

Diagnóstico molecular en la evaluación de infecciones urogenitales por *Chlamydia trachomatis*

Drs. Nailet Arráiz^{1a2}, Rafael Marcucci^{1b}, Baldimiro Urdaneta^{1b}, Sonia Colina^{2b}, Zoila Romero^{2b}

Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

Chlamydia trachomatis es una bacteria intracelular considerada uno de los patógenos de transmisión sexual más prevalentes a nivel mundial (1-5). Las infecciones urogenitales causadas por *C. trachomatis* cursan con múltiples manifestaciones clínicas incluyendo cervicitis, uretritis y enfermedad inflamatoria pélvica que puede conducir a abortos e infertilidad y aunque el principal impacto de la infección es dirigido a la salud reproductiva de la mujer, *C. trachomatis* también infecta hombres y niños (1,5).

El gran reto para el control de infecciones por *C. trachomatis* lo constituye el hecho de que la mayoría de las mujeres afectadas (70 %-80 %) y hasta un 50 % de los hombres no exhiben manifestaciones clínicas (1,4,6-9), de manera que la bacteria no es investigada y estos individuos se convierten en un reservorio capaz de transmitir la infección a sus parejas sexuales. Otro aspecto que complica la situación es que la inmunidad es solo parcialmente protectora y son comunes las infecciones recurrentes. Hay evidencias que señalan que la probabilidad de complicaciones se incrementa con episodios sucesivos de infección (5,6,9,10) y por otra parte, es importante destacar una posible asociación entre infecciones por

C. trachomatis e incremento en el riesgo de infección por VIH (7,9,10).

El carácter asintomático de la infección por *C. trachomatis* y las limitaciones para su diagnóstico han dificultado la determinación de la verdadera prevalencia a nivel mundial. Se ha sugerido que aproximadamente 50 millones de nuevos casos de infección por *C. trachomatis* pueden estar ocurriendo anualmente en todo el mundo (10,11). Estados Unidos es el único país que lleva un registro sistemático de la prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* y desde 1996, esta enfermedad de transmisión sexual (ETS) es de reporte obligatorio (2-4). En los últimos años, el promedio de tasas de infección 485 casos/100 000 habitantes y 150 casos/100 000 habitantes en mujeres y hombres, respectivamente (3,4). Sin embargo, se ha advertido que la interpretación de estos datos debe ser cuidadosa, debido a que el incremento no sólo puede ser atribuido al aumento en las tasas de individuos infectados, sino también a la introducción de métodos de laboratorio más sensibles para la detección de *C. trachomatis* y un mayor control por parte de las autoridades sanitarias en el registro de infecciones.

Estos datos son ilustrativos de la necesidad de optimizar las estrategias diagnósticas para la detección de *C. trachomatis*, lo cual se traduce en una gran fortaleza para evaluar la problemática de la salud reproductiva de la población y aplicar medidas de control para disminuir la propagación de este patógeno.

Proceso de infección por *Chlamydia trachomatis*

Los miembros del género *Chlamydia* siguen un ciclo de desarrollo bifásico que se caracteriza por la formación de inclusiones intracelulares que pueden ser observadas microscópicamente, distinguiéndose

¹ Escuela de Bioanálisis, Departamento de Morfofisiopatología. Facultad de Medicina, Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

² Sección de Biología Molecular. Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas "Dr. Félix Gómez". Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

a. Doctora en Ciencias Biológicas, Especialidad: Biología Molecular.

b. Doctor en Ciencias Médicas. Especialista en Ginecología y Obstetricia

dos estados: cuerpos elementales y cuerpos reticulados (12). Los cuerpos elementales son las formas infectantes, son semejantes a una spora, tienen un diámetro de aproximadamente 0,3 μm e inducen su propia endocitosis al hacer contacto con la célula blanco y son los responsables de la inhibición de la fusión fagolisosómica, permitiendo la supervivencia intracelular (Figura 1).

Una vez en el interior de los endosomas, los cuerpos elementales maduran a una forma metabólicamente activa, que alcanza un diámetro de 500-1 500 nm conocida como cuerpo reticulado y comienza a dividirse, con un período de generación de 2-3 horas. Esta forma carece de pared celular y es detectada como un cuerpo de inclusión en la célula. Posteriormente, el cuerpo reticulado hace la transición a formas elementales y es liberado de la célula por exocitosis (Figura 1).

Factores de virulencia de *C. trachomatis*

Chlamydia trachomatis posee numerosos factores que contribuyen a su virulencia, prestándose gran atención a los componentes de la superficie celular que le permite la interacción con receptores de ácido siálico en los tejidos blanco (12) y a la presencia de un plásmido de virulencia (13).

Proteínas de membrana externa (OMP)

La estructura única de la pared celular de

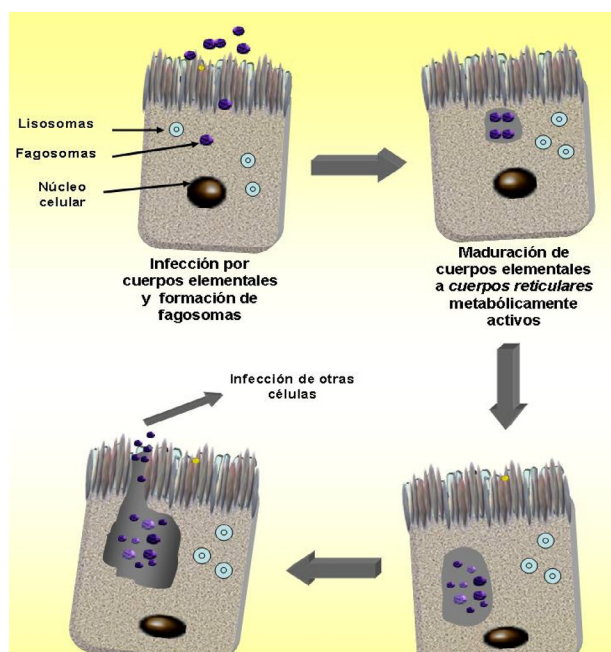


Figura 1. Ciclo de vida de *Chlamydia trachomatis* y proceso de infección.

Chlamydia puede contribuir a la virulencia debido a sus interacciones con receptores de las células eucariotas y su capacidad para inhibir la fusión de los endosomas a los lisosomas. La estructura de la pared celular es semejante a la de las bacterias gramnegativas porque contiene una membrana externa de lipopolisacáridos, pero carece de peptidoglicanos. La estructura consiste en proteínas de membrana externa entrecruzada con puentes disulfuro y proteínas ricas en cisteína (PRC) que pueden ser los equivalentes funcionales de los peptidoglicanos (Figura 2).

Esta estructura única le confiere a estos organismos la capacidad de sobrevivir extracelularmente y de dividirse en el medio intracelular. Las proteínas principales de membrana externa (MOMP) representan el 60 % de las OMPs y son altamente conservadas en miembros de la misma especie. La neutralización de las MOMP con anticuerpos monoclonales disminuye la infectividad de *C. trachomatis* en ratón, por lo cual se les ha atribuido un papel importante en la interacción con células eucariotas (12). Igualmente se ha demostrado que las proteínas ricas en cisteína se expresan abundantemente en la superficie de los cuerpos elementales, pero no en los cuerpos reticulados, por lo cual se ha sugerido que participan en la entrada de *C. trachomatis* en las células. Se ha propuesto que algunas adhesinas, particularmente de 18 y 32 Kd también participan en la interacción con receptores de células eucariotas, debido a disminución de la infectividad al utilizar anticuerpos monoclonales con estas adhesinas (10,12). No hay resultados concluyentes sobre el papel de algunos lipopolisacáridos de superficie en la unión o entrada de *C. trachomatis* a la célula.

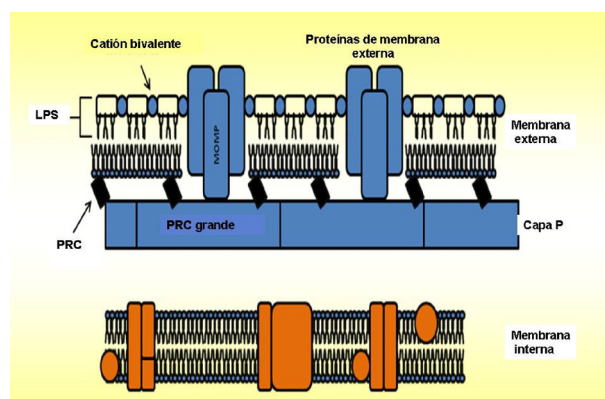


Figura 2. Modelo de la envoltura celular de *Chlamydia trachomatis*.

Presencia de plásmido endógeno

Todas las cepas de *C. trachomatis* aisladas de pacientes contienen un plásmido de 7 400 pares de bases presente en un número de 10 copias/genoma, de manera que el plásmido parece ser indispensable para la supervivencia de la bacteria, sin embargo, se han aislado *in vitro* cepas desprovistas de plásmido (13).

En este plásmido se han localizado ocho marcos de lectura abierta y las secuencias completas están altamente conservadas entre las diferentes cepas. El análisis de las funciones biológicas del plásmido clamidial *in situ* se ha imposibilitado enormemente por la carencia de un sistema de crecimiento libre para *Chlamydia*. Se han publicado varias secuencias completas del plásmido de *C. trachomatis* aisladas de humanos (14-16). Los productos codificados por el plásmido incluyen varios péptidos de función desconocida, sin embargo, se ha identificado un marco de lectura abierta que codifica una proteína homóloga a DnaB de *E. coli* (13), una helicasa que participa en la replicación, pudiendo ser de gran importancia para la fase replicativa de la infección.

Manifestaciones clínicas y secuelas de la infección por *C. trachomatis* en la mujer

Chlamydia trachomatis se transmite fundamentalmente por contacto sexual a través de secreciones, sin embargo, la bacteria puede ser transportada de las secreciones genitales a las manos y causar tracoma (5-7,9,10). Infecta principalmente membranas mucosas tales como el cuello uterino, uretra y conjuntiva. Aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas, las manifestaciones clínicas, si están presentes, incluyen incremento en la secreción vaginal, ardor al orinar, irritación en el área que rodea a la vagina, cervicitis, uretritis, sangrado poscoital u ocasional y en infecciones más severas, endometritis y enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) (2-5). Algunos estudios han reportado que en el 50 % al 60 % de las mujeres sintomáticas, se presenta infección tanto en cérvix como en uretra y 30 % tiene solo infección cervical (5,7,9,11,17).

Los síntomas de EIP, que resulta del ascenso de la infección, pueden ser sutiles o incluir dolor abdominal o uterino y tanto en Europa como en Estados Unidos un mayor porcentaje de EIP se ha atribuido a *C. trachomatis* más que a *N. gonorrhoeae* (18,19). Las infecciones por *C. trachomatis* parecen producir una más severa inmunopatología tubárica a pesar de la ausencia de síntomas (17,18), y en más del 50 % de mujeres con oclusión tubárica no se reporta historia previa de EIP y actualmente se señala que la salpingitis

silente es una de las principales causas de infertilidad y embarazos ectópicos en mujeres infectadas con *C. trachomatis* (5,9,17,18).

Las mujeres embarazadas infectadas por *C. trachomatis* tienen un elevado riesgo de partos prematuros, ruptura de membranas, muerte neonatal y EIP posparto (10,20), de manera que el diagnóstico y tratamiento de las mujeres embarazadas y sus parejas sexuales es de gran importancia para evitar todas estas complicaciones (21).

Diagnóstico de infecciones por *C. trachomatis*

Una de las limitaciones para el control de infecciones por *C. trachomatis*, es que no se dispone de una estrategia diagnóstica sensible, específica y rápida, que permita indicar un tratamiento antimicrobiano adecuado para la paciente y proporcionar las bases para estudiar la prevalencia de este agente infeccioso en la población. De los métodos más utilizados para la detección de infección por *C. trachomatis*: se reconocen los siguientes:

Examen microscópico directo de muestras endocervicales: para buscar las inclusiones citoplasmáticas o los cuerpos elementales típicos. Generalmente, el estudio microscópico directo del tejido muestra baja sensibilidad (52 %-85 %), por lo cual no se recomienda para diagnóstico o investigación (12,22-24). Todas las tinciones se fundamentan en la presencia de glucógeno de las inclusiones citoplasmáticas clamidiales y las células epiteliales a partir de las cuales se toman las muestras también tienen glucógeno, lo que puede llevar a obtener falsos positivos al teñir con Giemsa o con anticuerpos fluorescentes (23,24). Este tipo de estudios, generalmente se desecha por su escasa sensibilidad y frecuencia de interpretaciones falsas positivas.

Cultivos celulares: es utilizado para la observación de inclusiones intracitoplasmáticas en células teñidas con anticuerpos monoclonales fluorescentes (12,18). Los cultivos celulares más utilizados son líneas celulares de ratón (células McCoy). La condición de parásito obligatorio que presenta *C. trachomatis*, trae como consecuencia que no se le pueda cultivar en cultivos convencionales, requiriendo sistemas de cultivo celular, condiciones de transporte rigurosas y personal especializado debido a su complejidad técnica. El compromiso de la viabilidad de la bacteria durante el transporte y procesamiento de la muestra puede rendir resultados falsos negativos. El cultivo celular había representado por mucho tiempo el "gold standard" para el diagnóstico de esta infección y se utilizaba frecuentemente en los países desarrollados,

con propósitos de estudio médico-legales debido a su especificidad, sin embargo, al ser comparado con ensayos de amplificación de ácidos nucleicos, se ha reportado que su sensibilidad puede ser de un 50 %-60 % dependiendo del laboratorio (10,20-23).

Detección de antígenos por métodos inmunológicos: las pruebas serológicas tienen valor limitado en el diagnóstico de las infecciones por *Chlamydia*. La prueba de fijación del complemento (Fc) con antígeno termoestable específico del género se ha empleado con cierto éxito en el diagnóstico del linfogranuloma venéreo (LGV), pero no posee sensibilidad para otras infecciones (22,23). Los métodos de detección de antígenos, basados en análisis inmunoenzimáticos son simples, pero de limitada sensibilidad y especificidad (10,23,26-30).

Los ensayos de inmunofluorescencia parecen incrementar la sensibilidad, debido de que los antígenos dirigidos a las proteínas de membrana externa de *C. trachomatis* son detectadas en las células obtenidas del sitio infectado con el empleo de un anticuerpo monoclonal conjugado a un fluorocromo (23). Las formas infecciosas observadas son los cuerpos elementales. Esta técnica presenta una sensibilidad de 80 % a 90 % y es un método ideal para diagnosticar conjuntivitis de inclusión y se debe realizar por personal altamente especializado.

Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos: desde hace algunos años, se han diseñado sondas de ácidos nucleicos para pruebas de amplificación como la reacción en cadena de la ligasa o RCL (10,31) y la reacción en cadena de la polimerasa o PCR (27-31). Actualmente, esta última, constituye una de las técnicas más sensibles para el diagnóstico de la infección por *Chlamydia* y se considera que su sensibilidad es superior a las técnicas de cultivos celulares (22,23,27-33). Además, las técnicas de amplificación detectan secuencias de ADN específicas de *C. trachomatis*, sin necesidad de que el microorganismo estudiado se encuentre intacto, superando algunas limitaciones de los cultivos celulares, relacionadas con el transporte y la manipulación de las muestras (6,10,20-22).

Se ha reportado una especificidad de 100 % y una alta sensibilidad ≥ 95 % (25-27) para los ensayos de amplificación de ADN, pudiendo detectar genes de *C. trachomatis* en muestras con escasos cuerpos de inclusión (29,31-33).

A pesar de estos avances, en la mayoría de los países, se presenta la misma problemática relacionada con la inexistencia de métodos de diagnóstico sensibles, rápidos y viables, lo que se traduce en

un grave problema de salud pública, debido a que las mujeres infectadas, al no ser diagnosticadas, no reciben tratamiento oportuno, desarrollando complicaciones. Venezuela, y más específicamente Maracaibo y otros Municipios del Estado Zulia, no están ajenos a esta situación, sin embargo, se han reportado estudios preliminares basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, que han permitido estimar la prevalencia de infección por *C. trachomatis* en pequeñas poblaciones de pacientes sexualmente activas (30,34).

Diagnóstico molecular y prevalencia de infecciones urogenitales por *C. trachomatis* en nuestra región

Aunque existen técnicas comerciales disponibles para la detección de *C. trachomatis* en muestras clínicas, basadas en amplificación de ácidos nucleicos, con altos porcentajes de especificidad y sensibilidad (26,28,29,31), el elevado costo de los kits comerciales limita su uso como herramienta diagnóstica de rutina. Una alternativa para establecer el diagnóstico molecular en nuestro medio es la adquisición de reactivos separadamente y la estandarización de protocolos de extracción y de amplificación de ácidos nucleicos en los laboratorios locales, lo cual disminuye significativamente el costo por ensayo. Un ensayo de amplificación de ácidos nucleicos por PCR podría ser adoptado en nuestro medio como la mejor opción para la detección de infecciones por *C. trachomatis*.

Recientes estudios han reportado la prevalencia en nuestra región, basados en técnicas de amplificación de ácidos nucleicos para detectar secuencias de ADN del plásmido endógeno (25,29) y del gen OMP1 codificante para una proteína de membrana externa de *C. trachomatis*. En la Figura 3 se muestra un ejemplo del análisis de 12 muestras endocervicales, dos de las cuales (4 y 5) resultaron positivas al detectar las secuencias de ADN del plásmido y la proteína de membrana externa OMP1 específica de *C. trachomatis*.

La prevalencia de infecciones por *C. trachomatis* es relativamente alta en el rango de 9,26 % (30) a 10,48 % (34) en dos poblaciones de mujeres sexualmente activas del Estado Zulia. La prevalencia encontrada por otros autores, se ubican en rangos desde 1 %-10 % para poblaciones de baja a mediana prevalencia (19,28,31,32), hasta 11 %-20 % para poblaciones de alta prevalencia (5,10,8,28,36-40).

La más alta prevalencia de infecciones en nuestro medio se ubica en el grupo de mujeres de 20-30

CHLAMYDIA TRACHOMATIS

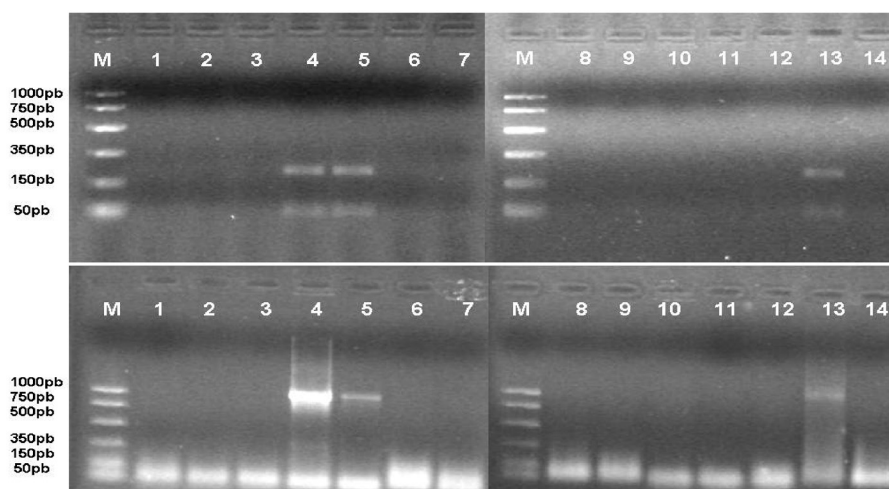


Figura 3. Ejemplo de un análisis de 12 muestras por ensayo de amplificación de ADN por PCR. En los gels de la parte superior se muestra análisis utilizando secuencias del plásmido endógeno y la parte inferior corresponde al análisis utilizando secuencias del gen OMP1, específico de *C. trachomatis*. M: marcador de peso molecular. Carril 13: control positivo; carril 14: control negativo.

años (34) y esto ha sido documentado a través de diversos estudios (6,8,26,28,33). Hasta ahora no se ha encontrado asociación entre la presencia de *C. trachomatis* y manifestaciones clínicas, aunque se ha detectado *C. trachomatis* en un alto porcentaje de pacientes con cervicitis mucopurulenta en nuestro medio (30,34). Algunos autores señalan que la cantidad de cuerpos elementales de *C. trachomatis* se correlaciona con signos de inflamación y presencia de síntomas (26).

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 (38), 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 (41,42), por lo cual es necesario evaluar sistemáticamente otros factores de riesgo, potencialmente relacionados con el comportamiento sexual y otros factores demográficos adicionales (9,10) que expliquen la mayor predisposición de la población joven.

La edad y la presencia de síntomas parecen ser factores importantes para la detección de *C. trachomatis* en nuestro medio y sería muy importante llevar a cabo en el futuro estudios epidemiológicos que permitan demostrar si algunas genovariantes de nuestra población están asociadas a infecciones

sintomáticas y asintomáticas.

CONCLUSIÓN

Chlamydia trachomatis es uno de los patógenos comúnmente reportados como causante de infecciones del tracto urogenital femenino, responsable de múltiples secuelas reproductivas en la mujer. Los métodos moleculares constituyen una estrategia de diagnóstico sensible y específico que podrían ser utilizados en nuestro medio para evaluar la prevalencia de infecciones urogenitales por *C. trachomatis* en poblaciones sintomáticas y asintomáticas a gran escala, pudiendo brindar posibilidades terapéuticas acertadas y oportunas a las pacientes afectadas, y facilitar el diseño de programas de control epidemiológico para disminuir la prevalencia de este agente infeccioso.

Uno de los argumentos utilizados para restringir el uso de técnicas moleculares es su alto costo, sin embargo, esta limitación puede ser superada si se obvia la adquisición de *kits* comerciales y se estandarizan protocolos de extracción y de amplificación de ácidos nucleicos en nuestros laboratorios locales.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia por el cofinanciamiento

de esta investigación (Programa N° CC-0229-07).

REFERENCIAS

- Adler MW. Sexually transmitted diseases control in developing countries. *Genitourin Med.* 1996;72:83-88.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *MMWR Recomm Rep.* 2006;55:1-94. Erratum in *MMWR Recomm Rep.* 2006;15:55-67.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted disease Surveillance 2004. Division of STD Prevention. September 2005. National Center for HIV, STD, and TB Prevention. Atlanta, Georgia, 2005.p.184.
- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted Disease Surveillance 2005. Supplement: Chlamydia Prevalence Monitoring Project Division of STD Prevention September 2005. National Center for HIV, STD, and TB Prevention. Atlanta, Georgia. 20056.18.p.
- Hay PE, Ghaem-Maghani S. *Chlamydia* and non-gonococcal urethritis. *Curr Opin Infect Dis.* 1997;10:44-49.
- 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.
- Cates W, Rolfs RT, Aral SO. Sexually transmitted diseases, pelvic inflammation diseases and infertility an epidemiologic update. *Epidemiol Rev.* 1990;19:199-220.
- Morré 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.
- Cates W Jr, Wasserheit JN. Genital chlamydial infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164:1771-1781.
- Black CM. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:160-184.
- Krul KG. Closing in on *Chlamydia*. *CAP Today.* 1995;9:1-20.
- Bavoil P. Invasion and intracellular growth of *Chlamydia* Species. Chapter 13. En: Iglewski B, Clark V, editores. *Molecular Basis of Bacterial Pathogenesis.* Academic Press INC, 1990.p.273-296.
- Palmer L, Falkow S. A common plasmid of *Chlamydia trachomatis*. *Plasmid.* 1989;16:52-62.
- Comanducci M, Ricci S, Cevenini R, Ratt G. Diversity of the *Chlamydia trachomatis* common plasmid in biovars with different pathogenicity. *Plasmid.* 1990;23:149-154.
- Comanducci M, Cevenini R, Moroni A, Giuliani MM, Ricci S, Scarlato V, et al. Expression of a plasmid gene of *Chlamydia trachomatis* encoding a novel 28 kDa antigen. *J General Microbiol.* 1993;139:1083-1092.
- Sriprakash K, MacAvoy E. Characterization and sequence of a plasmid from the trachoma biovar of *Chlamydia trachomatis*. *Plasmid.* 1987;18:205-214.
- Miller KE. Diagnosis and treatment of *Chlamydia trachomatis* infection. *Am Fam Physician.* 2006;73:1411-1416.
- Machado ACS, Gulmarães 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.
- Van Bergen JE, Spaargaren J, Götz HM, Veldhuijzen IK, Bindels PJ, Coenen TJ, et al. Pilot CT Study 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.
- Todd CS, Haase C, Stoner BP. Emergency Department Screening for asymptomatic sexually transmitted infections. *Am J Public Health.* 2001;91:461-464.
- Ford CA, Viadro CI, Miller WC. Testing for Chlamydial and gonococcal infections outside of clinic settings. A summary of the literature. *Sex Transm Dis.* 2004;1:38-51.
- Watson E, Templeton A, Russell I, Paavonen J, Mardh P, Stary A, et al. The accuracy and efficacy of screening test for *Chlamydia trachomatis*: A systematic review. *J Med Microbiol.* 2002;51:1021-1031.
- Quinn TC. Recent advances in the diagnosis of sexually transmitted diseases. *Sex Trans Dis.* 1994;21(Suppl 2):19-27.
- Martínez MA. Diagnóstico microbiológico de *Chlamydia trachomatis*: Estado actual de un problema. *Rev Chil Infectol.* 2001;18(4):1-14.
- Tan HH, Chan R. Use of polymerase chain reaction on pooled cervical swabs to detect *Chlamydia trachomatis* infections in female sex workers in Singapore. *Singapore Med J.* 2005;46:215-218.
- 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.
- Dicker LW, Mosure DJ, Levine WC, Black CM, Berman SM. Impact of switching laboratory tests on reported trends in *Chlamydia trachomatis* infections.

- Am J Epidemiol. 2000;151:430-435.
28. 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.
 29. Schepetiuk S, Tuckweng K, Martin L, Waddell R, Higgins G. Detection of *Chlamydia trachomatis* in urine samples by nucleic acid test: Comparison with culture and enzyme Immunoassay of genital swabs specimens. J Clin Microbiol. 1997;35:3355-3357.
 30. Arráiz 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.
 31. Puolakkainen M, Hiltunen-Back E, Reunala T, Suhonen S, Lahteenmaki P, Lehtinen M, et al. Comparison of performance of two commercially available test, a PCR Assay And a Ligase Chain reaction test, in detection of urogenital *Chlamydia trachomatis* infection. J Clin Microbiol. 1998;36:1489-1493.
 32. 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.
 33. George JA, Panchatcharam TS, Paramasivam R, Balasubramanian S, Chakrapani V, Murugan G. Evaluation of diagnosis efficacy of PCR methods for *Chlamydia trachomatis* infection in genital and urine specimen of symptomatic men and women India. Jpn J Infect Dis. 2003;56:88-92.
 34. Arráiz 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.
 35. Chernesky MA, Jang D, Lee H, Bruczak JD, Hu H, Sellors J, et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in infections in men and women by testing first-void urine by ligase chain reaction. J Clin Microbiol. 1994;32:2682-2685.
 36. Nusbaum MR, Gutierrez JP, Bertozzi SM, Condeglez 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.
 37. Garland SM, Tabrizi SN, Chen S, Byambaa C, Davaajav K. Prevalence of sexually transmitted infections (*Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis* and human papillomavirus) in female attendees of a sexually transmitted diseases clinic in Ulaanbaatar, Mongolia. Infect Dis Obstet Gynecol. 2001;9:143-146.
 38. Morré 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.
 39. Yamazaki T, Hagiwara T, Kishimoto T, Sasaki N, Takahashi S, Ishihara O, et al. 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.
 40. Hashemi FB, Pourakbari B, Yazdi JZ. Frequency of *Chlamydia trachomatis* in women with cervicitis in Tehran, Iran. Infect Dis Obstet Gynecol. 2007;27:67014-67018.
 41. 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.
 42. Schwebke JR, Aira T, Jordan N, Jolly PE, Vermund SH. Sexually transmitted diseases in Ulaanbaatar, Mongolia. Int J STD & AIDS; 1998;38:354-358.

Correspondencia: Dra. Nailet Arráiz Rodríguez.
 Maracaibo, Estado Zulia.
 Dirección: habitación: Edif. Bellas Artes, Apto 8 A
 Telf: 0058-0261-7923996.
 Apartado Postal: 4002.
 Oficina:
 -Departamento de Morfofisiopatología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia.
 - Sección de Biología Molecular. Centro de Investigaciones Endocrino-Metabólicas Dr. "Félix Gomez", Facultad de Medicina. La Universidad del Zulia.
 Final Av. 20. Sector Indio Mara.
 T e l f : 0 0 5 8 - 0 2 6 1 - 7 5 9 7 2 7 6 . F a x : 0058-0261-7597224,
 E-mail: narraiz@cantv.net