

Daniela Friedek, Alicja Ekiel, Gayane Martirosian

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: ETIOPATOGENEZA I DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach
Kierownik Katedry: Gayane Martirosian

W pracy omówiono epidemiologię i etiopatogenezę zakażeń układu moczowo-płciowego spowodowanych przez serotypy D-K Chlamydia trachomatis na podstawie własnych doświadczeń i danych literaturowych. Przedstawiono metody diagnostyki mikrobiologicznej tych zakażeń uwzględniając: metody hodowlane (na komórkach Mc Coy'a), serologiczne i molekularne.

Słowa kluczowe: chlamydioza, częstość występowania, diagnostyka

Key words: chlamydiosis, prevalence, diagnostic

WSTĘP

Chlamydia trachomatis (C. trachomatis) należy do bakterii Gram-ujemnych, charakteryzuje się wewnątrzkomórkowym pasożytnictwem i unikalnym cyklem rozwojowym z dwiema formami morfologicznymi: ciałka elementarnego (*elementary body* – EB), które inicjuje zakażenie i ciałka retikularnego (*reticulate body* – RB), które jest aktywne metabolicznie i ma zdolność namnażania się przez podział. *C. trachomatis* wykazuje tropizm do nabłonka walcowatego i przejściowego, pierwotnie zakażenie dotyczy kanału szyjki macicy i cewki moczowej.

EPIDEMIOLOGIA

Zakażenia układu moczowo-płciowego powodowane przez *C. trachomatis* – serotypy D-K mają znaczenie epidemiologiczne i kliniczne. Według danych CDC (Centers for Disease Control and Prevention), *C. trachomatis* jest drobnoustrojem najczęściej przenoszonym drogą płciową (1). Do czynników ryzyka wystąpienia zakażeń *C. trachomatis* należą: młody wiek, częsta zmiana partnerów seksualnych, niestosowanie bariery antykoncepcyjnej, antykoncepcja hormonalna. Zakażenia *C. trachomatis* są obserwowane głównie w grupie kobiet młodych do 25 roku życia (2,3). Są one rozpowszechnione na całym świecie, jednak w krajach, w których wprowadzono program badań przesiewowych i skuteczne schematy leczenia poparte działaniami edukacyjnymi zanotowano spadek częstości zakażeń i ich następstw. Odsetek zakażonych *C. trachomatis* w tych krajach jest niski w USA – 4,7%,

w Szwecji – 5,4% (4,5). W Polsce częstość zakażeń w różnych grupach badanych wynosi od 20% do 40 % (6,7). Badania wykazują wysoki odsetek zakażeń *C. trachomatis* w populacji młodych dziewcząt: 30,3% Serbia (8), 20,8% Włochy (9). W Słowenii najwyższą częstość zakażeń obserwowano w grupie kobiet w przedziale wieku od 21 do 30 lat (16,7%), jednocześnie w całej badanej grupie stwierdzono wyższą częstość zakażeń *C. trachomatis* u mężczyzn niż u kobiet (19,5%, 10,7% odpowiednio) (10). Zakażenia u mężczyzn stwierdzano z częstością od kilku do nawet 30 % w zależności od czynników ryzyka obecnych w badanej grupie (10,11).

ZAKAŻENIA *C. TRACHOMATIS* U KOBIET

Najczęstszą postacią kliniczną zakażenia u kobiet jest zapalenie szyjki macicy, charakteryzuje się przekrwieniem, śluzowo-ropną wydzieliną, krwawieniem kontaktowym. Zakażeniu szyjki macicy może towarzyszyć infekcja cewki moczowej. Stany zapalne, w tym powodowane przez *C. trachomatis*, mogą być czynnikiem predysponującym do wystąpienia nadżerki części pochwowej szyjki macicy. Jednak 70% zakażeń *C. trachomatis* u kobiet przebiega bezobjawowo. Konsekwencje zakażeń zarówno objawowych jak i bezobjawowych są takie same. Najczęstszym powikłaniem u kobiet jest zapalenie narządów miednicy mniejszej (*pelvic inflammatory diseases* – PID), co może prowadzić do niepłodności pochodzenia jajowodowego. Częstość zakażeń *C. trachomatis* w grupach niepłodnych kobiet jest wysoka 24% (12), 62,7% (13). W naszych badaniach w grupie kobiet z niepłodnością wykazano wysoką częstość (63,3%) zakażeń chlamydialnych (14). Stany zapalne o etiologii *C. trachomatis* mogą mieć wpływ na proces zapłodnienia poprzez różne mechanizmy. Toczący się w obrębie szyjki macicy proces zapalny prowadzi do uszkodzenia komórek gruczołowych wytwarzających śluz, uczestniczący w transporcie plemników. Ostatnio dyskutowany jest również udział *C. trachomatis* w indukcji przeciwciał przeciwplemnikowych, powstających w wyniku podobieństwa antygenowego pomiędzy chlamydiami i plemnikami.

Nierozpoznane i nieleczone zakażenia to poważny problem epidemiologiczny, ze względu na istniejące ryzyko przeniesienia zakażenia na partnerów seksualnych i noworodki. U kobiet ciężarnych zakażenie *C. trachomatis* może mieć wpływ na przebieg ciąży (poronienie, poród przedwczesny) oraz stanowi zagrożenie okołoporodowych zakażeń noworodków. Najczęstszą postacią zakażenia *C. trachomatis* u noworodków jest zapalenie spojówek i/lub zapalenie ucha środkowego oraz zapalenie płuc. Uzasadnione jest zalecanie wykonywania badań przesiewowych w kierunku *C. trachomatis* przez kliniki zajmujące się planowaniem rodziny.

Zakażeniu układu moczowo-płciowego u dorosłych może towarzyszyć wtórne zapalenie spojówek, do którego najczęściej dochodzi na drodze autozakażenia.

UDZIAŁ *C. TRACHOMATIS* W INDUKCJI I PROGRESJI ZMIAN DYSPLASTYCZNYCH NABŁONKA SZYJKI MACICY

W ostatnich latach dyskutowana jest rola *C. trachomatis* w dysplazji nabłonka szyjki macicy i rozwoju raka szyjki macicy (15,16,17). Rak szyjki macicy z udziałem wysokoonkogenicnych typów wirusa brodawczaka ludzkiego (*human papillomavirus* – HPV) jest procesem złożonym. W przypadku tego wirusa, aby doszło do transformacji nowotworowej,

muszą zaistnieć czynniki promujące: współistnienie zakażeń bakteryjnych, w tym o etiologii *C. trachomatis*, zaburzenia w funkcjonowaniu układu odpornościowego. *C. trachomatis* pełni rolę kofaktora dla ekspresji HPV poprzez podtrzymanie stanu zapalnego i modyfikację miejscowej odporności nabłonka dróg rodnych. Nasze badania wykazały, że zakażenie *C. trachomatis* znamienne częściej współlistnieje z obecnością wysokoonkogennych typów HPV niż niskoonkogennych (2). Korelację zakażenia *C. trachomatis* z obecnością HPV potwierdzają w swoich badaniach również inni autorzy (15,17). *C. trachomatis* jest brana pod uwagę również jako niezależny czynnik, który może prowadzić do dysplazji nabłonka szyjki macicy i rozwoju raka szyjki macicy (16). W rozwoju następstw powodowanych przez *C. trachomatis* zwraca się uwagę na rolę cytokin, które kontrolują komórkowe i humoralne mechanizmy odporności przeciwwakaźnej i przeciwnowotworowej.

ZAKAŻENIA *C. TRACHOMATIS* U MĘŻCZYŹN

U mężczyzn najczęstszą postacią zakażenia *C. trachomatis* jest nierzeżączkowe zapalenie cewki moczowej (*nongonococcal urethritis* – NGU). Przebieg kliniczny NGU może być skąpoobjawowy lub ostry z wyciekami z cewki moczowej o charakterze wodnistym, śluzowo-ropnym, bolesnym oddawaniem moczu, czasami bólami podbrzusza.

C. trachomatis odgrywa także rolę w zapaleniu najądrzy zwłaszcza u młodych mężczyzn, poniżej 35 roku życia. Może to prowadzić do niedrożności kanalików nasiennych, konsekwencją czego jest nieplodność męska. Następstwem nieleczzonego zakażenia *C. trachomatis* jest reaktywne zapalenie stawów, które u mężczyzn występuje częściej aniżeli u kobiet.

DIAGNOSTYKA ZAKAŻEŃ

Klasyczną metodą stosowaną w diagnostyce zakażeń o etiologii *C. trachomatis* jest wykrywanie ciałek wtętotowych w hodowli komórkowej zakażonej materiałem z szyjki macicy lub cewki moczowej. Metoda hodowli była określana do niedawna jako złoty standard (gold standard) diagnostyczny w zakażeniach *C. trachomatis*. Obecnie akceptowaną metodą odniesienia (gold standard) są metody genetyczne amplifikacji kwasów nukleinowych (*nucleic acid amplification techniques* – NAAT) (18). Dodatkowo metody te mogą być stosowane do badania zarówno wymazów z cewki i szyjki macicy jak również próbek moczu.

W diagnostyce zakażeń *C. trachomatis* wartość testów serologicznych wykrywających swoiste przeciwciała w surowicy jest ograniczona, może być uwzględniana w zakażeniach górnych odcinków układu moczowo-płciowego, takich jak: PID, zapalenie jajowodów, nieplodność pochodzenia jajowodowego. W zakażeniach ograniczonych tylko do cewki moczowej lub szyjki macicy poziom przeciwciał w surowicy może być niski, niewykrywalny. U niemowląt z zapaleniem płuc stwierdzenie swoistych przeciwciał IgM potwierdza etiologię *C. trachomatis* jako wynik okołoporodowej ekspozycji.

METODY HODOWLANE

Wykrywanie *C. trachomatis* w hodowli na komórkach Mc Coy'a (komórki fibroblastów mysich) potraktowanych cykloheksamidem opiera się na wykrywaniu wtętotów cytoplazmatycznych, obecnych w zakażonych komórkach, widocznych w mikroskopie świetl-

nym po wybarwieniu jodyną Jonesa. Wtręty cytoplazmatyczne można również wykrywać metodą immunofluorescencji z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych znakowanych izotiocyanianem fluoresceiny.

Metoda hodowli cechuje się dużą swoistością (100%), natomiast jej czułość jest stosunkowo niska, zależy od rodzaju badanych materiałów. W badaniach Puolakkainen i wsp. prowadzonych na dużej grupie 1030 kobiet i mężczyzn, czułość metody hodowli wynosiła dla wymazów z szyjki macicy 67,9%, wymazów z cewki moczowej 85,7% (19). Metody hodowlane są czasochłonne, mniej czułe od metod molekularnych, zależne od warunków transportu badanych próbek. Ważne jest, aby pobrany materiał w podłożu transportowym był przechowywany w temp. od 2°C do 4°C do 24 godzin. Jednak ich duża swoistość powoduje, że są niezbędne w określonych przypadkach jako metody z wyboru do weryfikacji wyników, uzyskanych po zastosowaniu innych metod.

WYKRYWANIE ANTYGENÓW *C. TRACHOMATIS*

Obecność antygeny *C. trachomatis* można wykazać bezpośrednio w badanym materiale (wymaz z szyjki macicy, cewki moczowej) za pomocą swoistych przeciwciał. Detekcja powstałych kompleksów opiera się na reakcji enzymatycznej lub fluorescencji. Czulość testów wykrywających antygen (EIA - *enzyme immunoassay*, DIF - *direct immunofluorescence*) jest niska od 70% do 80%, natomiast swoistość wysoka od 96% do 100% (3).

Szybką diagnostykę zakażenia umożliwia odczyn DIF z zastosowaniem przeciwciał monoklonalnych znakowanych izotiocyanianem fluoresceiny skierowanych przeciw antygenom *C. trachomatis*. Umożliwia ona wykrycie ciałek elementarnych *C. trachomatis* (serotypów D-K), przyjmując za wynik dodatni obecność przynajmniej 10 fluoryzujących ciałek w całym preparacie. Zaletą metody jest możliwość oceny jakości pobranego do badań materiału. Ze względu na wewnątrzkomórkowe pasożytnictwo *C. trachomatis*, konieczna jest obecność komórek nabłonka w wymazach z cewki moczowej pobranych u mężczyzn oraz w wymazach z szyjki macicy u kobiet. Uzyskanie wartościowego materiału wymaga starannego pobrania – po usunięciu nadmiaru śluzu za pomocą jałowych, dakronowych wymazówek, ruchem obrotowym pobiera się materiał bogaty w komórki nabłonka.

Zakażenie rozwijające się w kanale szyjki macicy podlega zmianom związanym z cyklem miesięcznym, największe znaczenie diagnostyczne mają wymazy pobrane w drugiej części cyklu miesięczkowego.

Metoda EIA stosowana jest do badań wymazów z kanału szyjki macicy i cewki moczowej. Wykrywanym antygenem jest LPS (lipopolisacharyd) *C. trachomatis*, fałszywie dodatnie wyniki mogą być spowodowane obecnością w badanym materiale innych Gram-ujemnych bakterii.

METODY GENETYCZNE AMPLIFIKACJI KWASU NUKLEINOWEGO

Ważną rolę w diagnostyce zakażeń *C. trachomatis* pełnią techniki amplifikacji kwasu nukleinowego, które cechują się wysoką czułością. Dodatkową zaletą tej grupy metod (NAAT) jest możliwość jednoczesnego oznaczania w tej samej próbce obecności *C. trachomatis* jak i *Neisseria gonorrhoeae* (18,20,21). Wszystkie testy amplifikacyjne napotykają jednak na problem obecności w materiałach klinicznych inhibitorów amplifikacji.

DNA *C. trachomatis* jest wykrywane za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (*polymerase chain reaction* – PCR) lub reakcji łańcuchowej ligazy (*ligase chain reaction* – LCR) (21). Metody te polegają na amplifikacji określonej sekwencji plazmidowego DNA, niewykazującego homologii z innymi mikroorganizmami. Komercyjny test oparty na technice PCR, stosowany do wykrywania *C. trachomatis*, składa się z etapu amplifikacji z biotynylowanymi primerami dla DNA plazmidu o wielkości około 7 000 par zasad, wspólnego dla wszystkich serotypów *C. trachomatis*. Po amplifikacji następuje denaturacja do pojedynczych nici DNA, które są przenoszone do dołków płytki opłaszczonych sondami oligonukleotydowymi swoistymi dla docelowego DNA *C. trachomatis*. Dodany koniugat peroksydazy chrzanowej z awidyną wiąże się z amplikonem znakowanym biotyną, połączonym z sondą związaną z płytką. Do dołków dodaje się substrat dla peroksydazy chrzanowej, w wyniku czego powstaje reakcja barwna. W teście uwzględniona została kontrola wewnętrzna, umożliwiająca identyfikację próbek, zawierających inhibitory amplifikacji.

W metodzie LCR stosuje się dwie pary primerów i termostabilną ligazę, podobnie jak w PCR również wykrywane są sekwencje plazmidu DNA *C. trachomatis* (21). W technice LCR do zwielokrotnienia kopii fragmentu DNA dochodzi poprzez cyklicznie powtarzające się etapy: denaturacji DNA, hybrydyzacji dwóch par primerów do matrycy i ligacji. Amplifikacji podlegają dwa zligowane produkty powstałe w pierwszym cyklu, co podnosi czułość testu.

Do grupy testów laboratoryjnych wykrywających obecność DNA *C. trachomatis* została wprowadzona metoda oparta na reakcji łańcuchowej polimerazy z analizą w czasie rzeczywistym (*real-time PCR*) (22). Metoda ta wymaga stosowania specjalnych termocyklerów sprzężonych ze spektrofлуorymetrem, umożliwiających pomiar fluorescencji w czasie toczącej się reakcji PCR. Wykorzystuje się dwa primery, oraz dwie sondy komplementarne do blisko położonych względem siebie sekwencji genomu *C. trachomatis*, przy czym jedna jest znakowana fluorochromem związanym z końcem 3' a druga wyznakowana inną cząsteczką fluorochromu wiąże się z końcem 5'. Mierzona jest fluorescencja pochodząca z fluorochromu 5' wzbudzona przez sygnał zależny od fluorochromu 3'. W teście zastosowano standard z określoną ilością kopii DNA, wyznaczona wartość progowa fluorescencji zostaje osiągnięta po liczbie cykli zależnej od ilości wyjściowej amplifikowanej sekwencji, co umożliwia pomiar ilościowy. W procedurze wykonania testu uwzględniono kontrolę nastawioną na detekcję inhibitorów amplifikacji.

Innym rozwiązaniem, zastosowanym w diagnostyce zakażeń *C. trachomatis*, są testy oparte na amplifikacji rybosomalnego RNA (rRNA) *C. trachomatis* poprzez transkrypcję (*transcription mediated amplification* – TMA) (18). Po amplifikacji następuje hybrydyzacja sond DNA znakowanych estrem akrydyny z amplikonem uzyskanym w TMA. Detekcja produktów hybrydyzacji wykorzystuje pomiar chemiluminescencji za pomocą luminometru.

Do grupy testów NAAT zaliczamy również odmianę reakcji łańcuchowej polimerazy – amplifikację z przesunięciem łańcucha (*strand displacement amplification* – SDA) (20). Jest to metoda w pełni zautomatyzowana, w stałej temperaturze zachodzi amplifikacja i jednoczesna detekcja DNA, podczas reakcji SDA indukowany jest sygnał fluorescencyjny proporcjonalny do ilości produktu amplifikacji. Zastosowana sonda jest znakowana dwoma różnymi fluorochromami. Zaletą tej metody jest detekcja w czasie rzeczywistym, zamknięty układ pomiarowy, gwarantujący brak kontaminacji i obecność wewnętrznej kontroli amplifikacji.

Van Dyck i wsp. (20) w swojej pracy porównali swoistość i czułość metod immunoenzymatycznych wykrywających antygen i technik NAAT (PCR, LCR, SDA) dla wymazów pobranych z szyjki macicy. Nie zaobserwowali znaczących różnic pomiędzy czułością metod PCR, SDA i LCR (98%, 94%, 90% odpowiednio). Swoistość PCR i LCR była zbliżona i wynosiła 98%, dla SDA – 100%. Swoistość EIA była równie wysoka, natomiast czułość (38,7%) znacznie niższa. *Puolakkainen* i wsp. (19) porównali czułość i swoistość PCR i LCR w badaniu różnych materiałów diagnostycznych w zakażeniu układu moczowo-płciowego. U kobiet czułość PCR i LCR dla wymazów z szyjki macicy wynosiła 78,6% i 81,5% odpowiednio; dla badanych próbek moczu 96,4% (PCR) i 92,6% (LCR). U mężczyzn dla wymazów z cewki moczowej czułość PCR i LCR wynosiła 100%, natomiast dla próbek moczu 95,9% (PCR) i 93,8% (LCR). Swoistość porównywanych metod była wysoka i wynosiła od 98,8% do 100%.

MOLEKULARNE TECHNIKI HYBRYDYZACYJNE

W diagnostyce zakażeń *C. trachomatis* znalazł zastosowanie test hybrydizacyjny Hybrid Capture II. Zaletą testu jest możliwość badania tej samej próbki w kierunku *C. trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* i HPV. Test oparty jest na hybrydizacji badanego DNA z komplementarnymi sondami RNA, hybrydy wykrywa się konjugatem znakowanym alkaliczną fosfatazą reagującą z chemiluminescencyjnym substratem. Metoda jest zalecana do badań przesiewowych w populacji o niskiej częstotliwości zakażeń (23). W porównaniu z metodą hodowli ma ona bardzo wysoką czułość (94,8%) przy równie wysokiej swoistości - 99,8% (23).

Odmianą technik hybrydizacyjnych jest hybrydizacja *in situ*. DNA patogenów wykrywa się bezpośrednio w utrwalonych skrawkach tkankowych i rozmazach cytologicznych. Poszukiwane DNA hybryduje z sondami molekularnymi wyznakowanymi izotopowo lub fluorochromami.

Stosując testy oparte na amplifikacji kwasów nukleinowych należy pamiętać o możliwości uzyskania wyników fałszywie dodatnich bądź ujemnych, będących efektem nieprzestrzegania zasad pobierania, transportu i przechowywania materiałów biologicznych do badań (24).

Zaletą wielu obecnie stosowanych testów w kierunku *C. trachomatis* jest możliwość wykorzystania do badań początkowego strumienia moczu (20). U kobiet mocz oraz wymazy pochwowe mogą także służyć do wykrycia chlamydialnego zapalenia szyjki macicy, ponieważ zainfekowane komórki nabłonkowe przemieszczające się przez pochwę, splukane strumieniem moczu pozwalają na uzyskanie wyniku dodatniego w przypadku chlamydialnego zapalenia szyjki macicy. Materiały pobierane metodami nieinwazyjnymi, bez badania ginekologicznego są akceptowane przez pacjentów i ich partnerów seksualnych, co ułatwia planowanie i realizację badań przesiewowych.

D Friedek, A Ekiel, G Martirosian

CHLAMYDIA TRACHOMATIS: ETIOPATHOGENESIS AND DIAGNOSIS INFECTION

SUMMARY

Infection of genito-urinary tract, caused by *C. trachomatis* are common worldwide. In countries, where screening diagnosis and effective treatment programmes were introduced decreasing level of infections and their complications were described. Because *C. trachomatis* is an obligate intracellular bacterium, very often infections are asymptomatic, although complications of symptomatic and asymptomatic infections are the same. Classically diagnosis of *C. trachomatis* infection is made based on culture in Mc Coy cells. *C. trachomatis* antigen is detected by DIF and EIA. Amplification technique play very important role in diagnosis of *C. trachomatis* infection. In this article we analysed laboratory diagnostic tools of urogenital chlamydiosis based on literature data and own experiences.

PIŚMIENNICTWO

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Chlamydia screening among sexually active young female enrollees of health plans – United States, 1999-2001. *Morb Mortal Wkly Rep* 2004;53(42):983-5.
2. Friedek D, Ekiel A, Chelmiecki Z, i in. Zakażenia wirusem brodawczaka ludzkiego, *Chlamydia trachomatis* i mykoplazmami urogenitalnymi w dysplazji małego stopnia nabłonka szyjki macicy. *Ginekol Pol* 2004;75(6):457-63.
3. Screening for chlamydial infection. U.S Preventive Services Task Force. Recommendations and rationale. *Am J Prev Med* 2001;20(Suppl 3):90-94.
4. Miller WC, Ford CA, Morris M, i in. Prevalence of chlamydial and gonococcal infections among young adults in the United States. *JAMA* 2004;291(18):2229-36.
5. Egger M, Low N, Smith GD, i in. Screening for chlamydial infections and the risk of ectopic pregnancy in a county in Sweden: ecological analysis. *BMJ* 1998 ;316(7147):1776-80.
6. Zbroch T, Knapp P, Błońska E, i in. Wpływ zakażenia *Chlamydia trachomatis* i bacterial vaginosis oraz stylu życia na występowanie zmian szyjki macicy. *Ginekol Pol* 2004;75(7):538-44.
7. Choroszy-Król I, Ruczkowska J, Kowal A, i in. Wykrywanie *Chlamydia trachomatis* w próbkach moczu za pomocą ligazowej reakcji łańcuchowej (LCR). *Adv Clin Exp Med* 2000; 9:245-50.
8. Sedlecki K, Markovic M, Rajic G. Risk factors for Chlamydia infections of the genital organs in adolescent females. *Srp Arh Celok Lek* 2001;129(7-8):169-74.
9. Bavastrelli M, Midulla M, Rossi D, i in. Sexually active adolescents and young adults: a high-risk group for *Chlamydia trachomatis* infection. *J Travel Med* 1998;5(2):57-60.
10. Kese D, Maticic M, Potocnik M. *Chlamydia trachomatis* infections in heterosexuals attending sexually transmitted disease clinics in Slovenia. *Clin Microbiol Infect* 2005;11(3):240-2.
11. LaMontagne DS, Fenton KA, Randall S, i in. Establishing the National Chlamydia Screening Programme in England: results from the first full year of screening. *Sex Transm Infect* 2004;80(5):335-41.
12. Radowicki S., Tyc M., Dowgiałło-Smolarczyk J. Zakażenia *Chlamydia trachomatis* u kobiet leczonych z powodu niepłodności. *Ginekol Pol* 1992;63(6):288-90.
13. Luo M, Zhang L, Xlao Y. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Ureaplasma urealyticum* cervical infection in infertility women and the observation of therapeutic efficacy. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 1998;23(5): 444-6.

14. Friedek D, Ekiel A, Romanik M, i in. *Chlamydia trachomatis* infection in women with infertility. *Pol J Environ Stud* 2005;14(suppl II):89-91.
15. Tamim H, Finan RR, Sharida HE, i in. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002;43(4):277-81.
16. Anttila T, Saikku P, Koskela P, i in. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA* 2001;285(1):47-51.
17. Smith JS, Munoz N, Herrero R, i in. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002;185(3):324-31.
18. Martin DH, Nsuami M, Schachter J, i in. Use of multiple nucleic acid amplification tests to define the infected-patient „gold standard” in clinical trials of new diagnostic tests for *Chlamydia trachomatis* infections. *J Clin Microbiol* 2004;42(10):4749-58.
19. Puolakkainen M, Hiltunen-Back E, Reunala T, i in. Comparison of performances of two commercially available tests, a PCR assay and a ligase chain reaction test, in detection of urogenital *Chlamydia trachomatis* infection. *J Clin Microbiol* 1998;36(6):1489-93.
20. Van Dyck E, Ieven M, Pattyn S, i in. Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by enzyme immunoassay, culture, and three nucleic acid amplification tests. *J Clin Microbiol* 2001;39(5):1751-6.
21. Carroll KC, Aldeen WE, Morrison M, i in. Evaluation of the Abbott LCx ligase chain reaction assay for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine and genital swab specimens from a sexually transmitted disease clinic population. *J Clin Microbiol* 1998;36(6):1630-3.
22. Storm M, Gustafsson I, Herrmann B, i in. Real-time PCR for pharmacodynamic studies of *Chlamydia trachomatis*. *J Microbiol Methods* 2005;61(3):361-7.
23. Darwin LH, Cullen AP, Arthur PM, i in. Comparison of Digene hybrid capture 2 and conventional culture for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in cervical specimens. *J Clin Microbiol* 2002;40(2):641-4.
24. Kamińska A, Dąbrowska J. Falszywie dodatnie i fałszywie ujemne wyniki reakcji opartych na amplifikacji kwasów nukleinowych w diagnostyce zakażeń. Przyczyny i implikacje diagnostyczne. *Przeegl Epidemiol* 2004;58(2):343-9.

Otrzymano: 12.05.2005 r.

Adres autorek:

Daniela Friedek
Katedra i Zakład Mikrobiologii Śląskiej Akademii Medycznej
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice
tel. (0-32) 208 85 52, fax (0-32) 252 60 75
e-mail: dfriedek@slam.katowice.pl