

# Estudio de casos y controles no emparejados: seropositividad de anticuerpos frente a *Chlamydia pneumoniae* y cardiopatía isquémica crónica

R. Gallego-Luis<sup>a</sup>, A. Ruiz-García<sup>a</sup>, F.J. Gordillo-López<sup>a</sup>, M.V. Díaz-Puente<sup>a</sup>, J. Esteban<sup>b</sup> y A. Gil de Miguel<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Lípidos y Prevención Cardiovascular. Área 10 de Atención Primaria. IMSALUD. Madrid. España.

<sup>b</sup>Unidad de Docencia e Investigación en Medicina Preventiva y Salud Pública. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Madrid. España.

**Introducción.** La participación de las infecciones en el desarrollo de la placa ateromatosa es una cuestión de actualidad. El objetivo del estudio es evaluar la magnitud de la asociación entre la seropositividad de anticuerpos frente a *Chlamydia pneumoniae* y la cardiopatía isquémica crónica.

**Pacientes y métodos.** Muestreo no probabilístico consecutivo de pacientes mayores de 35 años con cardiopatía isquémica crónica (99 casos) o sin ella (268 controles) del Centro de Salud Pintores, Área 10 Atención Primaria (IMSALUD). Análisis de casos y controles no emparejados (1:3) con determinación de *odds ratio* (OR) y sus intervalos de confianza. Determinación de anticuerpos IgG frente a *C. pneumoniae* con valores  $\geq 1:64$  mediante ELISA.

**Resultados.** Un 75,76% (75/99) de los casos tenía 2 o más factores de riesgo cardiovascular, frente a un 33,21% (89/268) en los controles ( $p < 0,0001$ ). Los factores de riesgo en los casos y controles mostraban diferencias significativas: tabaquismo (18,42%; intervalo de confianza [IC] del 95%: 7,10-28,41;  $p = 0,0012$ ), hipertensión arterial (14,71%; IC del 95%: 3,39-26,03;  $p = 0,0124$ ), diabetes (15,44%; IC del 95%: 6,01-24,87;  $p = 0,0002$ ), hipercolesterolemia (52,08%; IC del 95%: 42,62-62,54;  $p < 0,0001$ ). La diferencia de seropositividad de anticuerpos frente a *C. pneumoniae* entre casos

(62,63% [62/99]) y controles (49,25% [132/268]) fue del 13,38% (IC del 95%: 2,13-24,63), con una asociación significativa (OR = 1,73; IC del 95%: 1,08-2,77;  $p = 0,0227$ ) entre seropositividad y cardiopatía isquémica crónica.

**Conclusiones.** La seropositividad frente a *C. pneumoniae* en los casos estudiados fue del 62,63%. El factor de riesgo de seropositividad frente a *C. pneumoniae* estaba asociado significativamente con la cardiopatía isquémica crónica.

**Palabras clave:**

*Chlamydia pneumoniae*. Cardiopatía isquémica crónica. Atención primaria.

## UNMATCHED CASE-CONTROL STUDY: SEROPOSITIVITY FOR ANTIBODIES TO *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* AND CHRONIC CORONARY HEART DISEASE

**Introduction.** The role of infections in the development of atheromatous plaque is a current topic. The objective of this study was to evaluate the magnitude of association between seropositivity for *Chlamydia pneumoniae* antibodies and chronic coronary heart disease.

**Patients and methods.** Consecutive nonrandomized sampling was performed in patients aged more than 35 years old with (99 cases) or without (268 controls) chronic coronary heart disease attending the Centro de Salud Pintores, Primary Care Area 10 (Health Institute of Madrid, Spain). We performed an unmatched case-control study (1:3) with determination of odds ratio (OR)

Correspondencia: Dr. A. Ruiz-García.  
EAP Las Ciudades.  
Palestina, s/n. 28903 Getafe. Madrid. España.  
Correo electrónico: aruiz.gapm10@salud.madrid.org

Recibido el 13 de abril de 2005 y aceptado el 2 de mayo de 2005.

and their confidence intervals. *C. pneumoniae* antibodies (IgG  $\geq$  1:64) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay.

**Results.** A total of 75.76% (75/99) of cases had two or more cardiovascular risk factors (CRF) versus 33.21% (89/268) of the control group ( $p < 0.0001$ ). The CRF in cases and controls showed significant differences: smoking (18.42%; 95% confidence interval [CI]: 7.10-28.41;  $p = 0.0012$ ), hypertension (14.71%; 95% CI: 3.39-26.03;  $p = 0.0124$ ), diabetes (15.44%; 95% CI: 6.01-24.87;  $p = 0.0002$ ), and hypercholesterolemia (52.08%; 95% CI: 42.62-62.54;  $p < 0.0001$ ). The difference in seropositivity to *C. pneumoniae* between cases (62.63% [62/99]) and controls (49.25% [132/268]) was 13.38% (95% CI: 2.13-24.63), with a significant association (OR = 1.73; 95% CI: 1.08-2.77;  $p = 0.0227$ ) between seropositivity and chronic coronary heart disease.

**Conclusions.** Seropositivity to *C. pneumoniae* IgG-antibodies was found in 62.63% of cases and was significantly associated with chronic coronary heart disease.

*Key words:*

*Chlamydia pneumoniae*. Coronary heart disease. Primary care.

La arteriosclerosis es un proceso inflamatorio crónico en el que intervienen múltiples factores. En 1981, Hopkins y Williams<sup>1</sup> elaboraron una lista de 246 factores de riesgo de cardiopatía coronaria, y la lista sigue aumentando. El daño endotelial con acumulación de macrófagos y producción local de factores de crecimiento y moléculas de adhesión se consideran factores etiopatogénicos de este proceso<sup>2</sup>. *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) es una bacteria gramnegativa de crecimiento intracelular obligado por su incapacidad para sintetizar trifosfato de adenosina<sup>3</sup>. Se estima que la seroprevalencia frente a *C. pneumoniae* en adultos es del 50 al 70%<sup>4</sup>, e incluso alcanza el 75% en la población anciana<sup>5</sup>. Numerosos estudios<sup>6-8</sup> han tratado de relacionar *C. pneumoniae* con el desarrollo de la aterosclerosis. Se han observado<sup>8-12</sup> tasas de anticuerpos frente a *C. pneumoniae* más altas en pacientes con enfermedad coronaria que en controles sanos. Sin embargo, los resultados son controvertidos<sup>13-16</sup> y con los datos serológicos no se puede saber qué pacientes desarrollarán un infarto agudo de miocardio.

La inflamación de la placa aterosclerótica se relaciona con la inestabilidad de la placa<sup>17,18</sup>. También se ha observado<sup>19-25</sup> la presencia de *C. pneu-*

*moniae* en placas ateromatosas de arterias coronarias, y un elevado número de células infectadas por *C. pneumoniae* en las placas vulnerables<sup>26</sup>, lo que hace pensar que puede contribuir al desarrollo de inestabilidad de la placa<sup>27</sup>, aunque hay otros autores<sup>28,29</sup> que sugieren que *C. pneumoniae* podría justificar en parte su etiopatogenia, pero no parece ser causa necesaria y probablemente tampoco suficiente. Kalayoglu et al<sup>30</sup> refieren que los estudios epidemiológicos y anatomopatológicos muestran una asociación entre aterosclerosis y *C. pneumoniae*, y que los ensayos realizados con tratamiento antibiótico muestran una reducción en la tasa de recurrencias de episodios coronarios, pero no un claro beneficio en pacientes con cardiopatía isquémica estable, por lo que *C. pneumoniae* es un nuevo factor de riesgo potencialmente modificable dentro de la enfermedad cardiovascular. La participación de *C. pneumoniae* en el desarrollo de la lesión arteriosclerótica se revisó recientemente en esta revista<sup>31</sup>, y en la actualidad persiste la idea de que la infección puede iniciar el fenómeno de disfunción endotelial, mantener el componente inflamatorio crónico en la pared y provocar la inestabilidad de las placas ateromatosas<sup>32</sup>.

La cardiopatía isquémica es una enfermedad crónica que exige un estricto seguimiento del paciente y de sus factores etiopatogénicos, por lo que el papel del médico de familia es imprescindible para el adecuado control de la enfermedad. Sin embargo, la investigación en atención primaria de los factores de riesgo emergentes es escasa, por lo que presentamos este estudio con el objetivo de evaluar en nuestro medio la magnitud de la asociación entre la seropositividad de la *C. pneumoniae* y la cardiopatía isquémica crónica.

## Pacientes y métodos

### Diseño

Estudio observacional analítico de casos y controles no emparejados (1:3), cuyo objetivo primario fue determinar la magnitud de la asociación entre la seropositividad IgG anti-*C. pneumoniae* y la cardiopatía isquémica crónica. El objetivo secundario fue comparar los factores de riesgo para cardiopatía isquémica entre la población general y los sujetos con síndrome coronario crónico.

### Tamaño muestral

Se estimó<sup>9,33,34</sup> que la seropositividad en la población general oscilaba entre el 35 y el 60%, y entre el 15 y el 70% en la población con cardiopatía isquémica<sup>11,12,16,35,36</sup>. Se estimó una prevalencia del 40% de *C. pneumoniae* en la población general y del 58% en pacientes con cardiopatía isquémica crónica, lo que significa un cociente de posibilidades u *odds ratio* (OR) de 2,07. Si se asume un grado de significación estadística del 5% en hipótesis bilateral y una potencia estadística mayor del 80%, el mínimo tamaño muestral sería de 87 casos y 261 con-

troles. Con la corrección por pérdidas y abandonos esperados del 10%, se precisaría una muestral inicial de 387 sujetos de estudio (97 casos y 290 controles, aproximadamente). La selección de casos y controles se obtuvo mediante muestreo consecutivo no probabilístico de los pacientes que acudían al Centro de Salud Pintores (Parla, Madrid) hasta alcanzar el tamaño muestral predeterminado. Se realizó el reclutamiento y seguimiento de 121 casos y 314 controles entre los meses de octubre de 2000 y marzo de 2002.

### Participantes

El estudio fue completado por 99 casos y 268 controles por pérdidas de laboratorio o por falta de información clínica de los pacientes (fig. 1).

**Casos.** Pacientes mayores de 35 años con cardiopatía isquémica crónica y que quisieran participar en el estudio mediante consentimiento informado.

**Controles.** Pacientes mayores de 35 años sin antecedentes de cardiopatía isquémica crónica o arteriosclerosis avanzada (accidente o infarto cerebrovascular previo, claudicación intermi-

tente, amaurosis *fugax*) y que quisieran participar en el estudio mediante consentimiento informado.

Se excluyó a los pacientes con reagudización de la patología coronaria en los últimos 3 meses; pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica; pacientes con cirugía mayor en los últimos 3 meses; pacientes con insuficiencia renal, hepática o enfermedad hematológica; pacientes que hubieran tomado vitaminas durante el último mes, pacientes con neoplasias o en tratamiento con citotóxicos, trastorno epiléptico o psiquiátrico grave; y mujeres embarazadas o en período de lactancia.

### Mediciones

La variable principal analizada fue la *seropositividad anti-C. pneumoniae* (IgG  $\geq$  1:64)<sup>16,37,38</sup>. Las variables secundarias fueron: edad, sexo, analfabetismo, estudios primarios, antecedentes de hábito tabáquico, tabaquismo actual, diabetes mellitus, hipercolesterolemia e hipertensión arterial.

### Procedimientos de laboratorio

Extracción por venopunción de muestra de sangre venosa (venas mediana cefálica, mediana basilica o mediana antebraquial) tras ayuno de más de 12 horas, para determinación sero-

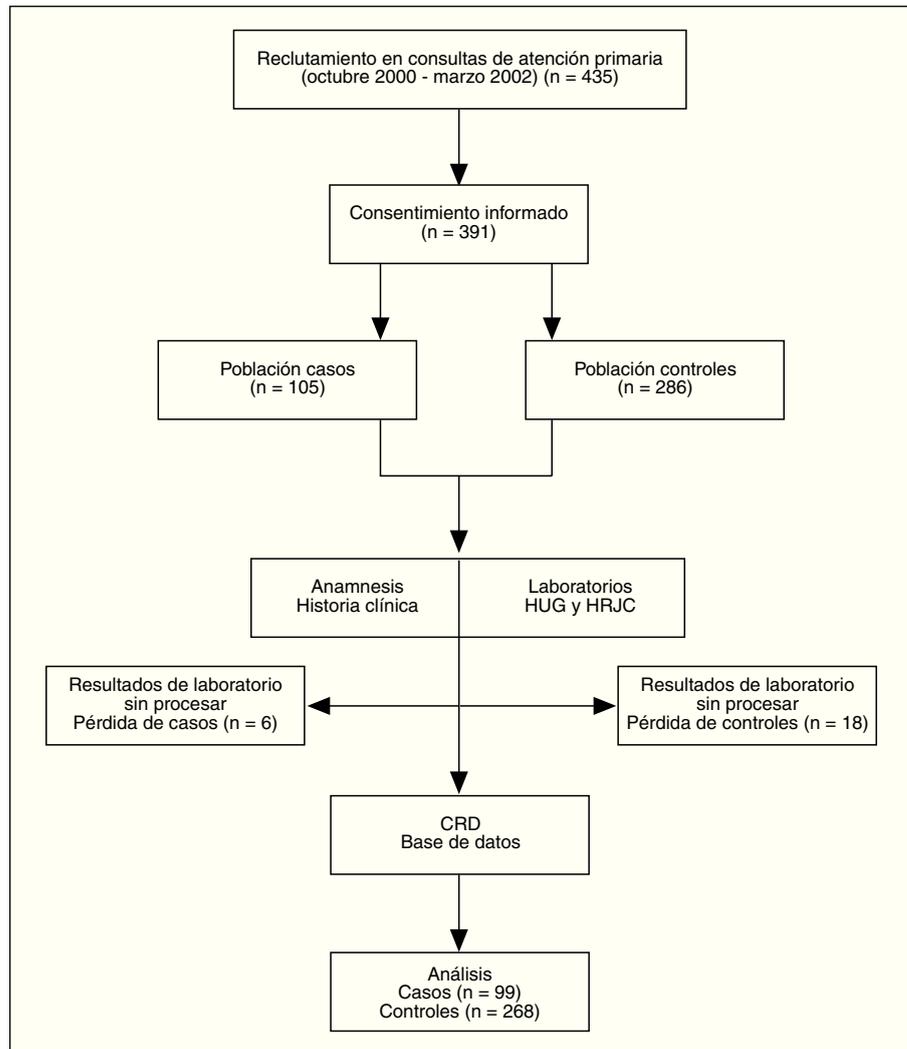


Figura 1. Esquema general del estudio.  
HUG: Hospital Universitario de Getafe; HRJC: Hospital Rey Juan Carlos.

lógica de anticuerpos IgG frente a la proteína externa de membrana de Cp, utilizando la técnica de enzoinmunoanálisis (ELISA) suministrado por la empresa Vircell S.L., que permite la detección cualitativa de anticuerpos<sup>37</sup> por encima de un valor de corte de 1:64, con una sensibilidad del 95%, una especificidad del 93%, un coeficiente de variación intraensayo del 4,09% y un coeficiente de variación interensayo del 4,12%. El antígeno de nuestro suero problema está unido a la base de pocillos de una placa de poliestireno de 8 filas por 12 columnas (96 determinaciones). Se insertan 100 µl de diluyente de muestra y 5 µl de suero problema. Seis pocillos se reservaron para introducir un control positivo, un control negativo, el suero de corte y un blanco (sólo tampón de dilución), todos ellos por duplicado. Tras un período de incubación de 45 minutos a 37 °C, los anticuerpos del suero problema se unen al antígeno en función de su concentración. Cinco lavados con 300 µl de solución de lavado son suficientes para retirar los anticuerpos que no han quedado unidos. Se añadieron 100 µl de conjugado (globulina antihumana unida a enzima peroxidasa) que se unió al complejo antígeno-anticuerpo tras un nuevo período de incubación de 30 minutos a 37 °C. Otros 5 lavados con 300 µl de solución de lavado retirarían el exceso de conjugado. Se incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente 100 µl del sustrato de la enzima peroxidasa (TMB [3,3',5,5'-tetrametilbenzidina] para la valoración colorimétrica del conjugado (complejo antígeno-anticuerpo), unido a la base del pocillo. La absorbancia medida a 450 nm (con filtro de referencia a 620 nm) antes de 15 minutos se dividía por la absorbancia obtenida por el suero de corte suministrado con el kit. Si dicha proporción era mayor de 1,1 se consideraba que la muestra era positiva. Valores inferiores a 0,9 se consideraban negativos y valores intermedios dudosos. Cada kit incluía unos valores límite para los controles positivos y negativos. Sobrepasar estos límites obligaba a repetir el análisis. Las determinaciones realizadas por el personal del laboratorio fueron ciegas al estudio durante el procesamiento de las muestras, y los resultados se ofrecieron con el código del laboratorio.

#### Fuentes y recogida de datos

Los datos sociodemográficos y la información clínica se obtuvieron a partir de la historia clínica del paciente, mediante un formulario diseñado para tal efecto. La gestión de datos se realizó mediante una base de datos diseñada especialmente utilizando el programa Microsoft Access 2000®. La base de datos incluyó el número de historia clínica y un código interno correspondiente a la muestra en el laboratorio, así como las variables recogidas en el estudio codificadas.

#### Aspectos éticos

Se obtuvo consentimiento informado de los sujetos de estudio, en el que se incluía toda la información relevante del mismo, además de las autorizaciones pertinentes, garantía de con-

fidencialidad de los datos conforme a la legalidad vigente y cumplimiento de la Declaración de Helsinki.

#### Análisis estadístico

Análisis de la variable de la edad con el estadístico t de Student. La prueba de la ji cuadrado de Pearson ( $\chi^2$ ) se utilizó para evaluar la asociación entre las variables cualitativas. La razón de probabilidad se expresó mediante OR. Para evaluar la respuesta dicotómica en subgrupos diagnósticos se determinaría la magnitud del efecto mediante la OR de cada estrato utilizando el procedimiento de Mantel y Haenszel. Todas las estimaciones se expresaron con un intervalo de confianza (IC) del 95% en hipótesis bilateral con aproximación a la normal. Se consideró el límite mínimo de significación estadística  $p < 0,05$ . Los análisis estadísticos se realizaron con la ayuda del paquete estadístico SPSS 10.0.

#### Resultados

La población control estaba formada por 268 pacientes cuya edad media era de 53,66 años (desviación estándar [DE]  $\pm 7,71$ ), y un intervalo de edad entre 36 y 73 años. Los 99 pacientes con cardiopatía isquémica crónica tenían entre 36 y 76 años con una edad media de 58,92 (DE  $\pm 9,27$ ) años. Existía una diferencia significativa de 5,26 años (IC del 95%: 3,37-7,15;  $p < 0,001$ ) entre la edad media de ambas poblaciones. El porcentaje de varones era significativamente mayor mayor (30,87%; IC del 95%: 20,63-41,11;  $p < 0,0001$ ) en la población con cardiopatía isquémica (76,77% [76/99]) que en la población control (45,90% [123/268]). No había diferencias significativas en cuanto al nivel de analfabetismo y de estudios primarios entre los grupos de estudio (tabla 1).

Los porcentajes de presencia de factores de riesgo para cardiopatía isquémica (FRCI) entre ambas poblaciones mostraban diferencias significativas. En la población control había mayor porcentaje de personas sin FRCI o con un solo factor de riesgo. Sin embargo, en la población con cardiopatía isquémica, el 75,76% (75/99) tenía dos o más FRCI frente a sólo un 33,21% (89/268) en los controles. Existía una diferencia significativa del 18,42% (IC del 95%: 7,10-28,41;  $p = 0,0012$ ) entre los que ha-

**Tabla 1. Características basales de los grupos de estudio**

	Controles (n/N)	Casos (n/N)	Diferencia (%) (IC del 95%)	OR (IC del 95%)	p
Varones	45,90% (123/268)	76,77% (76/99)	30,87 (20,63-41,11)	3,9 (2,31-6,58)	< 0,0001
Analfabetismo	6,72% (18/268)	12,12% (12/99)	5,4 (-1,69-12,49)	1,92 (0,89-4,14)	0,094 (NS)
Estudios primarios	75,75% (203/268)	73,73% (73/99)	-2,02 (-12,09-8,05)	0,9 (0,53-1,52)	0,691 (NS)

n: número de sujetos afectados por la variable de estudio; N: número total de sujetos de estudio; OR: odds ratio; IC del 95%, intervalo de confianza del 95%; p: grado de significación estadística; NS: no significativo.

**Tabla 2. Factores de riesgo de cardiopatía isquémica en los sujetos de estudio**

	Controles (n/N)	Casos (n/N)	Diferencia (%) (IC del 95%)	OR (IC del 95%)	p
Sin FRCI	25,00% (67/268)	9,09% (9/99)	-15,91 (-23,59 a -8,23)	0,3 (0,14-0,63)	0,0008
1 FRCI	41,79% (112/268)	15,15% (15/99)	-26,64 (-35,85 a -17,43)	0,25 (0,14-0,45)	< 0,0001
≥ 2 FRCI	33,21% (89/268)	75,76% (75/99)	42,55 (32,40-52,70)	6,29 (3,72-10,63)	< 0,0001
Fumador	32,09% (86/268)	50,51% (50/99)	18,42 (7,10-29,74)	2,16 (1,35-3,46)	0,0012
Fumador actual	24,25% (65/268)	22,22% (22/99)	-2,03 (-11,69-7,63)	0,89 (0,51-1,55)	0,685 (NS)
Diabetes mellitus	10,82% (29/268)	26,26% (26/99)	15,44 (6,01-24,87)	2,94 (1,63-5,30)	0,0002
Hipercolesterolemia	28,73% (77/268)	80,81% (80/99)	52,08 (42,62-61,54)	10,44 (5,93-18,39)	< 0,0001
Hipertensión arterial	45,90% (123/268)	60,61% (60/99)	14,71 (3,39-26,03)	1,81 (1,13-2,90)	0,0124

FRCI: factores de riesgo de cardiopatía isquémica; n: número de sujetos afectados por la variable de estudio; N: número total de sujetos de estudio; OR: *odds ratio*; IC del 95%: intervalo de confianza al 95%; p: grado de significación estadística; NS: no significativo.

**Tabla 3. Seropositividad anti-*Chlamydia pneumoniae* (IgG ≥ 1:64)**

	Controles (n/N)	Casos (n/N) (IC del 95%)	Diferencia (%) (IC del 95%)	OR (IC del 95%)	p
Varones	62,60% (77/123)	67,10% (51/76)	4,5 (-9,09 a 18,09)	1,22 (0,67-2,23)	0,519 (NS)
Mujeres	37,93% (55/145)	47,83% (11/23)	9,9 (-11,99 a 31,79)	1,5 (0,67-3,63)	0,3667 (NS)
Total	49,25% (132/268)	62,63% (62/99)	13,38 (2,13-24,63)	1,73 (1,08-2,77)	0,0227

n: número de sujetos afectados por la variable de estudio; N: Número total de sujetos de estudio; OR: *odds ratio*; IC del 95%: intervalo de confianza del 95%; p: grado de significación estadística; NS: no significativo.

bían sido fumadores de los casos (50,51% [50/99]) y los que lo habían sido de los controles (32,09% [86/268]). Al valorar si persistía el tabaquismo en la actualidad, no había diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Había una diferencia del 15,44% (IC del 95%: 6,01-24,87; p = 0,0002) muy significativa en la presencia de diabetes mellitus entre los grupos de estudio, y también era muy significativa la diferencia de un 52,08% (IC del 95%: 42,62-62,54; p < 0,0001) en cuanto a la presencia de hipercolesterolemia. La diferencia del 14,71% (IC del 95%: 3,39-26,03) entre casos y controles fue significativa (p = 0,0124) en cuanto a la presencia de hipertensión arterial (tabla 2).

La diferencia de seropositividad entre casos y controles (13,38%; IC del 95%: 2,13-24,63) fue significativa (p = 0,0227), y se obtuvo una asociación

positiva (OR = 1,73; IC del 95%: 1,08-2,77) entre la presencia de serología positiva de anticuerpos frente a *C. pneumoniae* y el riesgo de presentar enfermedad coronaria. Se evaluó la seropositividad comparando los resultados por sexos. En los varones había una diferencia no significativa del 4,50% (IC del 95%: -9,09-18,09) entre los casos (67,10% [51/76]) y los controles (62,60% [77/123]). En las mujeres había una diferencia no significativa del 9,90% (IC del 95%: -11,99-31,79) entre los casos (47,83% [11/23]) y los controles (37,93% [55/145]) (tabla 3 y fig. 2).

### Discusión

La identificación de una posible asociación entre un FRCI emergente, como es la presencia serológica de anticuerpos frente a *C. pneumoniae*, y la cardiopatía isquémica crónica, fue el objetivo de

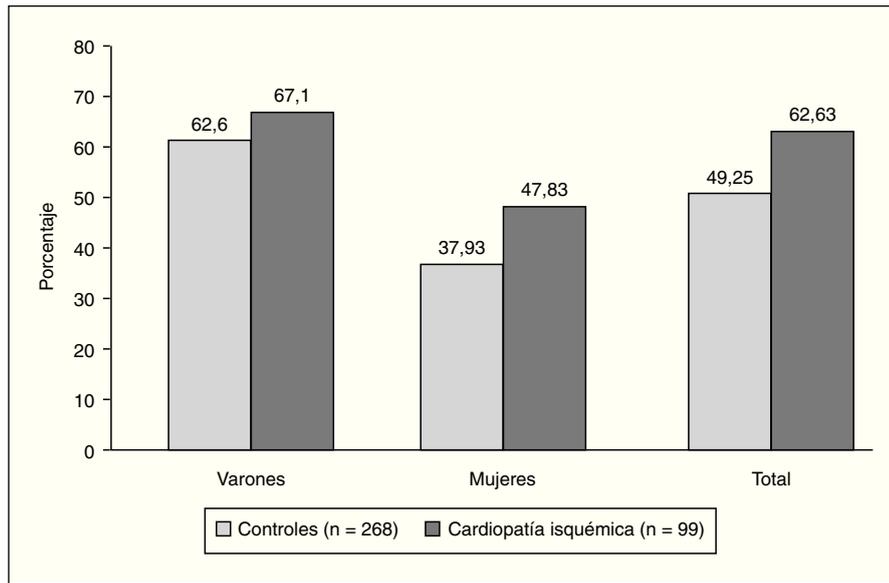


Figura 2. Seropositividad anti-*Chlamydia pneumoniae* (IgG ≥ 1:64).

este estudio. Se realizó un análisis de casos y controles (1:3), con 367 pacientes entre 36 y 76 años del Centro de Salud Pintores de Parla (Madrid). Los controles no fueron emparejados, ya que la selección de la población de estudio fue mediante muestreo no probabilístico consecutivo con la intención de que representase la cohorte natural de los pacientes que acudían a las consultas de atención primaria. Esto supuso unas diferencias significativas tanto en la edad media, que era 5,26 años mayor en los casos que los controles, como en el porcentaje de varones, un 30,87% mayor en los casos que en los controles. Estas diferencias están en consonancia con las características reales de los pacientes con cardiopatía isquémica crónica, con mayor porcentaje de varones y con una edad media mayor que la población general. Por otra parte, el hecho de que no hubiera diferencias significativas en el nivel de analfabetismo y de estudios primarios entre los grupos de estudio participa en la idea de que el nivel cultural es similar en la población que acude a la consulta, sin distinguir entre los que tienen cardiopatía isquémica crónica o no.

**Tabla 4. Factores de riesgo de cardiopatía isquémica en poblaciones con cardiopatía isquémica**

	PRIAMHO <sup>41</sup>	PREVESE <sup>39</sup>	Programa 3C <sup>40</sup>	Gallego et al
Tabaquismo	37,6%	46,1%	40,6%	50,5%
Dislipemia	28,6%	36,3%	74,3%	80,8%
Diabetes	24,2%	25,2%	31,0%	26,2%
Hipertensión	42,4%	44,2%	56,0%	60,6%

El análisis del historial clínico como fuente de información para determinar la presencia de factores de riesgo de la población de estudio ya se ha empleado en otros estudios<sup>39,40</sup> en España, pese a las limitaciones que conlleva<sup>41</sup>, como por ejemplo la falta de referencias a los FRCI considerados menores como la frecuencia de ejercicio, obesidad o antecedentes familiares. En nuestra población con cardiopatía, observamos unas prevalencias superiores en la hipertensión y en la hipercolesterolemia que en los estudios PREVESE<sup>39</sup> y PRIAMHO<sup>42</sup>. Sin embargo, al comparar las prevalencias de los FRCI con el programa 3C<sup>40</sup> se observan porcentajes similares (tabla 4). La prevalencia de diabetes en la población control y enferma no difieren en general de otros estudios<sup>43,44</sup>. Las prevalencias de los FRCI evaluados en los controles son similares a otros estudios de atención primaria<sup>45,46</sup>, excepto con la diabetes, quizá debido al sesgo de selección producido por el tipo de muestro utilizado que posibilita que los diabéticos tengan más probabilidades de entrar en el estudio por acudir más frecuentemente a la consulta. Si comparamos nuestro estudio con el de Bermejo García et al<sup>12</sup>, encontramos que los pacientes con enfermedad coronaria estable tenían una edad media similar (58,9 [DE ± 9,3] frente a 64 [DE ± 10] años), al igual que los controles (53,7 [DE ± 7,7] frente a 53 [DE ± 5] años), y que las seroprevalencias de las subpoblaciones de varones son similares en el grupo de casos (el 67,1 frente a 73%) y en los controles (el 62,6 frente al 63%).

La técnica empleada para valorar la seroprevalencia de la infección por *C. pneumoniae* en las po-

blaciones de estudio fue el enzoinmunoanálisis (ELISA), que permite la detección cualitativa de anticuerpos<sup>37</sup> por encima de un valor de corte de 1:64, umbral que ya se ha utilizado en otros estudios<sup>16,37,38</sup>. Los anticuerpos IgG detectados suelen aparecer en torno a las 6-8 semanas de la infección y pueden persistir hasta los 3 años. No existe inmunidad de por vida, por lo que la presencia de serología positiva crónica se deba probablemente a la persistencia bacteriana.

Al discriminar por sexo, existían diferencias de seropositividad a favor de los casos tanto en los varones (4,50%) como en las mujeres (9,90%), aunque no llegaron a ser significativas. Se evaluó esta pequeña diferencia del 5,40% entre mujeres y varones para estimar si los datos globales pudieran estar influenciados por el sexo como posible factor de confusión. Se determinó la magnitud del efecto mediante la OR en cada estrato y se utilizó el procedimiento de Mantel y Haenszel ( $OR_{MH}$ ) para obtener una estimación global eliminando la influencia del factor sexo. La estimación ajustada de los datos globales nos da una  $OR_{MH}$  de 1,10 no significativa, pues al calcular la  $\chi^2$  ajustada por el procedimiento de Mantel y Haenszel nos da un valor de 0,015 (valores inferiores a 3,84 se corresponden con una  $p > 0,05$ ). Tampoco son significativas las estimaciones de OR en los varones (1,22) ni la de las mujeres (1,50). La baja precisión de los estadísticos, debido probablemente a los pequeños tamaños de las subpoblaciones, no nos permite determinar la posible influencia del factor sexo como fenómeno de confusión (tabla 3 y fig. 2). En la valoración global de nuestro estudio se encuentra que el 62,63% de los casos presenta seropositividad frente a *C. pneumoniae*, con una diferencia significativa con los controles del 13,38% ( $p = 0,0227$ ), que apoya la tesis de que el factor de riesgo de seropositividad frente a *C. pneumoniae* esté asociado ( $OR = 1,73$ ) con la cardiopatía isquémica crónica.

La atención primaria facilita a los investigadores un terreno ideal para el estudio de los FRCI emergentes, gracias a su cercanía con los pacientes, accesibilidad y continuidad de la atención. Es importante profundizar en los estudios analíticos para sentar las bases que apoyen la necesidad de realizar ensayos clínicos en nuestro ámbito de actuación y progresar en el conocimiento de la enfermedad cardiovascular.

## Agradecimientos

Agradecemos el apoyo del doctor Agustín Gómez de la Cámara, y la colaboración desinteresada que nos han prestado

los laboratorios de los Hospitales Universitarios de Getafe y Rey Juan Carlos, sin cuya participación hubiera sido inviable este estudio.

## Bibliografía

- Hopkins PN, Williams RR. A survey of 246 suggested coronary risk factors. *Atherosclerosis*. 1981;40:1-52.
- Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*. 1993;62:801-9.
- File TM, Bartlett JG, Cassell GH, Gaydos CA, Grayston JT, Hammerschlag MR, et al. The importance of *Chlamydia pneumoniae* as a Pathogen: the 1996 Consensus Conference on *Chlamydia pneumoniae* Infections. *Infect Dis Clin Pract*. 1997;6(Suppl 2):28-31.
- Hammerschlag MR. *Chlamydia pneumoniae* and the lung. *Eur Respir J*. 2000;16:1001-7.
- Blanc P, Corsi AM, Gabbuti A, Peduzzi C, Meacci F, Olivieri F, et al. *Chlamydia Pneumoniae* seropositivity and cardiovascular risk factors: the InCHIANTI study. *J Am Geriatr Soc*. 2004;52:1626-31.
- Maass M, Bartels C, Kruger S, Krause E, Engel PM, Dalhoff K. Endovascular presence of *C. pneumoniae* DNA is a generalized phenomenon in atherosclerotic vascular disease. *Atherosclerosis*. 1998;140(Suppl 1):25-30.
- Shor A, Phillips J. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. *JAMA*. 1999;282:2071-3.
- Saikku P, Leinonen M, Mattila K, Ekman MR, Nieminen MS, Mäkelä PH, et al. Serologic evidence of an association of a novel *Chlamydia*. TWAR with coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Lancet*. 1988;2:983-6.
- Saikku P, Leinonen M, Tenkanen L, Linnanmaki E, Ekman MR, Manninen V, et al. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection as a risk factor for coronary heart disease in the Helsinki Heart Study. *Ann Intern Med*. 1992;116:273-8.
- Mendall MA, Carrington D, Strachan D, Patel P, Molineaux N, Levi J, et al. *Chlamydia pneumoniae*: risk factors for seropositivity and association with coronary heart disease. *J Infect*. 1995;30:121-8.
- Shimada K, Mokuno H, Watanabe Y, Sawano M, Daida H, Yamaguchi H. High prevalence of seropositivity for antibodies to *Chlamydia*-specific lipopolysaccharide in patients with acute coronary syndrome. *J Cardiovasc Risk*. 2000;7:209-13.
- Bermejo García J, Martínez Martínez P, Martín Rodríguez JF, De la Torre Carpente M, Bustamante Bustamante R, Guerrero Peral AB, et al. Inflamación e infección en la enfermedad coronaria estable y en el síndrome coronario agudo. *Rev Esp Cardiol*. 2001;54:453-9.
- Thomas M, Wong Y, Ajaz M, Tsang V, Gallagher PJ, Ward ME. Relation between direct detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in human coronary arteries at postmortem examination and histological severity (Stary gradillg) of associated atherosclerotic plaque. *Circulation*. 1999;99:2733-6.
- Ericson K, Saldeen TGP, Lindquist O, Pahlson C, Mehta JL. Relationship of *Chlamydia pneumoniae* infection to severity of human coronary atherosclerosis. *Circulation*. 2000;101:2568-71.
- Glader CA, Boman J, Saikku P, Stenlund H, Weinehall L, Hallmanns G, et al. The proatherogenic properties of lipoprotein(a) may be enhanced through the formation of circulating immune complexes containing *Chlamydia pneumoniae*-specific IgG antibodies. *Eur Heart J*. 2000;21:639-46.
- González Castañeda C, Pérez Castrillón JL, Casero Lambas A, Mazón Ramos MA, Cañibano González MA, López Bello M, et al. Valor pronóstico de los anticuerpos anti-*Chlamydia pneumoniae* en la cardiopatía isquémica. *Rev Clin Esp*. 2004;204:583-7.
- Boyle JJ. Association of coronary plaque rupture and atherosclerotic inflammation. *J Pathol*. 1997;181:93-9.
- Higuchi ML, Bezerra HG, Palomino S, Aiello VD, Libby P, Ramirez JAF. Adventitial fibrosis and inflammation surrounding atheroma: implications for different arterial remodeling in stable and unstable plaques. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(Suppl A):368.
- Kuo CC, Shor A, Campbell LA, Fukushi H, Patton DL, Grayston JT. Demonstration of *Chlamydia pneumoniae* in atherosclerotic lesions of coronary arteries. *J Infect Dis*. 1993;167:841-9.

20. Campbell LA, O'Brien ER, Cappuccio AL, Kuo CC, Wang SP, Stewart D, et al. Detection of *Chlamydia pneumoniae* TWAR in human coronary atherectomy tissues. *J Infect Dis.* 1995;172:585-8.
21. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, et al. Increased incidence of *Chlamydia* species with the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:1555-61.
22. Ramirez JA, and the *Chlamydia pneumoniae*/Atherosclerosis Study Group. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary Atherosclerosis. The *Chlamydia pneumoniae* /Atherosclerosis Study Group. *Ann Intern Med.* 1996; 125:979-82.
23. Taylor-Robinson D, Thomas JD. *Chlamydia pneumoniae* in arteries: the facts, their interpretations, and futures studies. *J Clin Pathol.* 1998;51:793-7.
24. De Luis DA, García Arata I, Haurie J, De Rafael L, González J, Berra A, et al. Estudio de prevalencia de *Helicobacter pylori* y *Chlamydia pneumoniae* en placas de ateroma de pacientes diabéticos y no diabéticos con arteriosclerosis. *Clin Invest Arteriosclerosis.* 2001;13:103-7.
25. Shi Y, Tokunaga O. *Chlamydia pneumoniae* and multiple infections in the aorta contribute to atherosclerosis. *Pathology International.* 2002;52:755.
26. Higuchi ML, Castelli J, Aiello VD, Palomino S, Reis MM, Sambiasi NV, et al. Great amount of *C. pneumoniae* in ruptured plaque vessel segments at autopsy. A comparative study with stable plaques. *Arq Bras Cardiol.* 2000;74:149-51.
27. Ramirez JAF, Higuchi ML. *Mycoplasma pneumoniae* y *Chlamydia pneumoniae* se asocian con la inflamación y la rotura de las placas coronarias ateroscleróticas. *Rev Esp Cardiol.* 2002;55(Supl 1):2-9.
28. Romano S, Penco M, Fratini S, Di Pietro M, Sessa R, Del Piano M, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection is associated with coronary artery disease but not implicated in inducing plaque instability. *Int J Cardiol.* 2004;95:95-9.
29. Ngeh J, Anand V, Gupta S. *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis – What we know and what we don't. *Clin Microbiol Infect.* 2002;8:2-13.
30. Kalayoglu MV, Libby P, Byrne GI. *Chlamydia pneumoniae* as an emerging risk factor in cardiovascular disease. *JAMA.* 2002;288: 2724-31.
31. Millán Núñez-Cortés J. Infección, *Chlamydia* y arteriosclerosis. *Clin Invest Arteriosclerosis.* 2003;15:24-8.
32. Millán Núñez-Cortés J, Álvarez Rodríguez Y, Álvarez Noves G, Torres Segovia FG, Álvarez-Sala Walter L. Efectos *in vitro* de la infección por *Chlamydia pneumoniae* en células implicadas en el proceso aterogénico. *Clin Invest Arteriosclerosis.* 2004;16:1-9.
33. Leinonen M. Pathogenetic mechanisms and epidemiology of. *Eur Heart J.* 1993;14(Supl K):57-61.
34. Varveri A, Sgorbini L, Romano S, Aurigemma G, Dagianti A, Sessa R, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection and cardiac ischemic syndromes. *Cardiologia.* 1998;43:1053-8.
35. Leowattana W, Mahanonda N, Bhuripunyo K, Leelarasamee A, Pokum S, Suwimol B. The prevalence of antibodies in Thai patients with coronary artery disease. *J Med Assoc Thai.* 1999;82: 792-7.
36. Sessa R, Di Pietro M, Santino I, Del Piano M, Varveri A, Dagianti A, et al. *Chlamydia pneumoniae* infection and atherosclerotic coronary disease. *Am Heart J.* 1999;137:1116-9.
37. Danesh J, Whincup P, Walter M, Lennon L, Thomson A, Appleby P, et al. *Chlamydia pneumoniae* IgG titres and coronary heart disease: prospective study and meta-analysis. *BMJ.* 2000; 321:208-13.
38. Dunne MW. Rationale, and design of a secondary prevention trial of antibiotic use in patients after myocardial infarction. The WIZARD (Weekly intervention with Zithromax (Axithromycin) for atherosclerosis and its related disorders trial). *J Infect Dis.* 2000; 181:572-8.
39. De Velasco JA, Cosín J, López-Sendón J, De Teresa E, De Oya M, Carrasco JL, et al. La prevención secundaria del infarto de miocardio en España. Estudio PREVESE. *Rev Esp Cardiol.* 1997; 50:406-15.
40. De Velasco JA, Llargués E, Fitó R, Sala J, Del Río A, De los Arcos E. Prevalencia de los factores de riesgo y tratamiento farmacológico al alta hospitalaria en el paciente coronario. Resultados de un registro multicéntrico nacional (Programa 3C). *Rev Esp Cardiol.* 2001;54:159-68.
41. Gómez de la Cámara A, Ciruelo Monge E, De la Cruz Bértolo J, Serrano Díaz JM, Pato Cour E, Gómez-Reino Carnota JJ. Pérdida de fiabilidad en la extracción de datos de las historias. *Med Clin (Barc).* 1997;108:377-81.
42. Cabadés A, López Bescós L, Arós F, Loma-Orsorio A, Bosch X, Pabón P, et al. Variabilidad en el manejo y pronóstico a plazo del infarto de miocardio en España: el estudio PRIAMHO. *Rev Esp Cardiol.* 1999;52:767-75.
43. Tomás i Abadal L, Varas Lorenzo C, Pérez I, Puig T, Balaguer Vintó I. Factores de riesgo y morbimortalidad coronaria en una cohorte laboral mediterránea seguida durante 28 años. Estudio de Manresa. *Rev Esp Cardiol.* 2001;54:1146-54.
44. Fiol M, Cabadés A, Sala J, Marrugat J, Elosúa R, Vega G, et al. Variabilidad en el manejo hospitalario del infarto agudo de miocardio en España. Estudio IBÉRICA (Investigación, Búsqueda Específica, y Registro de Isquemia Coronaria Aguda). *Rev Esp Cardiol.* 2001;54:443-52.
45. Villar Álvarez F, Maiques Galán A, Brotons Cuixart C, Torcal Laguna J, Lorenzo Piqueras J, Vilaseca Canals J, et al. Prevención cardiovascular en atención primaria. *Aten Primaria.* 2001;28(Supl 2):13-27.
46. Séculi E, Brugulat P, Medina A, Juncà S, Tresserras R, Salleras L. La detección de factores de riesgo cardiovascular en la red reformada de atención primaria de Cataluña. Comparación entre los años 1995 y 2000. *Aten Primaria.* 2003;31:156-62.