

Infeción por *Chlamydia trachomatis* en mujeres consultantes en Maracaibo, Venezuela

Chlamydia trachomatis infection in females consulting health centres in Maracaibo, Venezuela

Nailet Arráiz^{1,2}, Rafael Marcucci², Sonia Colina², Francia Reyes¹, Netxibeth Rondón¹, Valmore Bermúdez¹ y Nadia Reyna¹

1 Sección de Biología Molecular. Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez". Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia. Venezuela. narraiz1@yahoo.co

2 Escuela de Bioanálisis, Departamento de Morfofisiopatología. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

Recibido 13 Noviembre 2007/Enviado para Modificación 24 Junio 2008/Aceptado 26 Agosto 2008

RESUMEN

Objetivo Evaluar la prevalencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres sintomáticas y asintomáticas que asistieron a control en servicios de ginecología en centros de salud de Maracaibo, estado Zulia.

Métodos Se incorporaron al estudio 168 pacientes que asistieron a dos centros de salud de Maracaibo. Se llevó a cabo evaluación ginecológica basada en examen pélvico, de áreas profundas de la vagina y cuello uterino. Las pacientes fueron clasificadas en grupos etarios y de acuerdo a la presencia de manifestaciones clínicas. Para investigar *C. trachomatis*, se aplicaron dos ensayos de amplificación de ADN del plásmido endógeno y del gen OMP1, a partir de hisopados endocervicales.

Resultados Se evaluaron 168 pacientes, 81 (48,2 %) sintomáticas y 87 (51,8 %) asintomáticas. Se encontró una prevalencia de 7,7 % en la población total evaluada. La prevalencia fue de 9,9 % y 5,8 % para las pacientes sintomáticas y asintomáticas, respectivamente ($p>0,05$). El grupo de pacientes de 18-28 años exhibió la más alta prevalencia (13,7 %) ($p=0,0322$). Las manifestaciones clínicas predominantes fueron secreción mucopurulenta (35,8 %) y cervicitis (21 %). *C. trachomatis* fue detectada en 7,1 % pacientes con secreción mucopurulenta y 23,5 % casos de cervicitis, pero no se demostró asociación significativa entre infección y manifestaciones clínicas individuales ($p>0,05$).

Conclusión Se encontró una mediana prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* en la población evaluada, exhibiendo mayor frecuencia en mujeres jóvenes. Este microorganismo debería ser investigado en mujeres jóvenes sexualmente activas, independientemente de su condición sintomática o asintomática.

Palabras Clave: *Chlamydia trachomatis*, cervicitis, ginecología (fuente: DeCS, BIREME).

ABSTRACT

Objective Evaluating *Chlamydia trachomatis* infection prevalence in a group of symptomatic and asymptomatic females attending gynaecology services in health centres in Maracaibo in the state of Zulia in Venezuela.

Methodology 168 patients attending two health centres in Maracaibo were included in this study. Gynaecological evaluation was based on examining the pelvis, deep areas of the vagina and the cervix. Patients were classified into groups according to age and the presence of clinical manifestations. Two DNA amplification assays of endogenous plasmid and the *omp1* gene taken from endocervical swabs were used for investigating *C. trachomatis*.

Results 168 patients were evaluated; 81 (48,2 %) were symptomatic and 87 (51,8 %) asymptomatic, A 7,7 % prevalence ($p>0.05$) was found in the total population (9,9 % prevalence for symptomatic patients and 5,8 % for asymptomatic ones). The 18-28 year old patient group exhibited the highest prevalence (13,7 %) ($p=0.0322$). The predominant clinical manifestations were mucopurulent secretion (35,8 %) and cervicitis (21 %). *C. trachomatis* was detected in 7,1 % of patients having mucopurulent secretion and 23,5 % of cervicitis cases; however, no significant association between infection and individual clinical manifestations was shown ($p>0.05$).

Conclusion Medium *C. trachomatis* infection prevalence was found in the population being assessed here, the highest frequency being exhibited in young females. This microorganism should be investigated in sexually-active young women, regardless of their symptomatic or asymptomatic status.

Key Words: *Chlamydia trachomatis*, cervicitis, gynaecology (source: MeSH, NLM).

C *hlamydia trachomatis* es uno de los patógenos comúnmente reportados como causante de infecciones del tracto urogenital femenino (1,2). Debido a que las infecciones por *C. trachomatis* generalmente son asintomáticas y a la dificultad para su diagnóstico, una gran proporción de pacientes no son tratadas oportunamente, con el riesgo subsecuente de sufrir complicaciones como enfermedad inflamatoria pélvica, embarazo ectópico e infertilidad (3-5).

Diversos países han adoptado programas de control epidemiológico para garantizar el diagnóstico y tratamiento temprano de infecciones por *C. trachomatis* en mujeres en edad reproductiva y prevenir las complicaciones (6-11) y se ha sugerido que los resultados de estos programas podrían superar significativamente el costo económico o inversión para su ejecución, si se toma en cuenta su efectividad para disminuir las tasas de prevalencia de estas infecciones y sus secuelas asociadas (6,8,12).

Una de las limitaciones para el control de infecciones por *C. trachomatis* es que este organismo es un patógeno intracelular obligatorio, por lo cual no crece en medios de cultivo bacteriológico de uso común (13), por lo cual, en los últimos años se ha recomendado el uso de técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de infección por *Chlamydia* y se considera que su sensibilidad es superior a las técnicas de cultivos (1,2,14-18). Utilizando estas estrategias diagnósticas, la investigación de la prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* se ha generalizado en países desarrollados, pero en nuestro país existe poca información y solo recientemente, se ha comenzado a evaluar la prevalencia de infecciones por este patógeno reconocido como causante de patologías urogenitales no gonocócicas (19,20).

Como parte de una estrategia para el desarrollo de estudios epidemiológicos a gran escala, el objetivo de este trabajo fue estimar la prevalencia de infecciones causadas por *Chlamydia trachomatis* en una población de mujeres sexualmente activas, sintomáticas y asintomáticas, que asistieron a consulta de ginecología en clínicas privadas del municipio Maracaibo, aplicando técnicas de amplificación de ácidos nucleicos específicos de *C. trachomatis* en muestras clínicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio prospectivo, transversal y descriptivo para evaluar la prevalencia de *C. trachomatis* en una población de mujeres sexualmente activas. El protocolo de investigación siguió los lineamientos éticos internacionales, respetando los acuerdos de la Declaración de Helsinki en su revisión del año 2004. La participación de las pacientes en este estudio fue debidamente autorizada a través del documento de consentimiento previa información.

Selección de población de estudio

El grupo de estudio consistió en todas las pacientes (n=168) femeninas sexualmente activas en edades comprendidas entre 18-46 años que asistieron a consulta ginecológica en dos centros de salud de carácter privado del municipio Maracaibo, Estado Zulia, durante el periodo septiembre 2006-febrero 2007, excluyendo pacientes que recibieron terapia antimicrobiana durante las últimas tres semanas previas al estudio. Previa elaboración de la historia clínica, las pacientes fueron sometidas a evaluación ginecológica basada en examen pélvico y áreas profundas de la vagina y el cuello uterino. Durante la evaluación clínica, las pacientes fueron clasificadas como sintomáticas o asintomáticas, para establecer posible asociación entre infección por *C. trachomatis* y la presencia de

manifestaciones clínicas. El grupo sintomático incluyó aquellas pacientes que exhibieron signos y síntomas clínicos (secreción vaginal anormal, cervicitis, sangrado post-coital, disuria, etc.). El grupo de pacientes asintomáticas incluyó aquellas que asistieron a consulta para control de rutina, sin presentar signos y síntomas de infección genito-urinaria. La población fue clasificada en grupos etarios de 18-28 años, 29-38 años y > 38 años para establecer posibles diferencias en la frecuencia de infección de acuerdo a la edad de las pacientes. La presencia de *Neisseria gonorrhoeae* en pacientes sintomáticas se investigó por técnicas bacteriológicas convencionales.

Recolección de la muestra

La muestra fue tomada por médicos especialistas en gineco-obstetricia mediante rotación de un hisopo en la zona de transición escamo-columnar de la región endocervical. El hisopo se introdujo en un tubo conteniendo 1 ml de buffer fosfato salino.

Extracción de ADN

Para la extracción de ADN se utilizó un procedimiento descrito previamente (21), con algunas modificaciones (19,20). El hisopo fue descartado y la muestra fue transferida a un tubo de 1,5 ml, se centrifugó a 14 000 x g y el sedimento se resuspendió en 500 µl de buffer TE (10 mM Tris-HCl, pH 8, 1mM EDTA, pH 8). Después de centrifugar, el sedimento se resuspendió en 400 µl de buffer de lisis (50 mM Tris-Hcl pH 7,5, 1% Triton X-100 (SIGMA), 1 mM EDTA, 250 µg/ml de proteinasa K (Promega). La muestra se incubó a 56°C por 2 horas, el ADN fue extraído con fenol-cloroformo, precipitado con etanol y resuspendido en 30 µl de buffer TE. Se utilizaron 5 ml para ensayos de amplificación.

Detección de *Chlamydia trachomatis* por reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Para la investigación de *C. trachomatis* en las muestras clínicas se utilizaron dos ensayos de PCR basados en secuencias publicadas (16-18), de acuerdo al protocolo previamente descrito (20). Para la primera reacción (PCR-CTP), se utilizaron los oligonucleótidos CTP1 y CTP2 (22), que generan un fragmento de ADN de 201 pb. Como ensayo confirmatorio, se utilizó una segunda reacción de PCR (PCR-OMP1), utilizando oligonucleótidos específicos de secuencias del gen OMP1 que amplifican un segmento de 1 100 pb.

Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador MJ Research PTC-1000 y los productos de PCR se analizaron en geles de agarosa al 2%. Una muestra se consideró positiva cuando se observó amplificación en los dos ensayos. Se

incluyó como control positivo, ADN aislado de muestras positivas por inmunofluorescencia y por PCR. Como control negativo se utilizó agua destilada y ADN genómico de *E. coli*.

Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS (versión 10) para Windows. A través del análisis descriptivo se calcularon frecuencias con sus respectivos porcentajes para cada una de las variables. La asociación de infección por *C. trachomatis* con manifestaciones clínicas particulares y edad de las pacientes se calculó a través de tablas de contingencia y χ^2 cuadrado. Un valor $p < 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Durante el periodo septiembre 2006-febrero 2007 asistieron a consulta ginecológica de dos centros de salud de carácter privado, un total de 241 pacientes sexualmente activas, de las cuales 202 (83,8 %) reunieron criterios de inclusión, sin embargo, solo 168 (69,7 %) consintieron su participación en el estudio. La edad de las pacientes se ubicó entre 18-46 años, con un promedio de 29,7 años. Un total de 81 pacientes (48,2 %) fueron clasificadas como sintomáticas y 87 (51,8 %) como asintomáticas, de acuerdo a la presencia o no de manifestaciones clínicas. No se detectaron casos de infección por *N. gonorrhoea*.

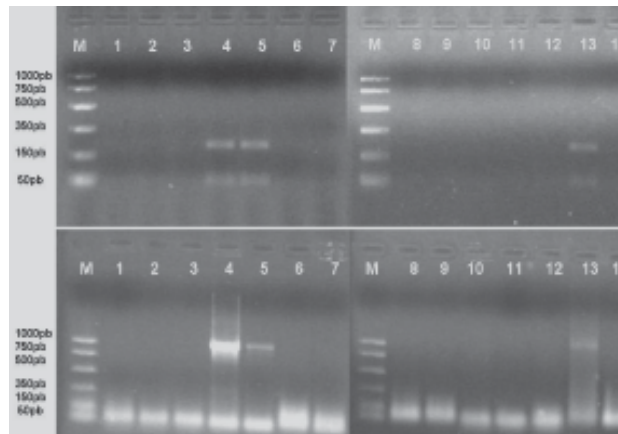
En la Figura 1 se muestra un análisis por PCR de 12 de las muestras clínicas, de las cuales, 2 resultaron positivas (carriles 4 y 5) de acuerdo al patrón de amplificación de fragmentos esperados de 201 pb y 1 100 pb para los ensayos PCR-CTP y PCR-OMP1, respectivamente. Con el análisis PCR-CTP, 17 muestras de las 168 investigadas, resultaron positivas (10,1 %), sin embargo, el ensayo PCR-OMP1, confirmó el diagnóstico en solo 13 muestras, lo cual permitió estimar una tasa de prevalencia de 7,7 % en la población total evaluada (Tabla 1).

La tasa de prevalencia fue mayor para las pacientes sintomáticas (9,9 %) que para el grupo de pacientes sin manifestaciones clínicas (5,8 %) (Tabla 1), sin embargo no se encontró diferencia estadística significativa entre ambos grupos ($p > 0,05$).

El grupo de pacientes de 18 a 28 años exhibió la más alta prevalencia (13,7 %) ($p = 0,0322$) y dentro de este grupo etario, el mayor número de casos de infección se detectó en pacientes sintomáticas (15,4 %) (Tabla 1). La prevalen-

cia de infecciones por *C. trachomatis* declinó en pacientes de 29 a 38 años (4,2 %), registrándose valores de 6,1 % y 2,6 % en los grupos sintomático y asintomático respectivamente. En este estudio no se detectó *C. trachomatis* en pacientes mayores de 38 años.

Figura 1. Patrón de amplificación de 12 muestras evaluadas en este estudio. En la parte superior se muestra análisis por PCR-CTP y la parte inferior corresponde al ensayo confirmatorio PCR-OMP1 de las mismas muestras



M: marcador de peso molecular, indicando a la izquierda el peso molecular de los fragmentos. Carril 13: control positivo, Carril 14: control negativo

Tabla 1. Prevalencia de infección por *C. trachomatis* en la población de acuerdo a la edad de las pacientes y presencia o no de manifestaciones clínicas

Edad	Sintomáticas			Asintomáticas			TOTAL	
	Nº de pacientes	Casos +	Prevalencia %	Nº de pacientes	Casos +	Prevalencia %	Casos +	PrevT %
18-28 n=73	39	6	15,4	34	4	11,8	10	13,7 ^b
29-38 n=71	33	2	6,1	38	1	2,6	3	4,2
> 38 n=24	9	0	0	15	0	0	0	0
TOTAL n=168	81	8	9,9^a	87	5	5,8^a	13	7,7

+: Casos positivos de infección por *C. trachomatis*

PrevT: Prevalencia dentro de cada grupo etario, incluyendo pacientes sintomáticas y asintomáticas.

a: Asociación entre manifestaciones clínicas y *C. trachomatis* p>0,05

b: Asociación entre edad de las pacientes y *C. trachomatis* p: 0,0322

Entre las manifestaciones clínicas predominantes en esta población (Tabla 2), se destacan secreción endocervical mucopurulenta (35,8 %), disuria (23,5 %) y cervicitis (21 %), que en la Tabla 2, se discrimina en las categorías de cervicitis (n=10) y cervicitis + SMP (n=7); para diferenciar entre casos de cervicitis no mucopurulenta (12,4 %) y aquellos acompañados de secreción mucopurulenta

(8,6 %). *C. trachomatis* fue detectada en 2/29 muestras con secreción mucopurulenta (6,9 %), 2/10 casos de cervicitis (20 %) y 2/7 pacientes con cervicitis mucopurulenta (28,6%). Al considerar la totalidad de casos de cervicitis, incluyendo la presentación mucopurulenta (n=17), la prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* fue de 23,5 % (Tabla 2). No se obtuvo evidencia concluyente sobre la posible asociación entre infección por *C. trachomatis* y manifestaciones clínicas particulares ($p>0,05$).

Tabla 2. Signos y síntomas registrados en la población y casos positivos de infección por *Chlamydia trachomatis* detectados por doble ensayo de PCR

Signos y síntomas	Pacientes		Positivos <i>C. trachomatis</i>		
	N	%	N	% ^a	% ^b
Secreción mucopurulenta (SMP)	29	35,8	2	6,9	2,5
Disuria	19	23,5	1	5,3	1,2
Cervicitis	10	12,4	2	20	2,5
Cervicitis + SMP ^c	7	8,6	2	28,6	2,5
Sangrado intermenstrual	10	12,4	0	0	0
Sangrado post-coital	5	6,2	1	20	1,2
Enfermedad inflamatoria pélvica	1	1,2	0	0	0
TOTAL	81	100	8	9,9	9,9

a: porcentaje calculado en relación a número de pacientes presentando síntoma especificado

b: porcentaje calculado en relación a número total de pacientes sintomáticos

c. Cervicitis + SMP: pacientes que presentan ambas manifestaciones clínicas al momento de la evaluación

DISCUSIÓN

La estrategia diagnóstica utilizada reúne criterios de calidad recomendados a nivel mundial que señalan la necesidad de aplicar técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para el diagnóstico de infecciones por *C. trachomatis*, pero recomiendan utilizar técnicas de detección acompañada de otra técnica confirmatoria, cuando no es posible utilizar el cultivo como técnica estándar (2,8,14-16). De acuerdo a estas recomendaciones, para el diagnóstico de *C. trachomatis* en el presente estudio se incorporaron 2 ensayos de amplificación y se estimó la prevalencia de acuerdo a resultados del ensayo confirmatorio, el cual permitió descartar 4 casos (23,5 %), disminuyendo la prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* de 10,1 % a 7,7 %, a pesar de reportes previos que señalan un 100% de correlación entre resultados con ambos ensayos (20). Los casos detectados por el ensayo PCR-CTP, no confirmados por PCR-OMP1 podrían ser explicados por eventos de contaminación de las muestras, debido a que el riesgo de contaminación incrementa, cuando el blanco de amplificación se encuentra en múltiples copias/genoma, como es el caso del plásmido endógeno de *C. trachomatis* (22).

La tasa de infecciones por *C. trachomatis* en la mayoría de poblaciones es muy variable, ubicándose en rangos desde 1%-10% (10,12,23-25) para poblaciones de baja a mediana prevalencia y hasta 11%-20% para poblaciones de alta prevalencia (9-11,26). De acuerdo a lo anterior, la población total analizada, considerada de bajo riesgo de infecciones de transmisión sexual, exhibió una mediana prevalencia (7,7 %), ligeramente inferior a datos reportados para pacientes que asisten a centros ambulatorios de carácter público (10,1 %) en nuestra población (20). Lamentablemente no disponemos de información integral sobre datos socio-económicos y hábitos sexuales de la población evaluada que permita establecer factores de riesgo, debido a que una gran proporción de las pacientes no responde información solicitada a través de un cuestionario, debido parcialmente al estigma social asociado a enfermedades de transmisión sexual. En este punto es importante resaltar que el reporte voluntario del comportamiento sexual parece ser un pobre predictor del riesgo de infección, al no garantizar la fidelidad de la información suministrada (10).

Los resultados mostraron una fuerte asociación entre infección por *C. trachomatis* y la edad de las pacientes, siendo mayor la frecuencia de infección en el grupo de pacientes más jóvenes, lo cual es consistente con resultados de diversos autores (11,17,20,23,24). Aunque se ha propuesto que la predisposición de mujeres jóvenes puede atribuirse a diferencias anatómicas, dadas por una mayor exposición del epitelio escamo-columnar de la región endocervical (18), se debe considerar que también existe un riesgo de infección de 2 a 3 veces mayor en el grupo etario equivalente en la población masculina (11), por lo cual es necesario evaluar sistemáticamente otros factores de riesgo, potencialmente relacionados con el comportamiento sexual, que expliquen la mayor predisposición de la población joven.

Aunque *C. trachomatis* fue detectada con mayor frecuencia en el grupo de pacientes sintomáticas, particularmente con cervicitis y secreción mucopurulenta, no se demostró asociación significativa. Hallazgos similares han sido reportado en diversos estudios (17,18,23,25) al igual que en otras subpoblaciones de la misma localización geográfica (20). Estos hallazgos deberían ser validados extendiendo el estudio a un mayor número de pacientes sintomáticas y asintomáticas de diversas regiones del país y si es posible, profundizar el análisis para identificar alguna asociación entre genovariantes de *C. trachomatis* y manifestaciones clínicas en nuestra población.

Es importante resaltar que a las complicaciones intrínsecas a la infección por *C. trachomatis*, se suman otras complicaciones potenciales, debido a que se ha

encontrado que la infección clamidial predispone a la adquisición de infecciones virales como virus de inmunodeficiencia humana y virus del papiloma humano (9,27), por lo cual la investigación de *C. trachomatis* cobra cada vez mayor relevancia en materia de salud pública.

En conclusión, se encontró una mediana prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* en la población evaluada, fundamentalmente en mujeres jóvenes. El estudio fortalece la propuesta de evaluar mujeres jóvenes, sexualmente activas para detectar infección por *C. trachomatis*, independientemente de su condición sintomática o asintomática y es recomendable que la evaluación sea adoptada como política de salud pública en países en desarrollo, para disminuir la transmisión de este patógeno, garantizar un tratamiento oportuno y evitar las complicaciones en la salud reproductiva de las mujeres afectadas ♣

Agradecimiento. Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia por el cofinanciamiento de esta investigación (Proyecto N° CC-0229-07). A la Oficina de Planificación del sector Universitario, por su contribución en el fortalecimiento de la infraestructura del laboratorio de Biología Molecular.

REFERENCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted Disease Surveillance. 2005. Supplement: Chlamydia Prevalence Monitoring Project. Division of STD Prevention. National Center for HIV, STD, and TB Prevention. Atlanta, Georgia; 2005. .
2. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. MMWR Recomm Rep 2006; 55: 1-94. Erratum in MMWR Recomm Rep 2006; 15:55 (36): 997.
3. Hay PE, Ghaem-Maghami S. *Chlamydia* and non-gonococcal urethritis. Curr Opin Infect Dis 1997; 10:44-49.
4. Cates W, Rolfs RT, Aral SO. Sexually transmitted diseases, pelvic inflammation diseases and infertility an epidemiologic update. Epidemiol Rev 1990; 19:199-220.
5. Cates W Jr, Wasserheit JN. Genital chlamydial infections: epidemiology and reproductive sequelae. Am J Obstet Gynecol 1991; 164:1771-1781.
6. National *Chlamydia* Screening Programme Steering Group. New Frontiers: annual report of the National Chlamydia Screening Programme in England 2005/2006. London: Health Protection Agency; 2006.
7. Yamazaki T, Hagiwara T, Kishimoto T, Sasaki N, Takahashi S, Ishihara O. Distribution of *Chlamydia trachomatis* among female prostitutes and non prostitutes in Thailand, and non prostitutes in Japan during the mid-90s. Jpn J Infect Dis 2005; 58:211-213.
8. Watson E, Templeton A, Russell I, Paavonen J, Mardh P, Stary A, Pederson BS. The accuracy and efficacy of screening test for *Chlamydia trachomatis*: a systematic review. J Med Microbiol 2002; 51:1021-1031.
9. Hashemi FB, Pourakbari B, Yazdi JZ. Frequency of *Chlamydia trachomatis* in women with cervicitis in Tehran, Iran. Infect Dis Obstet Gynecol 2007; 2007:67014-67018.
10. Gutierrez JP, Bertozzi SM, Conde-Glez CJ, Sanchez-Aleman MA. Risk behaviour of 15-21 years old in Mexico lead to a high prevalence of sexually transmitted infections: results of a survey in disadvantaged urban areas. BMC Public Health 2006; 6:49-59.

11. Cheng KT, Chen SC, Chiang CC, Li LH, Tang LH. Chlamydial infection among patients attending STD and genitourinary clinics in Taiwan. *BMC Public Health* 2007; 7:120-124.
12. Roberts TE, Robinson S, Barton PM, Bryan S, McCarthy A, Macleod J, et al. Cost Effectiveness of home based population screening for *Chlamydia trachomatis* in the UK: economic evaluation of *Chlamydia* screening studies (ClasS) project. *BMJ* 2007; 335:291-297.
13. Bavoil P. Invasion and Intracellular Growth of *Chlamydia* Species. Chapter 13. In *Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis*. Iglewski B, Clark V Editors. Academic Press INC, 1990; 273-296.
14. Quinn TC. Recent advances in the diagnosis of sexually transmitted diseases. *Sex. Trans. Dis* 1994; 21(Suppl 2):S19-S27.
15. Iack CM. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev* 1997; 10:160-184.
16. Lan J, Jan M, Walboomers JM, Roosendaal R, van Doornum GJ, Maclaren, et al. Direct detection and genotyping of *Chlamydia trachomatis* in cervical scrapes by using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *J Clin Microbiol* 1993; 31:1060-1065.
17. Lan J, Melgers I, Meijer CJ, Walboomers JM, Roosendaal R, Burger C, et al. Prevalence and serovar distribution of asymptomatic cervical *Chlamydia trachomatis* infections as determined by the highly sensitive PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33:3194-3197.
18. Morr  SA, Ossewaarde JM, Lan J, Van Doornum JM, Walboomers JM, Maclaren DM, et al. Serotyping and genotyping of genital *Chlamydia trachomatis* isolates reveals variants and serovars Ba, G y J as confirmed by *omp1* nucleotide sequence analysis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:345-351.
19. Arr ız N, Ginestre M, Castellano M, Perozo A, Urdaneta B. "Detección de *Chlamydia trachomatis* en muestras de hisopado endocervical por inmunofluorescencia directa y reacción en cadena de la polimerasa". *Rev. Soc. Venez Microb* 2006; 26: 14-18.
20. Arr ız N, Ginestre M, Perozo A, Castellano M, Urdaneta B, García M. Diagnóstico molecular y prevalencia de infecciones por *Chlamydia trachomatis* en pacientes sintomáticas y asintomáticas de una población del estado Zulia, Venezuela. *Rev Chil Infect* 2007; 24:48-52.
21. Goessen WH, Kluitmans J.A, Den Toom N, Van Rijsoort-Vos TH, Niesters BG, Stolz E, et al. Influence of volume of sample processed on detection of *Chlamydia trachomatis* in urogenital samples by PCR. *J Clin Microbiol* 1995; 33:251-253.
22. Palmer EM, Falkow S. A common plasmid of *Chlamydia trachomatis*. *Plasmid* 1986; 16:52-62.
23. Morr  SA, Rozendal L, Van Vankelgoed IG, Boeke AJ, Van Voorst Vader PC, Schirm J, et al. Urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with Clinical manifestations. *J Clin Microbiol* 2000; 38:2292-2296.
24. Marrazzo JM, Johnson R, Green TA, Stamm WE, Schachter J, Bolan G. Impact of patient characteristics on performance of nucleic acid amplification test and DNA probe for detection of *Chlamydia trachomatis* in women with genital infections. *J Clin Microbiol* 2005; 43:577-584.
25. Van Bergen JE, Spaargaren J, G tz HM, Veldhuijzen IK, Bindels PJ, Coenen TJ, et al. Pilot CT Stuy Group. Population prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in the Netherlands. Should asymptomatic persons be tested during population-based Chlamydia screening also for gonorrhoea or only chlamydial infection is found?. *BMC Infect Dis* 2006; 6:42-46.
26. Lauderdale TS, Landers L, Thorneycroft I, Chapin K. Comparison of the PACE 2 Assay, Two Amplification Assays, and clear view EIA for detection of *Chlamydia trachomatis* in females endocervical and urine specimens. *J Clin Microbiol* 1999; 37:2223-2229.
27. Machado ACS, Gulmar es EMB, Sakurai E, Fioravante FCR, Amaral WN, Alves MFC. High titers of *Chlamydia trachomatis* antibodies in Brazilian women with tubal occlusion or previous ectopic pregnancy. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2007; 2007:24816-24820.