfección de Ct.

Alelo	Infección				Depuración				Persistencia				Reinfección			
	Coeff	IC95%	P	Pc ^b	Coeff	IC95%	P	Pc ^b	Coeff	IC95%	P	Pc ^d	Coeff	IC95%	P	Pc ^d
DQB1																
02:01:01G	0,01 ^a	-0,22-0,25	0,911	.	0,57	0,37-0,89	0,015	0,18	1,43	0,64-3,19	0,376	.	-0,06 ^a	-0,33-0,20	0,640	.
03:01:01G	0,93	0,59-1,45	0,752	.	0,77	0,52-1,13	0,187	.	1,73	1,04-2,87	0,032	0,416	1,93 ^b	0,93-3,98	0,075	.
03:02:01G	0,02 ^a	-0,19-0,25	0,796	.	0,94	0,68-1,31	0,745	.	1,02	0,67-1,57	0,893	.	0,09 ^a	0,01-0,16	0,012	0,144
03:02:03	NA	.	.	.	1,72	0,47-6,19	0,407	.	NA	.	.	.	0,04 ^a	-0,08-0,17	0,532	.
03:03:02G	-0,25 ^a	-0,68-0,18	0,252	.	NC	.	.	.	1,69	0,87-3,31	0,12	.	0,08 ^a	-0,03-0,20	0,155	.
04:02:01G	-0,27 ^a	-0,56-0,00	0,051	.	1,087	0,65-1,79	0,757	.	1,08	0,57-2,05	0,798	.	-0,03 ^a	-0,11-0,05	0,458	.
05:01:01G	0,76	0,42-1,35	0,353	.	0,97	0,70-1,34	0,859	.	0,94	0,53-1,67	0,839	.	-0,05 ^a	-0,20-0,10	0,530	.
05:02:01G	3,7	1,27-10,76	0,016	0,208	1,55	0,66-3,64	0,307	.	2,07	0,98-4,36	0,055	.	-0,12 ^a	-0,21-(-0,03)	0,006	0,078
05:03:01G	-0,07 ^a	-0,57-0,42	0,768	.	4,97	1,79-13,74	0,002	0,024	3,92	1,86-8,25	0,000	0,000	-0,02 ^a	-0,25-0,21	0,843	.
06:01:01G	0,30 ^a	-0,10-0,88	0,12	.	3,67	1,34-10,04	0,011	0,132	1,04	0,60-1,80	0,861	.	NA	.	.	.
06:02:01G	0,88	0,38-2,05	0,777	.	0,97	0,56-1,67	0,927	.	0,64	0,34-1,18	0,16	.	7,46 ^b	1,58-35,20	0,011	0,132
06:03:01G	0,25 ^a	-0,15-0,65	0,218	.	0,82	0,50-1,32	0,42	.	0,52	0,27-1,01	0,054	.	-0,02 ^a	-0,13-0,08	0,662	.
06:04:01G	-0,27 ^a	-0,74-0,18	0,241	.	1	.	.	.	0,44	0,15-1,26	0,128	.	0,00 ^a	.	.	.
06:09:01G	0,30 ^a	-0,23-0,84	0,272	.	1,82	0,69-4,73	0,22	.	1,05	0,45-2,43	0,894	.	0,10 ^a	-0,04-0,25	0,187	.

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de Weibull

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos e infección por VPH. Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones de color verde y rojo, respectivamente.

Los valores en negrita indican significación estadística basada en el IC 95%, p<0,05

Anexo 5. Haplotipos HLA *DRB1-DQB1* asociados a la infección y depuración de Ct

Haplotipo	Infección				Depuración			
	Coeff	IC95%	P	Pc ^b	Coeff	IC95%	P	Pc ^b
<i>DRB1 DQB1</i>								
01:01:01G -03:01:01G	2,73^a	2,21-3,25	0,000	0,000	0,77	0,46-1,27	0,309	.
01:01:01G -03:02:01G	-0,16 ^a	-0,42-0,09	0,218	.	1,00	.	.	.
01:01:01G -03:03:02G	3,10^a	2,61-3,59	0,000	0,000	1,00	.	.	.
01:01:01G -04:02:01G	NA	.	.	.	0,34	0,11-1,00	0,051	.
01:01:01G -05:01:01G	0,38 ^a	-0,02-0,80	0,069	.	0,80	0,55-1,18	0,276	.
01:02:01G -02:01:01G	-0,18 ^a	-0,93-0,57	0,638	.	1,00	.	.	.
01:02:01G -03:01:01G	NA	.	.	.	1,13	0,62-2,08	0,675	.
01:02:01G -03:02:01G	0,19 ^a	-0,34-0,73	0,476	.	1,00	.	.	.
01:02:01G -03:03:02G	14,82	4,54-48,31	0,000	0,000	1,00	.	.	.
01:02:01G -04:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	1,00	.	.	.
01:02:01G -05:01:01G	0,20 ^a	-0,16-0,58	0,282	.	1,13	0,62-2,08	0,675	.
01:03:01 -02:01:01G	NA	.	.	.	1,53	0,74-3,17	0,245	.
01:03:01 -03:01:01G	-1,27^a	-1,64-(-0,90)	0,000	0,000	1,24	0,67-2,31	0,483	.
01:03:01 -03:02:01G	2,97^a	2,44-3,49	0,000	0,000	1,00	.	.	.
01:03:01 -04:02:01G	2,76	1,22-6,25	0,014	1,736	1,00
01:03:01 -05:01:01G	0,62	0,11-3,40	0,587	.	1,31	0,86-2,00	0,203	.
01:03:01 -05:02:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.
03:01:01G -02:01:01G	0,18 ^a	-0,23-0,61	0,378	.	0,57	0,35-0,91	0,019	1,976
03:01:01G -05:01:01G	14,08	5,36-36,96	0,000	0,000	1,00	.	.	.
03:02:01 -02:01:01G	0,00 ^a	.	.	.	1,00	.	.	.
03:02:01 -04:02:01G	-0,98^a	-1,29-(-0,67)	0,000	0,000	1,00	.	.	.
03:02:02 -02:01:01G	-0,60 ^a	-1,07-(-0,14)	0,010	1,240	1,00	.	.	.
03:02:02 -03:01:01G	-0,55^a	-0,86-(-0,25)	0,000	0,000	0,48	0,30-0,76	0,002	0,208
04:01:01G -03:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	1,00	.	.	.

04:02:01	-02:01:01G	0,21 ^a	-0,15-0,58	0,248	.	1,00	.	.	.
04:02:01	-03:01:01G	0,83^a	0,41-1,26	0,000	0,000	1,00	.	.	.
04:02:01	-03:02:01G	0,09 ^a	-0,41-0,61	0,711	.	1,00	.	.	.
04:02:01	-05:01:01G	0,00 ^a	.	.	.	1,00	.	.	.
04:03:01G	-02:01:01G	1,46	0,10-20,24	0,776	.	1,00	.	.	.
04:03:01G	-03:01:01G	5,32	2,58-10,95	0,000	0,000	1,00	.	.	.
04:03:01G	-03:02:01G	5,72	2,01-16,28	0,001	0,124	1,00	.	.	.
04:04:01	-02:01:01G	0,50 ^a	0,16-0,84	0,004	0,496	1,00	.	.	.
04:04:01	-03:01:01G	0,59	0,17-2,06	0,415	.	1,00	.	.	.
04:04:01	-03:02:01G	0,49 ^a	0,13-0,86	0,007	0,868	1,46	0,77-2,77	0,237	.
04:04:01	-05:01:01G	-0,04 ^a	-0,29-0,20	0,746	.	1,00	.	.	.
04:05:01	-02:01:01G	-0,80^a	-1,30(-0,48)	0,000	0,000	1,00	.	.	.
04:05:01	-03:02:01G	3,18	1,04-9,64	0,041	5,084	0,64	0,36-1,13	0,127	.
04:05:01	-03:01:01G	0,02 ^a	-0,26-0,31	0,845	.	0,23	0,11-0,47	0	0
04:05:01	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:05:04	-02:01:01G	0,06 ^a	-0,18-0,31	0,605	.	0,49	0,27-0,89	0,021	2.184
04:05:04	-03:01:01G	1,33	0,73-2,41	0,345	.	NA	.	.	.
04:05:04	-03:02:01G	3,08^a	2,57-3,59	0,000	0,000	1,00	.	.	.
04:05:04	-04:02:01G	0,81	0,28-2,29	0,693	.	1,02	0,26-4,02	0,969	.
04:05:04	-05:01:01G	2,76	1,22-6,25	0,014	1.736	NA	.	.	.
04:07:01G	-02:01:01G	0,05 ^a	-0,38-0,49	0,800	.	0,74	0,43-1,26	0,272	.
04:07:01G	-03:01:01G	0,11 ^a	-0,30-0,53	0,598	.	0,66	0,46-0,93	0,019	1.976
04:07:01G	-03:02:01G	0,93	0,57-1,54	0,806	.	1,53	1,02-2,29	0,039	4.056
04:07:01G	-03:02:03	NA	.	.	.	1,63	0,51-5,19	0,401	.
04:07:01G	-04:02:01G	-0,07 ^a	-1,24-1,08	0,896	.	1,52	0,69-3,34	0,293	.
04:07:01G	-05:01:01G	1,13	0,42-3,05	0,805	.	2,68	1,25-5,74	0,011	1.144
04:08:01	-02:01:01G	3,10^a	2,60-3,61	0,000	0,000	0,32	0,14-0,72	0,006	0,624
04:08:01	-03:01:01G	3,10^a	2,60-3,61	0,000	0,000	0,32	0,14-0,72	0,006	0,624
04:10:01G	-04:02:01G	1,24	.	.	.	NA	.	.	.

04:11:01	-02:01:01G	-0,35 ^a	-0,62-(-0,08)	0,011	1.364	NA	.	.	.
04:11:01	-03:02:01G	-0,35 ^a	-0,62-(-0,08)	0,011	1.364	0,92	0,57-1,51	0,764	.
04:11:01	-04:02:01G	NA	.	.	.	0,72	0,41-1,25	0,252	.
07:01:01G	-02:01:01G	-0,02 ^a	-0,31-0,26	0,863	.	0,55	0,32-0,96	0,038	3.952
07:01:01G	-03:01:01G	-0,06 ^a	-0,59-0,46	0,812	.	NA	.	.	.
07:01:01G	-03:02:01G	1,31	0,49-3,50	0,582	.	1,00	.	.	.
07:01:01G	-03:03:02G	-0,11 ^a	-0,71-0,48	0,706	.	NC	.	.	.
07:01:01G	-04:02:01G	0,06 ^a	-0,18-0,31	0,605	.	1,19	0,20-6,87	0,839	.
07:01:01G	-05:01:01G	0,10 ^a	-0,60-0,81	0,77	.	1,53	0,74-3,17	0,245	.
07:11	-03:02:01G	-0,35 ^a	-0,62-(-0,08)	0,011	1.364	NA	.	.	.
07:11	-04:02:01G	2,63^a	2,14-3,12	0,000	0,000	NA	.	.	.
08:01:01G	-03:01:01G	-0,87^a	-1,20-(-0,54)	0,000	0,000	NA	.	.	.
08:01:01G	-04:02:01G	-0,49 ^a	-1,21,0,21	0,173	.	NA	.	.	.
08:02:01G	-03:01:01G	-0,08 ^a	-0,66-0,48	0,760	.	1,11	0,54-2,25	0,768	.
08:02:01G	-04:02:01G	-0,36 ^a	-0,70-(-0,02)	0,037	4,588	0,89	0,51-1,54	0,68	.
08:02:01G	-05:01:01G	0,00 ^a	.	.	.	0,34	0,11-1,00	0,051	.
08:03:02	-04:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
08:04:01	-03:01:01G	0,19 ^a	-0,35-0,73	0,492	.	0,92	0,53-1,60	0,785	.
08:04:01	-03:02:01G	1,11	0,37-3,32	0,848	.	NA	.	.	.
08:04:01	-04:02:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.
08:04:01	-05:01:01G	NA	.	.	.	0,92	0,53-1,60	0,785	.
08:06	-06:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
08:07	-04:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	6,45	1,27-32,75	0,024	2.496
09:01:02G	-03:01:01G	0,01 ^a	-0,22-0,26	0,875	.	5,53	2,91-10,49	0,000	0,000
09:01:02G	-03:03:02G	-0,34 ^a	-91	0,139	.	1,00	.	.	.
10:01:01G	-05:01:01G	0,73	0,09-5,66	0,765	.	0,85	0,50-1,45	0,565	.
11:01:01G	-03:01:01G	0,87	0,41-1,86	0,735	.	0,9	0,53-1,53	0,708	.
11:01:01G	-03:02:01G	-0,09 ^a	-0,41-0,22	0,568	.	0,77	0,46-1,28	0,321	.
11:01:02	-05:01:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.

11:02:01 -03:01:01G	0,08 ^a	-0,26-0,43	0,646	.	1,89	1,25-2,87	0,003	0,312
11:02:01 -03:02:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
11:02:01 -04:02:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.
11:02:01 -05:01:01G	NA	.	.	.	1,81	1,01-3,23	0,043	.
11:04:01G -02:01:01G	2,46	1,07-5,67	0,034	4,216	NA	.	.	.
11:04:01G -03:01:01G	-0,20 ^a	-0,55-0,14	0,25	.	1,32	0,69-2,52	0,388	.
11:04:01G -03:02:01G	0,65^a	0,38-0,92	0,000	0,000	1,00	.	.	.
11:04:01G -04:02:01G	-0,54 ^a	-0,95-(-0,12)	0,011	1,364	NA	.	.	.
11:04:01G -05:01:01G	-1,27^a	-1,64-(-0,90)	0,000	0,000	1,16	0,53-2,54	0,694	.
11:04:01G -06:03:01G	0,02 ^a	-0,56-0,61	0,935	.	NA	.	.	.
11:14:01 -04:02:01G	0,25 ^a	-0,71	0,17	.	NA	.	.	.
12:01:01G -03:02:01G	3,23^a	2,73-3,73	0,000	0,000	5,53	2,91-10,49	0,000	0,000
13:01:01G -03:01:01G	3,12	1,46-6,67	0,003	0,372	2,28	0,69-7,49	0,173	.
13:01:01G -05:02:01G	NA	.	.	.	3,04	1,18-7,83	0,021	2,184
13:01:01G -05:03:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
13:01:01G -06:02:01G	9,58	4,44-20,64	0,000	0,000	NA	.	.	.
13:01:01G -06:03:01G	0,27 ^a	-0,89	0,224	.	1,05	0,67-1,65	0,818	.
13:02:01G -03:01:01G	-0,26 ^a	-1,18	0,377	.	0,77	0,18-3,34	0,737	.
13:02:01G -05:01:01G	1,17	.	.	.	1,28	0,75-2,20	0,355	.
13:02:01G -06:02:01G	-0,26 ^a	-0,77	0,185	.	4,21	1,82-9,73	0,001	0,104
13:02:01G -06:04:01G	-0,27 ^a	-0,92	0,241	.	1,00	.	.	.
13:02:01G -06:09:01G	0,30 ^a	-1,07	0,272	.	1,82	0,69-4,73	0,22	.
13:03:01G -03:01:01G	-0,10 ^a	-2,7	0,875	.	1,24	0,67-2,31	0,483	.
13:03:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.
13:03:01G -04:02:01G	-1,07^a	-0,73	0,000	0,000	NA	.	.	.
13:03:01G -05:01:01G	NA	.	.	.	1,24	0,67-2,31	0,483	.
13:04 -03:01:01G	4,87	1,30-18,27	0,019	2,356	NA	.	.	.
13:04 -04:02:01G	-0,74 ^a	-1,05	0,006	0,744	NA	.	.	.
13:05:01 -03:01:01G	2,50^a	1,87-3,13	0	0	1,38	0,68-2,81	0,361	.

13:05:01	-03:02:01G	2,50^a	1,87-3,13	0	0	0,83	0,55-1,27	0,414	.
14:01:01G	-05:03:01G	-0,07 ^a	-0,99	0,768	.	4,97	1,79-13,74	0,002	0,208
14:01:01G	-06:03:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
14:02:01G	-03:01:01G	0,22 ^a	-0,65	0,179	.	1,42	0,83-2,44	0,199	.
14:02:01G	-03:02:01G	0,69^a	0,41-0,97	0,000	0,000	1,00	.	.	.
14:02:01G	-04:02:01G	-0,57 ^a	-1,09	0,039	4.836	1,11	0,54-2,25	0,768	.
14:02:01G	-05:01:01G	NA	.	.	.	0,64	0,39-1,04	0,073	.
14:02:01G	-06:04:01G	-0,70 ^a	-0,93	0,003	0,372	NA	.	.	.
14:02:01G	-06:09:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
14:04:01	-03:01:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
14:06:01	-06:03:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
15:01:01G	-05:01:01G	-0,08 ^a	-0,48	0,47	.	1,30	0,70-2,43	0,395	.
15:01:01G	-05:02:01G	-0,98^a	-0,62	0,000	0,000	NA	.	.	.
15:01:01G	-06:02:01G	1,05	0,39-2,82	0,917	.	0,97	0,56-1,67	0,927	.
15:01:01G	-06:03:01G	9,58	4,44-20,64	0,000	0,000	NA	.	.	.
15:01:01G	-06:04:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
15:02:01G	-06:01:01G	0,39 ^a	-0,98	0,12	.	0,59	0,18-1,93	0,391	.
15:03:01G	-06:02:01G	0,10 ^a	-1,59	0,792	.	NA	.	.	.
16:01:01	-03:01:01G	-0,23 ^a	-0,69	0,184	.	NA	.	.	.
16:01:01	-05:02:01G	2,77	0,83-9,27	0,097	.	1,23	0,55-2,76	0,608	.
16:01:01	-06:03:01G	NA	.	.	.	3,04	1,18-7,83	0,021	2.184
16:02:01G	-03:01:01G	1,18	0,64-2,15	0,586	.	0,66	0,35-1,24	0,198	.
16:02:01G	-03:02:01G	-0,30 ^a	-1,41	0,406	.	0,43	0,25-0,74	0,003	0,312
16:02:01G	-03:03:02G	0,01 ^a	-0,22-0,26	0,875	.	NA	.	.	.
16:02:01G	-04:02:01G	1,33	0,73-2,41	0,345	.	NA	.	.	.
16:02:01G	-05:01:01G	2,73^a	2,21-3,25	0,000	0,000	NA	.	.	.
16:02:01G	-05:02:01G	-0,63 ^a	-0,95	0,010	1.240	NA	.	.	.
16:02:01G	-05:03:01G	0,00 ^a	.	.	.	NA	.	.	.
16:02:01G	-06:03:01G	3,12	1,46-6,67	0,003	0,372	2,28	0,69-7,49	0,173	.

16:02:01G -06:04:01G	NA	.	.	.	1,00	.	.	.
16:02:01G -06:09:01G	NA	.	.	.	0,77	0,18-3,34	0,737	.

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de Weibull

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos e infección por VPH.

Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones de color verde y rojo, respectivamente.

Los valores en negrita indican significación estadística basada en el IC 95%, $p < 0,05$

Anexo 6. Haplotipos HLA DRB1-DQB1 asociados a la persistencia y reinfección de Ct.

Haplotipo	Persistencia				Reinfección			
	Coeff	IC95%	P	Pc ^d	Coeff	IC95%	P	Pc ^d
<i>DRB1 - DRB1</i>								
01:01:01G -03:01:01G	0,48 ^a	0,31-0,66	0,000	0,000	NA	.	.	.
01:01:01G -03:02:01G	4,76	2,03-11,14	0,000	0,000	NA	.	.	.
01:01:01G -03:03:02G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
01:01:01G -04:02:01G	NA	.	.	.	-0,32 ^a	-0,51-(-0,13)	0,001	0,070
01:01:01G -05:01:01G	1,54	0,76-3,11	0,228	.	-0,18 ^a	-0,33-(-0,04)	0,012	0,840
01:02:01G -02:01:01G	NA	.	.	.	5,04 ^b	1,10-23,06	0,037	2.590
01:02:01G -03:01:01G	2,81	1,48-5,32	0,001	0,077	0,01 ^a	-0,08-0,11	0,792	.
01:02:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
01:02:01G -03:03:02G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
01:02:01G -04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
01:02:01G -05:01:01G	1,32	0,55-3,13	0,525	.	5,30 ^b	0,88-31,89	0,069	.
1:03:01 -02:01:01G	9,52	2,77-32,71	0,000	0,000	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	0,000
1:03:01 -03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
1:03:01 -03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
1:03:01 -04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
1:03:01 -05:01:01G	9,52	2,77-32,71	0,000	0,000	0,01 ^c	0,00-0,05	0,000	0,000
1:03:01 -05:02:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
03:01:01G -02:01:01G	0,3	0,06-1,46	0,139	.	16,88 ^b	1,55-183,05	0,020	1.400
03:01:01G -05:01:01G	NA	.	.	.	5,04 ^b	1,10-23,06	0,037	2.590
3:02:01 -02:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
3:02:01 -04:02:01G	NA	.	.	.	-0,07 ^a	-0,20-0,05	0,237	.
3:02:02 -02:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
3:02:02 -03:01:01G	0,91	0,51-1,61	0,753	.	NA	.	.	.
04:01:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.

4:02:01	-02:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:02:01	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:02:01	-03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:02:01	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:03:01G	-02:01:01G	5,25	2,10-13,15	0,000	0,000	NA	.	.	.
04:03:01G	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:03:01G	-03:02:01G	6,89	2,82-16,83	0,000	0,000	NA	.	.	.
4:04:01	-02:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:04:01	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:04:01	-03:02:01G	1,00	.	.	.	0,08 ^b	0,00-1,18	0,067	.
4:04:01	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:05:01	-02:01:01G	1,12	0,72-1,75	0,593	.	-0,47 ^a	-0,61-(-0,34)	0,000	0,000
4:05:01	-03:02:01G	1,05	0,32-3,44	0,93	.	-0,09 ^a	-0,52-0,34	0,672	.
4:05:01	-03:01:01G	51,72	10,70-249,94	0,000	0,000	-0,07 ^a	-0,21-0,07	0,327	.
4:05:01	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:05:04	-02:01:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
4:05:04	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:05:04	-03:02:01G	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
4:05:04	-04:02:01G	1,45	0,76-2,77	0,252	.	5,86 ^b	0,91-37,68	0,062	.
4:05:04	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
04:07:01G	-02:01:01G	1,04	0,53-2,04	0,908	.	0,00 ^a	.	.	.
04:07:01G	-03:01:01G	1,00	0,32-3,07	0,993	.	0,02 ^a	-0,06-0,11	0,591	.
04:07:01G	-03:02:01G	1,14	0,65-1,99	0,633	.	0,10 ^a	0,03-0,17	0,004	0,280
04:07:01G	-03:02:03	NA	.	.	.	0,04 ^a	-0,08-0,17	0,532	.
04:07:01G	-04:02:01G	1,00	.	.	.	0,04 ^a	-0,01-0,11	0,164	.
04:07:01G	-05:01:01G	1,66	0,57-4,82	0,35	.	NA	.	.	.
4:08:01	-02:01:01G	0,70	0,34-1,44	0,338	.	NA	.	.	.
4:08:01	-03:01:01G	0,70	0,34-1,44	0,338	.	NA	.	.	.

04:10:01G	-04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
4:11:01	-02:01:01G	1,12	0,51-2,46	0,774	.	NA	.	.	.
4:11:01	-03:02:01G	0,66	0,35-1,26	0,213	.	0,10 ^b	0,01-0,82	0,032	2.240
4:11:01	-04:02:01G	2,31	1,02-5,21	0,044	3.388	0,03 ^a	-0,04-0,10	0,393	.
07:01:01G	-02:01:01G	1,44	0,32-6,32	0,628	.	0,01^c	0,00-0,05	0,000	0,000
07:01:01G	-03:01:01G	NC	.	.	.	NA	.	.	.
07:01:01G	-03:02:01G	5,25	2,10-13,15	0,000	0,000	0,00 ^a	.	.	.
07:01:01G	-03:03:02G	NA	.	.	.	0,08 ^a	-0,03-0,20	0,155	.
07:01:01G	-04:02:01G	1,00	.	.	.	0,08 ^a	-0,03-0,20	0,155	.
07:01:01G	-05:01:01G	9,52	2,77-32,71	0,000	0,000	0,01^c	0,00-0,05	0,000	0,000
7:11	-03:02:01G	1,12	0,51-2,46	0,774	.	NA	.	.	.
7:11	-04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
08:01:01G	-03:01:01G	1,45	0,44-4,79	0,538	.	-0,17 ^a	-0,36-0,02	0,081	.
08:01:01G	-04:02:01G	1,45	0,44-4,79	0,538	.	-0,17 ^a	-0,36-0,02	0,081	.
08:02:01G	-03:01:01G	31,4	5,96-165,42	0,000	0,000	NA	.	.	.
08:02:01G	-04:02:01G	0,68	0,29-1,62	0,394	.	-0,00 ^a	-0,10-0,10	0,949	.
08:02:01G	-05:01:01G	1,00	.	.	.	-0,32 ^a	-0,51-(-0,13)	0,001	0,070
8:03:02	-04:02:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
8:04:01	-03:01:01G	2,81	1,48-5,32	0,001	0,077	NA	.	.	.
8:04:01	-03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
8:04:01	-04:02:01G	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
8:04:01	-05:01:01G	2,81	1,48-5,32	0,001	0,077	NA	.	.	.
8:06	-06:02:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
8:07	-04:02:01G	NA	.	.	.	0,03 ^a	-0,09-0,15	0,626	.
09:01:02G	-03:01:01G	1,74	0,89-3,39	0,101	.	0,03 ^a	-0,05-0,12	0,425	.
09:01:02G	-03:03:02G	1,74	0,89-3,39	0,101	.	0,00 ^a	.	.	.
10:01:01G	-05:01:01G	0,36	0,21-0,62	0,000	0,000	-0,10 ^a	-0,23-0,02	0,122	.
11:01:01G	-03:01:01G	21,83	5,62-84,75	0,000	0,000	2,42 ^b	0,48-12,10	0,279	.

11:01:01G -03:02:01G	51,72	10,70-249,94	0,000	0,000	0,07 ^a	-0,20-0,34	0,61	.
11:01:02 -05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:02:01 -03:01:01G	0,82	0,34-1,97	0,666	.	0,01 ^a	-0,08-0,11	0,792	.
11:02:01 -03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:02:01 -04:02:01G	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
11:02:01 -05:01:01G	NA	.	.	.	0,01 ^a	-0,08-0,11	0,792	.
11:04:01G -02:01:01G	10,34	2,87-37,24	0,000	0,000	NA	.	.	.
11:04:01G -03:01:01G	2,1	0,78-5,63	0,137	.	3,52 ^b	0,68-18,05	0,131	.
11:04:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:04:01G -04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:04:01G -05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:04:01G -06:03:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
11:14:01 -04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
12:01:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	0,03 ^a	-0,05-0,12	0,425	.
13:01:01G -03:01:01G	1,00	.	.	.	-0,02 ^a	-0,17-0,12	0,768	.
13:01:01G -05:02:01G	NA	.	.	.	-0,17 ^a	-0,27-(-0,08)	0,000	0,000
13:01:01G -05:03:01G	1,00	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
13:01:01G -06:02:01G	0,11 ^a	-0,07-0,29	0,235	.	NA	.	.	.
13:01:01G -06:03:01G	0,52	0,27-1,03	0,064	.	-0,02 ^a	-0,13-0,08	0,662	.
13:02:01G -03:01:01G	0,48	0,15-1,52	0,216	.	0,10 ^a	-0,00-0,21	0,060	.
13:02:01G -05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
13:02:01G -06:02:01G	NA	.	.	.	6,06 ^b	0,96-38,36	0,055	.
13:02:01G -06:04:01G	0,39	0,12-1,24	0,111	.	0,00 ^a	.	.	.
13:02:01G -06:09:01G	1,17	0,50-2,76	0,704	.	0,10 ^a	-0,04-0,25	0,187	.
13:03:01G -03:01:01G	NA	.	.	.	-0,17 ^a	-0,36-0,02	0,081	.
13:03:01G -03:02:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
13:03:01G -04:02:01G	NA	.	.	.	-0,17 ^a	-0,36-0,02	0,081	.
13:03:01G -05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.

13:04	-03:01:01G	1,39	0,70-2,53	0,368	.	NA	.	.	.
13:04	-04:02:01G	1,45	0,44-4,79	0,538	.	NA	.	.	.
13:05:01	-03:01:01G	4,2	1,97-8,95	0,000	0,000	2,92 ^b	1,24-6,86	0,014	0,980
13:05:01	-03:02:01G	4,2	1,97-8,95	0,000	0,000	-0,02 ^a	-0,10-0,05	0,567	.
14:01:01G	-05:03:01G	3,76	1,76-8,03	0,001	0,077	-0,02 ^a	-0,25-0,21	0,843	.
14:01:01G	-06:03:01G	1,00	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
14:02:01G	-03:01:01G	0,89	0,42-1,88	0,772	.	-0,04 ^a	-0,22-0,13	0,603	.
14:02:01G	-03:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
14:02:01G	-04:02:01G	31,42	5,96-165,42	0,000	0,000	NA	.	.	.
14:02:01G	-05:01:01G	0,48^a	0,31-0,66	0,000	0,000	NA	.	.	.
14:02:01G	-06:04:01G	0,48	0,15-1,52	0,216	.	NA	.	.	.
14:02:01G	-06:09:01G	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
14:04:01	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
14:06:01	-06:03:01G	1,00	.	.	.	NA	.	.	.
15:01:01G	-05:01:01G	0,08 ^a	-0,12-0,30	0,403	.	NA	.	.	.
15:01:01G	-05:02:01G	NA	.	.	.	-0,07 ^a	-0,20-0,05	0,237	.
15:01:01G	-06:02:01G	0,73	0,35-1,52	0,411	.	7,46 ^b	1,58-35,20	0,011	0,77
15:01:01G	-06:03:01G	0,11 ^a	-0,07-0,29	0,235	.	NA	.	.	.
15:01:01G	-06:04:01G	NA	.	.	.	0,00 ^a	.	.	.
15:02:01G	-06:01:01G	1,03	0,61-1,76	0,887	.	NA	.	.	.
15:03:01G	-06:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:01:01	-03:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:01:01	-05:02:01G	2,11	0,93-4,77	0,072	.	-0,17^a	-0,27-(-0,08)	0,000	0,000
16:01:01	-06:03:01G	NA	.	.	.	-0,17^a	-0,27-(-0,08)	0,000	0,000
16:02:01G	-03:01:01G	1,34	0,51-3,50	0,550	.	0,01 ^a	-0,06-0,08	0,798	.
16:02:01G	-03:02:01G	0,24 ^a	0,10-0,39	0,001	0,077	0,00 ^a	-0,13-0,13	0,988	.
16:02:01G	-03:03:02G	1,74	0,89-3,39	0,101	.	NA	.	.	.
16:02:01G	-04:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:02:01G	-05:01:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.

16:02:01G -05:02:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:02:01G -05:03:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:02:01G -06:03:01G	NA	.	.	.	-0,02 ^a	-0,17-0,12	0,768	.
16:02:01G -06:04:01G	NA	.	.	.	NA	.	.	.
16:02:01G -06:09:01G	NA	.	.	.	0,10 ^a	-0,00-0,21	0,060	.

^a El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico logístico

^b El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de Weibull

^c El modelo de riesgos proporcionales de Cox no cumplió el supuesto de proporcionalidad, se realizó el modelo paramétrico de gompertz

^d Los valores p obtenidos de cada uno de los modelos fueron corregidos con el método Bonferroni

El análisis se ajustó por edad, edad de inicio de vida sexual, número de parejas sexuales a lo largo de la vida, método de planificación, abortos e infección por VPH. Los alelos que favorecen (mayor probabilidad o aparición más temprana) o no favorecen (menor probabilidad o aparición más tardía) un evento se muestra como asociaciones de color verde y rojo, respectivamente.

Los valores en negrita indican significación estadística basada en el IC 95%, $p < 0,05$

Anexo 7. Péptidos de la proteína Ct 3-oxoacyl-[acyl-carrier protein] reductase con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	1	AIINISSIVGLRGSPGQNTY ^a	IVGLRGSPG	1.76
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01	Ocurrencia tardía	1	YNVCSAVIRPMIKARSGAII	IRPMIKARS	0.44
		*12:01		2	YAAAKAGIIGFSKALSKEVG	IIGFSKALS	1.85
		*14:02		-	-	-	-
Depuración		*09:01	Mayor Probabilidad	1	RGSPGQNTYAAAKAGIIGFS ^c	YAAAKAGII	0.07
		*12:01	-	-	-	-	
Persistencia	<i>DRB1</i>	*08:02	Mayor Probabilidad	1	YNVCSAVIRPMIKARSGAII ^b	IRPMIKARS	0.80
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01	Mayor Probabilidad	1	YNVCSAVIRPMIKARSGAII	IRPMIKARS	0.44
		*14:01		2	YAAAKAGIIGFSKALSKEVG	IIGFSKALS	1.85
		*14:02		-	-	-	-
		*13:05	1	YNVCSAVIRPMIKARSGAII ^a	IRPMIKARS	0.44	
	2	YAAAKAGIIGFSKALSKEVG ^a	IIGFSKALS	1.85			
Reinfección		*01:03		1	GSPGQNTYAAAKAGIIGFSK ^a	YAAAKAGII	1.53
		*08:02	Ocurrencia temprana	1	YNVCSAVIRPMIKARSGAII ^b	IRPMIKARS	0.80
		*16:01	-	-	-	-	
Depuración	<i>DQB1</i>	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 8. Péptidos de la proteína de Ct anti-sigma B con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	1	GIRVLLQSYHQVGKNAGKIA	YHQVGKNAG	1.56
		*11:01		1	IRVLLQSYHQVGKNAGKIAL	YHQVGKNAG	0.47
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
Depuración		*14:02		-	-	-	-
		*09:01	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia	DRB1	*12:01		-	-	-	-
		*08:02	Mayor Probabilidad	1	IRVLLQSYHQVGKNAGKIAL ^b	YHQVGKNAG	0.73
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01		1	IRVLLQSYHQVGKNAGKIAL	YHQVGKNAG	0.47
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Redetección		*13:05		1	IRVLLQSYHQVGKNAGKIAL ^a	YHQVGKNAG	0.47
		*01:03		-	-	-	-
		*08:02	Ocurrencia temprana	1	IRVLLQSYHQVGKNAGKIAL ^b	YHQVGKNAG	0.73
Depuración Persistencia	DQB1	*16:01		-	-	-	-
		*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

Anexo 9. Péptidos de la proteína de Ct CPFA con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infección		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*12:01		-	-	-	-
		*14:02		-	-	-	-
Depuración		*09:01	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*12:01		-	-	-	-
		DRB1					
Persistencia		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01	Major probability	-	-	-	-
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02		-	-	-	-
		*13:05		-	-	-	-
Reinfección		*01:03		-	-	-	-
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*16:01		-	-	-	-
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-

Anexo 10. Péptidos de la proteína de Ct PMP-C con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank	
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	1	EDTLSPGVTVLEAAGAQISC ^a	VTVLEAAGA	1.63	
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-	
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	MAESLSTNVISLADTKAKDN ^c	VISLADTKA	1.93	
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-	
				1	ITGNTVVFDLPRLGSKETV	FDSLPRLGS	0.38	
		*11:01		2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ	YKVLVRAQT	0.48	
			Ocurrencia tardía	3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA	FSVTLKAVS	1.74	
		*12:01		-	-	-	-	
Depuración		*14:02		1	CLRCPVVYKINIVNQGATA	YKINIVNQG	0.85	
				2	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.53	
		*09:01	Mayor Probabilidad	1	SYVCKPVEYVISVSNPGDLV ^c	YVISVSNPG	0.76	
				2	VENPVPDGYAHSSGQRVLT ^f	YAHSSGQRV	1.10	
	*12:01		-	-	-	-		
Persistencia	DRB1			1	NPGESLQYKVLVRAQTPGQ ^f	YKVLVRAQT	1.33	
			*08:02	Mayor Probabilidad	2	CVGENTVYRICVTNRGSAED ^b	YRICVTNRG	1.65
				3	RCPVVYKINIVNQGATARN ^b	YKINIVNQG	1.89	
				4	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^b	YVISVSNPG	1.98	
		*10:01	Menor Probabilidad	1	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^a	YVISVSNPG	1.55	
				1	ITGNTVVFDLPRLGSKETV	FDSLPRLGS	0.38	
		*11:01		2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ	YKVLVRAQT	0.48	
				3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA	FSVTLKAVS	1.74	
		*14:01		-	-	-	-	
		*14:02	Mayor Probabilidad	1	CLRCPVVYKINIVNQGATA	YKINIVNQG	0.85	
			2	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.53		
Reinfección				1	ITGNTVVFDLPRLGSKETV ^a	FDSLPRLGS	0.38	
		*13:05		2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ ^a	YKVLVRAQT	0.48	
				3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA ^a	FSVTLKAVS	1.74	
		*01:03		-	-	-	-	
				1	NPGESLQYKVLVRAQTPGQ ^f	YKVLVRAQT	1.33	
	*08:02	Ocurrencia temprana	2	CVGENTVYRICVTNRGSAED ^b	YRICVTNRG	1.65		
			3	RCPVVYKINIVNQGATARN ^b	YKINIVNQG	1.89		
			4	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^b	YVISVSNPG	1.98		

		*16:01		1	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^a	YVISVSNPG	1.04
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 11. Péptidos de la proteína de Ct PMP-A con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank	
Infección		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-	
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	SHMFGDSFVADLPEHITSEG	FVADLPEHI	0.56	
		2		SSCEPNTNYIINRKLILSDF	YIINRKLIL	1.17		
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	ANKKGGAIYAQYVNLEQNQD ^c	IYAQYVNLE	1.40	
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-	
			Ocurrencia tardía	*11:01	1	RKLILSDFSLLNKVSSEGAF	FSLLNKVSS	0.84
					2	FSESSIEFTDLRKLVAFGSE	FTDLRKLVA	0.90
					3	FRNLAGKISFLGKNSSASIH	ISFLGKNSS	1.80
		*12:01	Ocurrencia tardía	1	SGDFAGSRILFLNNQQITFE ^d	ILFLNNQQI	1.49	
		2		EDVANRTSIFNQPVHLYNGT ^d	IFNQPVHLY	1.68		
*14:02		1	SCPEGTNYIINRKLILSDFS	YIINRKLIL	1.47			
Depuración	DRB1	*09:01		1	PFFSPKGMIVFSGANLLDDA ^c	IVFSGANLL	1.11	
		*12:01	Mayor Probabilidad	1	SGDFAGSRILFLNNQQITFE ^d	ILFLNNQQI	1.49	
				2	EDVANRTSIFNQPVHLYNGT ^d	IFNQPVHLY	1.68	
		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-	
*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-			
Persistencia		*11:01		1	RKLILSDFSLLNKVSSEGAF	FSLLNKVSS	0.84	
				2	FSESSIEFTDLRKLVAFGSE	FTDLRKLVA	0.90	
				3	FRNLAGKISFLGKNSSASIH	ISFLGKNSS	1.80	
		*14:01	Mayor Probabilidad	1	IAFSGNTMLHITKKASLDRH ^a	LHITKKASL	0.54	
		*14:02		1	SCPEGTNYIINRKLILSDFS	YIINRKLIL	1.47	
		*13:05		1	RKLILSDFSLLNKVSSEGAF ^a	FSLLNKVSS	0.84	
2	FSESSIEFTDLRKLVAFGSE ^a		FTDLRKLVA	0.90				
3	FRNLAGKISFLGKNSSASIH ^a		ISFLGKNSS	1.80				
Reinfección		*01:03		-	-	-		
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-		
		*16:01		-	-	-		
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-		
Persistencia		*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-		

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

^d Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que reducen la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de eliminación y Ocurrencia tardía de la infección

Anexo 12. Péptidos de la proteína de Ct PMP-B con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank	
Infección		*01:02	Mayor Probabilidad	1	EQKEGSKLIMEPGAVLSNQN ^a	LIMEPGAVL	1.82	
				2	WVSGVGTFLAQQGTPLSEEF ^a	FLAQQGTPL	1.90	
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	DTDLLIDYVVDTTISKNTAK ^a	YVVDTTISK	0.57	
				2	YYSRGTSSVAIDAKPRQDFIL ^a	VAIDAKPRQ	0.72	
				3	GWLADLRISMDLKEPSKDSS ^a	ISMDLKEPS	1.02	
				4	GVVSYGHIKHDTTTLYPSIH ^a	IKHDTTTLY	1.52	
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	TCENSHRLQFLKNSSDKQGG ^c	LQFLKNSSD	0.65	
				2	SITNITGIIANIANNKATDVG ^c	IIEIANNKA	1.44	
				3	VSFENITSLKVQTNGAEEKG ^c	LKVQTNGAE	1.55	
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-	
		*11:01		1	ASVYGGKFLYFLLNKQHGWA	YFLLNKQHG	1.67	
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-	
Depuración	DRB1		Mayor Probabilidad	1	ADSQEVLFSSINKATKDGGAI	FSINKATKD	1.68	
				2	QDLEEIRIKYNKAGTFETKK	IKYNKAGTF	2.00	
				*09:01	-	-	-	
	*12:01		-	-	-			
	*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-			
Persistencia			Menor Probabilidad	1	RNNPVCKYRVLSSNEAGQVI ^c	YRVLSSNEA	0.88	
				2	ITLENGSFIFERNQANKRGA ^c	FIFERNQAN	1.04	
				3	YFHKGSEYSYQASVYGGKFL ^c	YSYQASVYG	1.30	
				1	ASVYGGKFLYFLLNKQHGWA	YFLLNKQHG	1.67	
				*11:01		-	-	
				*14:01		-	-	
				*14:02	Mayor Probabilidad	1	ADSQEVLFSSINKATKDGGAI ^e	FSINKATKD
		2	QDLEEIRIKYNKAGTFETKK ^e	IKYNKAGTF	2.00			
	*13:05		1	ASVYGGKFLYFLLNKQHGWA ^a	YFLLNKQHG	1.67		
Reinfección				1	WVSGVGTFLAQQGTPLSEEF ^a	FLAQQGTPL	1.27	
				2	TAKKGGGIYAKKAKMSRIDQ ^a	IYAKKAKMS	1.91	
				*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-
				*16:01		1	RNNPVCKYRVLSSNEAGQVI ^a	YRVLSSNEA
		2	FAEKDVSFENITSLKVQTNG ^a	FENITSLKV	0.50			
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-		

Persistencia

*05:03

Mayor Probabilidad

-

-

-

-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad al Ct

^e Péptidos con mutaciones del núcleo de unión respecto a variantes invasivas y no invasivas

Anexo 13. Péptidos de la proteína de Ct PMP-D con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	1	FAGKESHITALNATEGHAIV ^a	ITALNATEG	1.52
				2	SVDFSRNIASLGGGALQASE ^a	IASLGGGAL	1.66
				3	RTLSAENLVAIDGYKAYGG ^a	LVAIDGYKG	1.93
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	ISWNPTGYRLDPQKAGALVF	YRLDPQKAG	1.52
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	GAIAAQEIVSIQNNQAGISF ^b	IVSIQNNQA	0.49
				2	NCELVNNGYVLFDRDNRGRVY ^b	YVLFDRDNRG	1.81
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		1	KDNIVKTFASNGKILGGGAI	FASNGKILG	0.56
				2	AASGKVLVANDKKTSEFIEN	FVANDKKTSE	1.60
		*12:01	Ocurrencia tardía	1	ALWEEGAVLSALKNARFAHN	LSALKNARF	0.31
2	AILGREVAILHNAAVVFEQN			VAILHNAAV	1.12		
*14:02		1	KDNIVKTFASNGKILGGGAI	FASNGKILG	1.51		
Depuración	DRB1	*09:01		-	-	-	-
		*12:01	Mayor Probabilidad	1	ALWEEGAVLSALKNARFAHN	LSALKNARF	0.31
				2	AILGREVAILHNAAVVFEQN	VAILHNAAV	1.12
		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-		
Persistencia		*11:01		1	KDNIVKTFASNGKILGGGAI	FASNGKILG	0.56
				2	AASGKVLVANDKKTSEFIEN	FVANDKKTSE	1.60
		*14:01	Mayor Probabilidad	1	GKILGGGAILATGKVEITNN ^a	ILATGKVEI	0.38
				2	ANFANGGAIASGKVLVFN ^a	IASGKVLVFN	1.58
		*14:02		1	KDNIVKTFASNGKILGGGAI	FASNGKILG	1.51
		*13:05		1	KDNIVKTFASNGKILGGGAI ^a	FASNGKILG	0.56
2	AASGKVLVANDKKTSEFIEN ^a			FVANDKKTSE	1.60		
Reinfeción		*01:03		1	TQEEFPLFSKKEGRPLSSGY ^a	FSKKEGRPL	1.87
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*16:01		1	CELVNNGYVLFDRDNRGRVY ^a	YVLFDRDNRG	1.03
				2	GAIAAQEIVSIQNNQAGISF ^a	IVSIQNNQA	1.49
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

Anexo 14. Péptidos de la proteína Ct PMP-F con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	VNWAPVGIVDPIRRGDLIA ^a	YIVDPIRRG	1.06
				2	LRNNKGSIFYDNNNTATHAGG ^a	IYFDNNTA	1.93
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	RGKAEQPILSIETTNDGQLG ^c	ILSIETTND	0.45
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*12:01	Ocurrencia tardía	1	GAIRSGGPIRFLNNQDVLFY ^d	IRFLNNQDV	1.14
Depuración	DRB1	*14:02		1	SNNSGPIVFNYNQGGKGGAI ^e	IVFNYNQGG	0.96
				2	LLGVRKLFHINNNIVTPYTL ^e	FHINNNIVT	1.08
		*09:01	Mayor Probabilidad	1	LTPFAQALFSRTEPASIRES ^c	FSRTEPASI	1.44
		*12:01	Mayor Probabilidad	1	GAIRSGGPIRFLNNQDVLFY ^d	IRFLNNQDV	1.14
Persistencia		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	1	SNNSGPIVFNYNQGGKGGAI ^e	IVFNYNQGG	0.96
Reinfección				2	LLGVRKLFHINNNIVTPYTL ^e	FHINNNIVT	1.08
		*13:05		-	-	-	-
		*01:03		-	-	-	-
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
Depuración	DQB1	*16:01		-	-	-	
Persistencia		*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	
		*05:03		-	-	-	

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

^d Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que reducen la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de eliminación y Ocurrencia tardía de la infección

^e Péptidos que se unen a mutaciones del núcleo en relación con variantes invasivas y no invasivas

Anexo 15. Péptidos de la proteína de Ct PMP-G con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	1	SMGSGGKITTLRAKAGHQIL ^a	ITTLRAKAG	1.99
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	MANEAPIAFVANVAGVRGGG	FVANVAGVR	1.55
				2	LSADYGDMIFDGNLKR	MIFDGNLKR	1.65
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	VAGVRGGGIAAVQDGGQGV ^c	IAAVQDGGQ	1.96
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		1	CFGNLLGSFTVLGRGHSLTF	FTVLGRGHS	0.88
		*12:01	Ocurrencia tardía	1	EIGVGLPIVITPSKLYLNEL ^d	IVITPSKLY	0.54
				2	GTIYSKTDLLLLNNEKFSFY ^d	LLLLNNEKF	1.24
		*14:02		1	MANEAPIAFVANVAGVRGGG	FVANVAGVR	1.43
Depuración	DRB1	*09:01		-	-	-	-
		*12:01	Mayor Probabilidad	1	EIGVGLPIVITPSKLYLNEL ^d	IVITPSKLY	0.54
				2	GTIYSKTDLLLLNNEKFSFY ^d	LLLLNNEKF	1.24
Persistencia		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01		1	CFGNLLGSFTVLGRGHSLTF	FTVLGRGHS	0.88
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	1	MANEAPIAFVANVAGVRGGG	FVANVAGVR	1.43
Reinfección		*13:05		1	CFGNLLGSFTVLGRGHSLTF ^a	FTVLGRGHS	0.88
		*01:03		1	GSGGKITTLRAKAGHQILFN ^a	LRAKAGHQI	1.64
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*16:01		1	VSGDGEVGVVFFSSNVAAGKG ^a	VVFFSSNVA	0.72
				2	RDALGQGYRYISGGYSLGAN ^a	YRYISGGYS	1.59
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 16. Péptidos de la proteína de Ct LSU con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*14:02		-	-	-	-
Depuración		*09:01	Mayor Probabilidad	1	IAVKGNFVFTPAAHVVDRP ^c	VFVTPAAHV	1.13
		*12:01		-	-	-	-
Persistencia	DRB1	*08:02	Mayor Probabilidad	1	GIRYENEYVRRKAGKAAKTG ^b	YVRRKAGKA	1.58
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*14:01	Mayor Probabilidad	1	VEKNTLISIKGINKQLVGEF ^a	IKGINKQLV	0.71
		*14:02		-	-	-	-
		*13:05		-	-	-	-
		*01:03		1	GIRYENEYVRRKAGKAAKTG ^a	YVRRKAGKA	0.77
Reinfección		*08:02	Ocurrencia temprana	1	GIRYENEYVRRKAGKAAKTG ^b	YVRRKAGKA	1.58
		*16:01		-	-	-	-
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 17. Péptidos de la proteína de Ct OMP-A con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	1	VSFADTIRIAQPKLAKPVL ^a	IRIAQPKLA	1.14
				2	AVTIETRLIDERA AHVNAQF ^a	LIDERA AHV	1.48
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	MRMGYYGDFVFDRLKTDVN	FVFDRLKLT	1.00
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
Depuración	DRB1	*14:02		1	SGFDTANIVPNTALNQAVVE	IVPNTALNQ	0.90
		*09:01	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*12:01		-	-	-	-
		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*10:01	Menor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*11:01		-	-	-	-
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	1	SGFDTANIVPNTALNQAVVE	IVPNTALNQ	0.90
		*13:05		-	-	-	-
Reinfección		*01:03		1	VSFADTIRIAQPKLAKPVL ^a	IRIAQPKLA	1.00
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*16:01		-	-	-	-
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

Anexo 18. Péptidos de la proteína de Ct OMP-B con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	1	SQANPEVFIADSDGKLNFKFKE	FIADSDGKL	1.15
		*04:10	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*14:02		-	-	-	-
Depuración		*09:01	Mayor Probabilidad	1	RHASCPIIDYIIANSQANPEV ^c	YIIANSQAN	1.90
		*12:01		-	-	-	-
Persistencia	DRB1	*08:02	Mayor Probabilidad	1	HASCPIIDYIIANSQANPEVF ^b	YIIANSQAN	1.97
		*10:01	Menor Probabilidad	1	HASCPIIDYIIANSQANPEVF ^c	YIIANSQAN	0.34
		*11:01		-	-	-	-
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	1	HASCPIIDYIIANSQANPEVF	YIIANSQAN	3.79
Reinfección		*13:05		-	-	-	-
		*01:03		-	-	-	-
		*08:02	Ocurrencia temprana	1	HASCPIIDYIIANSQANPEVF ^b	YIIANSQAN	1.97
		*16:01		1	YRLPMNAYRDFTSEPLNSES ^a	YRDFTSEPL	1.24
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 19. Péptidos de la proteína de Ct OMP-C con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
No infección		*03:02		-	-	-	-
		*08:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*13:03		-	-	-	-
Infección		*01:02	Mayor Probabilidad	1	EDTLSPGVTVLEAAGAQISC ^a	VTVLEAAGA	1.63
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	MAESLSTNVISLADTKAKD ^c	VISLADTKA	1.93
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		1	ITGNTVVFDSLPRLGSKETV	FDSLPRLGS	0.38
				2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ	YKVLVRAQT	0.48
Depuración				3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA	FSVTLKAVS	1.74
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
		*14:02		1	CLRCPVYKINIVNQGTATA	YKINIVNQG	0.85
				2	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.53
		*09:01	Mayor Probabilidad	1	SYVCKPVEYVISVSNPGDLV ^c	YVISVSNPG	0.76
				2	VENPVPDGYAHSSGQRVLT ^c	YAHSSGQRV	1.10
Persistencia	DQB1			-	-	-	-
				1	NPGESLQYKVLVRAQTPGQF ^b	YKVLVRAQT	1.33
				2	CVGENTVYRICVTNRGSAED ^b	YRICVTNRG	1.65
		*08:02	Mayor Probabilidad	3	RCPVYKINIVNQGTATARN ^b	YKINIVNQG	1.89
			4	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^b	YVISVSNPG	1.98	
		*10:01	Menor Probabilidad	1	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL ^a	YVISVSNPG	1.55
		*11:01		1	ITGNTVVFDSLPRLGSKETV	FDSLPRLGS	0.38
				2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ	YKVLVRAQT	0.48
				3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA	FSVTLKAVS	1.74
		*14:01		-	-	-	-
Reinfección		*14:02	Mayor Probabilidad	1	CLRCPVYKINIVNQGTATA	YKINIVNQG	0.85
				2	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.53
				1	ITGNTVVFDSLPRLGSKETV ^a	FDSLPRLGS	0.38
		*13:05		2	LNPGESLQYKVLVRAQTPGQ ^a	YKVLVRAQT	0.48
				3	GSKETVEFSVTLKAVSAGDA ^a	FSVTLKAVS	1.74
		*01:03		-	-	-	-
	*08:02	Ocurrencia temprana	1	NPGESLQYKVLVRAQTPGQF	YKVLVRAQT	1.33	
			2	CVGENTVYRICVTNRGSAED	YRICVTNRG	1.65	

			3	RCPVVYKINIVNQGTATARN	YKINIVNQG	1.89
			4	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.98
	*16:01		1	YVCKPVEYVISVSNPGDLVL	YVISVSNPG	1.04
Depuración	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia	*05:03		-	-	-	-

^a Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct

^b Péptidos que se unen fuertemente a un alelo asociado con dos eventos diferentes que tienen efectos que aumentan la susceptibilidad a Ct: Mayor probabilidad de persistencia y Ocurrencia temprana de la infección

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 20. Péptidos de la proteína de Ct OMP-H con unión al CMH-II de acuerdo al evento

Evento	Locus	Alelo	Efecto	Cantidad de péptidos	Péptido	Core	%Rank
Infeción		*01:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*03:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*04:10	Ocurrencia tardía	1	VLLNEDIVLSIDSSADKTDA ^c	VLSIDSSAD	0.76
				2	SSADKTDAVIKVLDDSFQNN ^c	IKVLDDSFQ	1.95
		*08:01	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*11:01		-	-	-	-
		*12:01	Ocurrencia tardía	-	-	-	-
*14:02		-	-	-	-		
Depuración	DRB1	*09:01	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*12:01		-	-	-	-
Persistencia		*08:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
		*10:01	Menor Probabilidad	1	AAELRKKFEDLSAEYN ^c	FEDLSAEYN	0.29
		*11:01		-	-	-	-
		*14:01		-	-	-	-
		*14:02	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Reinfección		*13:05		-	-	-	-
		*01:03		-	-	-	-
		*08:02	Ocurrencia temprana	-	-	-	-
		*16:01		-	-	-	-
Depuración	DQB1	*05:03	Mayor Probabilidad	-	-	-	-
Persistencia		*05:03		-	-	-	-

^c Péptidos que se unen fuertemente a alelos asociados con efectos que reducen la susceptibilidad a Ct

Anexo 21

(Artículo publicado)