

# Infección por *Chlamydia Trachomatis* en Pacientes con Neoplasia Intracervical

Dres.: Clara Inés de Vargas\*, Reinaldo Heredia Caicedo,\*\*  
Elizabeth Castañeda\*\*\*

## INTRODUCCION

De acuerdo con el Centro para Control de Enfermedades (CDC) de Atlanta, la infección por *Chlamydia trachomatis* es reconocida en Estados Unidos como la más prevalente y una de las más lesivas de todas las enfermedades de transmisión sexual (1). En la mujer afecta principalmente el endocervix, con frecuencia de manera asintomática; el diagnóstico oportuno es importante debido a que la primera manifestación del padecimiento puede ser una enfermedad pélvica inflamatoria (EPI) con esterilidad subsecuente; una endometritis postparto, o infección del recién nacido manifestada como conjuntivitis o neumonitis (1, 3). Siguiendo la misma línea de investigación, varios estudios han relatado una mayor prevalencia de infección por *C. trachomatis* y de anticuerpos anti-*Chlamydia* cuando existió algún grado de displasia (4, 10).

Conocemos, por un estudio realizado por nosotros en pacientes ginecológicas sintomáticas y asintomáticas, utilizando como método diagnóstico el cultivo en célula McCoy, que la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* es de 25% y 21% respectivamente (11), considerándose también entre nosotros como una de las más importantes enfermedades de transmisión sexual pero sin conocer sus efectos lesivos posteriores.

El cultivo en células es reconocido como el mejor método de diagnóstico, pero debido a su cos-

to, tiempo requerido para su procesamiento y especialización necesaria, sólo se halla a disposición en laboratorios de referencia (1). Los otros métodos utilizados para la detección de *C. trachomatis* son la citología, técnica que ha sido cuestionada en la investigación ginecológica por su poca sensibilidad (12, 13); los anticuerpos monoclonales aplicados en técnicas de inmunofluorescencia directa (IFD), de gran utilidad y adecuada sensibilidad y especificidad (14, 21) y la del inmunoensayo enzimático (ELISA) que tiene una confiabilidad similar a la anterior (22, 30).

Con base en estas observaciones decidimos estudiar un grupo de pacientes con atipias severas o con algún grado de neoplasia intraepitelial cervical (NIC), considerado un grupo de alto riesgo de infección, con el propósito de determinar en él la prevalencia de cervicitis por *C. trachomatis*; el incremento de la positividad diagnóstica que pudiera ofrecer una muestra adicional de uretra (27) y la sensibilidad, especificidad y valores predictivos de los métodos comerciales para demostrar antígeno.

Encontramos una alta prevalencia de cervicitis por *C. trachomatis* en el grupo en estudio (47.5%), así como un incremento en la positividad diagnóstica con una muestra de uretra. La eficiencia de las técnicas diagnósticas fue del 70% para la prueba de IFD y del 65% para la prueba de ELISA.

## MATERIALES Y METODOS

**Pacientes:** El estudio se realizó durante los meses de febrero a octubre de 1988 en pacientes que, habiendo acudido a consulta ginecológica a la Clínica de la Caja Nacional en Bogotá, se les había encontrado en una citología reciente, tomada en

\* Bacterióloga, Grupo de Microbiología, Instituto Nacional de Salud.

\*\* Ginecólogo, Obstetra Jefe Servicio Ginecología y Obstetricia, Caja Nacional de Previsión, Clínica Santa Rosa.

\*\*\* Ph. D. Jefe Grupo de Microbiología Instituto Nacional de Salud

los tres meses precedentes, una atipia severa o algún grado de NIC (I, II, III) (31).

A cada una de las pacientes se le elaboró una historia en la cual se consignaron los siguientes datos: edad, gestaciones, edad de la primera relación, número de compañeros sexuales y método de planificación: DIU, anovulatorios u otros. Como datos clínicos se anotaron: disuria, leucorrea y el aspecto del flujo: mucoso, grumoso, grisáceo o espumoso. Al examen del cervix se anotó si existía ectopia, sangrado, quistes de Naboth, erosión o secreción purulenta.

El diagnóstico definitivo de atipia severa y NIC después de las biopsias realizadas en 103 (87%) de las 118 pacientes, fue consignado en la historia para la correlación final.

*Toma de muestras:* A cada paciente se le tomaron tres muestras del cuello uterino para diagnóstico de *C. trachomatis*; la primera muestra con escobillón de algodón en base aluminio para el cultivo; este se colocó en medio de transporte RPMI (Sigma) adicionado de suero fetal bovino y antibióticos (32). La segunda muestra se tomó con un escobillón igual al anterior y se hizo el extendido en una lámina para la inmunofluorescencia. La tercera muestra se tomó con el escobillón de algodón con base de plástico del estuche Chlamydiazyme (Abbott, Chicago, Illinois E.U.), el cual se colocó en el medio de transporte suministrado por la casa comercial.

Una muestra adicional de uretra (27) se tomó con escobillón adecuado depositándolo luego en el medio de transporte para cultivo descrito anteriormente.

#### Estudios bacteriológicos e inmunológicos:

1. *Cultivo en células McCoy.* El medio de transporte con los escobillones fue almacenado a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de inocular las células. Se emplearon células McCoy en microplacas de 96 cavidades con fondo plano (COSTAR); después de inoculadas fueron incubadas a  $37^{\circ}\text{C}$  por 48 horas en una atmósfera de 5-7%  $\text{CO}_2$ . La presencia de inclusiones citoplasmáticas se detectó con la coloración de yodo (32, 33).
2. *Inmunofluorescencia.* La prueba de inmunofluorescencia directa se realizó empleando los anticuerpos monoclonales Microtrak de la ca-

sa Syva (Palo Alto, California E.U.). Los extendidos fueron fijados con acetona y almacenados a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su procesamiento. El procedimiento, lectura e interpretación de los resultados se hicieron de acuerdo con las instrucciones que acompañan el estuche de la casa comercial. Se consideraron como inadecuados los extendidos en los que no se observaron células epiteliales columnares.

3. *Ensayo inmunoenzimático (ELISA).* Se empleó Chlamydiazyme (Abbott). El medio de transporte con la muestra fue almacenado a  $4^{\circ}\text{C}$  (por un período no mayor de 7 días) hasta el momento de procesarla. El procedimiento y la interpretación de los resultados se hicieron siguiendo las instrucciones que acompañan el estuche de la casa comercial.

Las determinaciones de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos y eficiencia de las pruebas diagnósticas fueron hechas de acuerdo con lo descrito por Kazim (34).

*Tratamiento:* Cuando por algún método se detectó positividad de *C. trachomatis* se procedió a administrar a la paciente uno de los dos regímenes de tratamiento recomendados como primera elección por el CDC (1) a saber: doxiciclina 100 mg dos veces al día durante 7 días, con igual dosificación para el compañero sexual (1). La escogencia de este medicamento obedeció a su mayor comodidad terapéutica, comparado con la tetraciclina.

#### RESULTADOS

*Datos generales de los pacientes:* Estudiamos un grupo de 118 mujeres con edades comprendidas entre 21 y 65 años, con un predominio del grupo de 31 a 40 años (57 pacientes, 48%).

Con relación a la paridad, 63 pacientes (54%) fueron primíparas o grávida dos, 70 (59%) tuvieron su primera relación sexual después de los 20 años y 21 de ellas (18%) relataron que habían tenido más de un compañero sexual.

En cuanto a los métodos anticonceptivos utilizados por el grupo de pacientes estudiadas, se evidenció que 60 (51%) planificaban, siendo el método más usado el DIU en 34 pacientes (57%), seguido por anovulatorios en 13 (22%), Pomeroy en 8 (13%), óvulos en 4 (7%) y preservativos en una paciente (2%).

El número de pacientes agrupadas en relación con los hallazgos citológicos e histopatológicos fue: 50 (42%) con atipias severas, 41 (35%) con NIC I, 20 (17%) con NIC II, y 7 (6%) con NIC III.

**Datos clínicos:** La disuria fue relatada en 40 pacientes (34%) y la presencia de leucorrea en 77 pacientes (65%); ésta tuvo aspecto mucoso en 48 (62%), grumoso en 13 (17%) y grisáceo en 4 (5%), no se observó leucorrea espumosa y no se detectó leucorrea en 12 de las pacientes que la relacionaron. En 86 pacientes, de las 118 estudiadas (73%), se evidenció algún signo clínico de cervicitis.

### Hallazgos del laboratorio y correlación con los datos clínicos:

De las 118 pacientes estudiadas, 56 (47%) se diagnosticaron como positivas para *C. trachomatis* empleando la técnica del cultivo celular. Como se expresa en la Tabla No. 1 el mayor hallazgo (71%) de infección por *C. trachomatis* se encontró en el cervix. De las 16 pacientes con *C. trachomatis* en la uretra, 4 (25%) tenían síntomas. La presencia de *C. trachomatis* fue proporcional en los diferentes grupos etarios y de paridad, y no se encontró una relación entre el inicio temprano de las relaciones sexuales, con una mayor frecuencia de infección. De las 21 pacientes que relataron haber tenido más de un compañero sexual, en 5 (24%) se aisló *C. trachomatis*.

TABLA 1

#### LOCALIZACION DE LA *C. TRACHOMATIS* EN LAS 56 PACIENTES CON CULTIVO POSITIVO

LOCALIZACION	POSITIVAS	<i>C. TRACHOMATIS</i>
	Nº	
CERVIX	40	71
URETRA	10	18
CERVIX Y URETRA	6	11
<b>TOTAL POSITIVAS</b>	<b>56</b>	<b>100</b>

De las 34 pacientes que planificaban con DIU, 13 (38%) presentaron infección por *C. trachomatis*. Igualmente, 6 (46%) de las pacientes que tomaban anovulatorios, 4 de 8 (50%) con Pomeroy y el total (100%) de las pacientes que planificaban con óvulos

o con preservativos. En las 58 pacientes que no planificaban, la prevalencia de infección fue de 47%.

En la Tabla No. 2 se anotaron las características de la leucorrea y su relación con el hallazgo de *C. trachomatis*.

TABLA 2

#### CARACTERISTICAS DE LA LEUCORREA Y SU RELACION CON EL HALLAZGO DE *C. TRACHOMATIS*

TIPO	NUMERO PACIENTES	PACIENTES INFECTADAS Nº %
MUCOSA	48	27 (56)
GRUMOSA	13	7 (54)
GRISACEA	4	0
SIN LEUCORREA	53	22 (42)
<b>TOTAL</b>	<b>118</b>	<b>56</b>

En la Tabla No. 3 está consignada la relación entre los hallazgos citológicos y los hallazgos del laboratorio.

TABLA 3

#### HALLAZGOS CITOLOGICOS RELACIONADOS CON LA PRESENCIA DE *C. TRACHOMATIS* EN CERVIX

CITOLOGIA	NUMERO PACIENTES	PACIENTES INECTADAS Nº (%)
ATIPIAS SEVERAS	50	21 (42)
NIC I	41	12 (29)
NIC II	20	10 (50)
NIC III	7	3 (43)
<b>TOTAL</b>	<b>118</b>	<b>46</b>

El diagnóstico de cervicitis se basó en dos criterios: uno clínico y el otro histopatológico. De las 118 pacientes estudiadas 86 (73%) tenían cervicitis clínica y de ellas 33 (38%) fueron positivas por la técnica del cultivo para *C. trachomatis*. De las 32 (27%) pacientes sin cervicitis, 13 (41%) presentaron infección.

De las 103 pacientes estudiadas por biopsia, 71 (69%) presentaron cervicitis y de ellas 24 (34%) es-

taban infectadas, lo mismo que 12 (38%) de las que no se les diagnosticó cervicitis por histopatología.

De las 103 pacientes que fueron estudiadas por ambos criterios 52 (50%) revelaron inflamación del cervix y de ellas 17 (33%) fueron positivas al cultivo de *C. trachomatis*. En 11 de las 103 (11%) no fue diagnosticada la cervicitis y sin embargo 4 de ellas (36%) estaban infectadas.

De las 71 pacientes con diagnóstico de cervicitis por biopsia 23 (32%) tuvieron coilocitos y 2 (9%) de ellas fueron positivas para *C. trachomatis*.

Los hallazgos clínicos indicadores de cervicitis: ectopia, sangrado y erosión, ocurrieron en un porcentaje similar en las pacientes en las cuales se aisló la *C. trachomatis*. En ninguna de ellas se observó secreción purulenta.

*Comparación de las técnicas de diagnóstico:* En la Tabla 4 se presentan los datos de la comparación de las diferentes técnicas empleadas para el diagnóstico por el laboratorio.

TABLA 4

**SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, VALORES PREDICTIVOS POSITIVOS Y NEGATIVOS Y EFICIENCIAS DE LAS PRUEBAS DIAGNOSTICO (IFD, ELISA) EN LA MUESTRA CERVICAL COMPARANDOLAS CON EL CULTIVO**

METODO	+	/ TOTAL	SENSIBILIDAD	ESPECIFICIDAD	VPP	VPN	EP
CULTIVO	36	/ 108					
IFD	25	/ 108	39 (4/36)	85 (61 / 72)	56 (4/25)	74 (61/83)	70 (75/108)
CULTIVO	46	/ 118					
ELISA	10	/ 118	15 (7/46)	96 (69 / 72)	70 (7/10)	64 (69/108)	65 (76 / 118)

### DISCUSION

Encontramos que la prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en el grupo estudiado fue muy alta; hecho esperado ya que se trataba de un grupo considerado de alto riesgo de infección (4, 10). En los estudios que relatan haber hallado una mayor prevalencia de este microorganismo cuando existe algún grado de displasia, los resultados han sido disímiles, quizás porque las técnicas empleadas también fueron diversas. En uno de los trabajos iniciales (4) se determinó la infección detectando anti-

cuerpos anti-*Chlamydia* por fijación de complemento e inmunofluorescencia directa; la positividad encontrada fue de 21.5% y del 77.6% respectivamente. Un estudio posterior informó positividad de anticuerpos en un 76.5% de pacientes con NIC (5). En nuestro trabajo no determinamos la presencia de anticuerpos, observación que debemos hacer en un futuro, para este grupo y para la población femenina en general, ya que desconocemos los niveles de anticuerpos en ella. En estudios posteriores (6, 7) se han encontrado anticuerpos en 56% y 81%; cuando se empleó la técnica de cultivo para determinar la infección, se encontró en un 16% (6) y en un 25% (7).

Del total de pacientes estudiadas para *C. trachomatis*, tanto en cervix como en uretra, se encontró que el mayor hallazgo estuvo en el cervix, hecho esperado ya que la selección de pacientes se hizo de acuerdo con las anomalías de la citología y no por los síntomas urinarios. Sin embargo, la muestra de uretra incrementó la positividad diagnóstica en un 18%, hecho descrito anteriormente (27, 31) y el cual deseábamos confirmar para recomendar la toma de las dos muestras, endocervical y uretral, cuando se investigue la infección por *C. trachomatis*.

Con relación a la edad de las pacientes, no pudimos establecer una diferencia entre los grupos de edad y el porcentaje de infección. El inicio temprano de las relaciones sexuales y el número de compañeros sexuales, se conoce que guardan una estrecha relación con la incidencia elevada de infección por *C. trachomatis* (1). En nuestro grupo de estudio no pudimos observar esta relación debido tal vez al pequeño número que relató su inicio temprano, o más de un compañero.

Analizando la asociación del método anticonceptivo con infección, encontramos que sólo la mitad del grupo planificaba, lo cual da como resultado grupos muy reducidos empleando cada uno de los métodos. Sin embargo, encontramos que el 46% de las pacientes que tomaban anovulatorios estaban infectadas, hecho que está de acuerdo con un informe anterior (33). La alta prevalencia de infección en el grupo no planificador (47%), también concuerda con lo descrito (1).

La leucorrea no fue un indicador de la infección por el alto número de pacientes infectadas en las cuales no se detectó. El hallazgo de leucorrea mucosa fue el que tuvo una mayor asociación con

infección por *C. trachomatis*, hecho esperado puesto que este tipo de secreciones es característica de la endocervicitis.

Hallamos una alta prevalencia de infección por *C. trachomatis* en el cervix de las pacientes con atipias severas o algún grado de NIC empleando la técnica de cultivo de células McCoy pero no hubo diferencia en este hallazgo comparando los dos grupos. No puede, sin embargo, afirmarse que existe una relación causal entre el hallazgo de *C. trachomatis* y el NIC, sino que tal vez sea ésta una manifestación de las costumbres sexuales de los pacientes o de sus compañeros, ya que al tiempo con este patógeno se han encontrado otros de transmisión sexual tales como citomegalovirus, herpes y papilomavirus (8-10). En nuestro estudio no se analizaron estos otros microorganismos, pero en 32% de las pacientes con cervicitis, se halló coilocitosis en la citología o la biopsia, demostrándose con ello una alta prevalencia de infección por papilomavirus (37). Se ha informado que la infección por *C. trachomatis* puede tener manifestaciones más o menos características en el tipo histológico de cervicitis como en el hallazgo citológico (6, 7, 9, 10) pero estas consideraciones no fueron analizadas en nuestro trabajo.

Al haber tan estrecha correlación entre el diagnóstico clínico y el histopatológico, que confirma la cervicitis, el primero de ellos puede ser considerado como criterio diagnóstico suficiente. Es importante destacar que nuestros datos indican que no siempre que existe la infección por *C. trachomatis* en el cuello hay evidencia clínica o histopatológica de cervicitis, observación que ya habíamos señalado en un trabajo anterior (11) y que amerita el conocimiento de esta patología, sus métodos diagnóstico y su terapéutica.

En este grupo de pacientes no encontramos ningún hallazgo clínico que fuera sugestivo de la infección por *C. trachomatis*, contrariamente a la observación hecha en el grupo de pacientes sintomáticas y asintomáticas estudiadas anteriormente por nosotros, en donde el sangrado al tomar la muestra constituyó una orientación para el clínico (11).

El tercer objetivo de nuestro trabajo era el determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos y efectividad de las dos pruebas para el diagnóstico que están a disposición del laboratorio para detectar la presencia de antígeno de *C. trachomatis*, empleando como prueba estándar el cultivo

en células. No obstante la alta prevalencia de infección en el grupo estudiado, dato que sabemos influye en los parámetros que deseamos determinar, nuestros resultados revelaron valores muy bajos si los comparamos con otros descritos en la literatura (15-30).

En nuestra experiencia con la IFD, a pesar de rechazar algunos extendidos por no tener el número de células columnares apropiadas, la correlación con el cultivo fue baja. Anotamos el uso de la acetona como fijador, la cual en los nuevos estuches ha sido reemplazada por el metanol y la evaluación de este cambio ha demostrado un incremento de la sensibilidad (35,36). De la misma manera, desde hace un par de años, la casa comercial Syva introdujo en el mercado el uso del cepillo citológico (Cytobrush) para la toma de muestras endocervicales en mujeres no embarazadas y este procedimiento ha mejorado la calidad de la muestra. Estos dos procedimientos los estamos realizando con un reciente grupo de estudio y hemos observado una mejor sensibilidad de la prueba de inmunofluorescencia.

Con relación a la prueba de ELISA, no obstante los numerosos informes de la literatura en los que describen su alta sensibilidad, especificidad y valores predictivos que permiten emplearla como una prueba diagnóstica confiable sobre todo en poblaciones de alta prevalencia de infección (26-29), nuestros datos están en desacuerdo. Tratando de establecer las causas de este desacuerdo, encontramos que la fecha de vencimiento del estuche se cumplió durante el año que realizamos la toma de la muestra y a pesar de obtener los resultados adecuados con los controles esta fue tal vez la variante que influyó en la baja sensibilidad de la prueba. En el reciente grupo en estudio mencionado anteriormente estamos observando una mejor correlación del ELISA con el cultivo.

Con nuestro estudio demostramos la alta prevalencia de la infección por *C. trachomatis* en mujeres con atipias severas o algún grado de NIC, hecho que nos lleva a sugerir la investigación de este agente en todas las pacientes con los cambios citológicos mencionados, con el fin de efectuar el tratamiento específico como parte fundamental del manejo médico o quirúrgico de su patología cervical.

#### RESUMEN

Con el propósito de conocer la prevalencia de la infección endocervical por *Chlamydia trachoma-*

tis en un grupo considerado de alto riesgo, estudiamos 118 pacientes con atipias severas o algún grado de neoplasia intraepitelial cervical (NIC). Empleando la técnica del cultivo en células McCoy pudimos determinar la infección cervical en 56 de ellas (47 %). De los datos paraclínicos el hallazgo de atipias severas en una citología rutinaria, aún con el cervix aparentemente normal, fue el que más correlacionó con la presencia de infección por *C. trachomatis*. Una muestra adicional de uretra sirvió para mejorar la positividad diagnóstica en un 18%. Se analizaron comparativamente los tres métodos para demostrar antígeno con los que cuenta el laboratorio: aislamiento, inmunofluorescencia directa y el ensayo in-

munoenzimático encontrándose una eficiencia del 70 % y 65% de los dos últimos exámenes comparados con el aislamiento.

#### AGRADECIMIENTOS

A los doctores Hugo Nossa y Nelly Rangel la Caja Nacional de Previsión por la remisión de los pacientes y a la enfermera auxiliar Nancy de Bernal por su excelente colaboración en la toma de las muestras. Al doctor Gerzaín Rodríguez y al estadístico José Parra por sus comentarios al revisar el manuscrito.

#### BIBLIOGRAFIA

- Center for disease control. *Chlamydia trachomatis* infections: policy guidelines for prevention and control. MMWR 1985; 34 (Suppl): 53S - 74S.
- SCHACHTER J. Chlamydial infections (3 parts). N Engl J. Med 1978; 298: 428 - 435, 490 - 495, 540 - 549.
- SCHACHTER J.; HANNA L.; HILL EC.; MASSAD S.; SHEPPARD CW.; CONTE JE.; COHEN SN.; MEYER KF. Are Chlamydial infections the most prevalent venereal disease? JAMA 1975; 231: 1252 - 1255.
- SCHACHTER J.; HILL E, et al. Chlamydial infection in women with cervical dysplasia. Am J Obstet Gynecol 1975; 123: 753 - 757.
- SCHACHTER J.; HILL E, et al. *Chlamydia trachomatis* and cervical neoplasia. JAMA 1982; 248: 2134 - 2138.
- PAAVONEN J.; VESTERINEN E.; MEYER B, et al. Genital *Chlamydia trachomatis* infections in patients with cervical atypia. Obstet Gynecol 1979; 54: 289 - 291.
- PAAVONEN J.; VESTERINEN E.; MEYER B.; SAKSELA E. Colposcopic and histologic findings in cervical chlamydial infections. Obstet. Gynecol 1982; 59: 712 - 715.
- ALLERDING T.; JORDAN S.; BOARDMAN R. Association of human Papillomavirus and *Chlamydia* infections with incidence cervical neoplasia. Acta Cytol. 1985; 29: 653 - 660.
- KIVIAT N.B.; PAAVONEN JA.; BROACKWAY J.; CRITCHLOW CW.; BRUNHAM R.C.; STEVENS CE.; STAMM WE.; KUO CC.; DEROVEN T.; HOLMES KK. Cytologic manifestations of cervical and vaginal infections. I. Epithelial and inflammatory cellular changes. JAMA 1985; 253: 989 - 996.
- KIVIAT N.B.; PETERSON M.; KINNEY THOMAS E.; TAM M.; STAMM W.E.; HOLMES K.K. Cytologic manifestation of cervical and vaginal infections. II Confirmation of *Chlamydia trachomatis* infections by direct immunofluorescence using monoclonal antibodies. JAMA 1985. 253: 997-1.000.
- HEREDIA CR.; VARGAS CL.; CASTAÑEDA E. Prevalencia de los agentes etiológicos de la vaginitis y la cervicitis en pacientes de consulta ginecológica general. 1989. Enviado para publicación.
- ROOUNGPISUTHIPONG A.; GRIMES D.; HADGU A. Is the Papanicolaou smear useful for diagnosing sexually transmitted diseases? Obstet Gynecol 1989; 69: 820 - 824.
- FORSTER G.E.; COOKEY I. et al. Investigations into the value of Papanicolaou stained cervical smears for the diagnosis of chlamydial cervical infections. J. Clin Pathol 1985; 38: 399-402
- STEPHENS R.S.; TAM M.R.; KUO C.C.; NOWINSKY R.C., Monoclonal antibodies to *Chlamydia trachomatis*: antibody specificities and antigen characterization. J. Immunol 1982; 128: 1083 - 1089.
- TAM M.R.; STAMM W.E.; HANDSFIELD H.H.; STEPHENS R. KUO C.C.; HOLMES, K.K.; DITZENBERGER, B.A.; KRIGER M.; NOWINSKI, R.C. Culture independent diagnosis of *Chlamydia trachomatis* using monoclonal antibodies. N. Engl. J. Med. 1984. 310: 1146-1150.
- THOMAS B.J.; EVANS R.T.; HAWKINS D.A.; TAYLOR ROBINSON D. Sensitivity of detecting *Chlamydia trachomatis* elementary bodies in smears by use of a fluorescein labelled monoclonal antibody: comparison with conventional chlamydial isolation. J Clin Pathol 1984; 37: 812 - 816.
- UYEDA C.T.; WELBORN P.; ELLISON - BIRANG N.; SHUNK K.; TSAOUSE B. Rapid Diagnosis of chlamydial infections with the Microtrak direct test. J Clin Microbiol 1984; 20: 948 - 950.
- STAMM W.E.; HARRISON H.R.; ALEXANDER E.R.; CLES LD; SPENCE M.R.; QUINN T.C. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections by direct immunofluorescence staining of genital secretions. Ann Intern Med 1984; 101: 638 - 641.

19. LIPKIN E.S.; MONCADA J.V.; SHAFER M.A.; WILSON T.; SCHACHTER. I. Comparison of monoclonal antibody staining and culture in diagnosis cervical chlamydial infections. J. Clin Microbiol 1986; 23: 114 - 117.
20. COUDRON, P.E.; DEDORKO, D.P.; DAWSON, M.S.; KAPLOWITZ, L.G.; BROOKMAN, R.R.; DALTON, H.P.; DAVIS, B.A. Detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimen test. Am. J. Clin. Pathol. 1986. 85: 89-92.
21. LINDNER L.E.; GEERLING S.; NETTUM J.A.; MILLER S.L.; ALTMAN K.H.; WECHTER S.R. Identification of *Chlamydia* in cervical smears by immunofluorescence: technic, sensitivity and specificity, J Clin Pathol 1986; 39: 180 - 185.
22. CALDWELL H.D.; SCHACHTER J. Immunoassay for detecting *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein. J Clin Microbiol 1983; 18: 539 - 545.
23. JONES M.F.; SMITH T.F.; HOUGLUM A.J.; HERRMANN J.E. Detection of *Chlamydia trachomatis* in genital specimens by the Chlamydiazyme test. J Clin Microbiol 1984; 20: 465 - 467.
24. HOWARD L.V.; COLEMAN P.F.; ENGLAND B.J.; HERRMANN J.E. Evaluation of Chlamydiazyme for the detection of genital infections caused by *Chlamydia trachomatis*. J. Clin Microbiol 1986; 23: 239 - 332.
25. TJIAM, K.H.; VAN HEIJST, BIM, VAN ZUUREN, A, WAGENVOORT JHT, VAN JOOS, T.; STOLZ, E.; MICHEL, M.F. Evaluation of an enzyme immunoassay in urogenital specimens. J. Clin. Microbiol, 1986. 23: 752-754.
26. TAYLOR ROBINSON, D.; THOMAS B.J.; OSBORN, M.F. Evaluation of enzyme immunoassay (Chlamydiazyme) for detecting *Chlamydia trachomatis* in genital tract specimens J. Clin. Pathol, 1987. 40: 194-199.
27. MUMTAZ, G.; MELLARS, B.J.; RIDGWAY, G.L.; ORIEL, J.D. Enzyme immunoassay for the detection of *Chlamydia trachomatis* and endocervical swabs. J. Clin. Pathol 1985, 38: 740-742.
28. LEVY, R.A.; WARFORD, A.L. Evaluation of the modified chlamydiazyme immunoassay for the detection of chlamydial antigen. Am. J. Clin. Pathol 1986; 86: 330-335.
29. CHERNESKY M.A.; MAHONY J.B. et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* antigens by enzyme immunoassay and immunofluorescence in genital specimens from symptomatic and asymptomatic men and women. J Infect Dis 1986; 154: 141 - 147.
30. SMITH J.W.; ROGERS R.E.; KATZ B.P.; BRICKLER J.F.; LINEBACK P.E.; VAN DER POL B.; JONES R.B. Diagnosis of Chlamydial infections in women attending antenatal and gynecologic clinics. J Clin Microbiol 1987; 25: 868 - 872.
31. KRAUS F.T. Aparato genital femenino. En: Patología de Anderson, tomo 2 J.M.; Kissame (Ed). Octava Edición. Interamericana, Buenos Aires. pp 1710 - 1823, 1986.
32. SCHACHTER J. CHLAMYDIAE (Psittacosis - Lymphogranuloma Venereum Trachoma Group) En: EH Lennette, A. Balows WJ Hausler, HJ Shadomy (eds). Manual of Clinical Microbiology, 4th Ed. American Society for Microbiology, Washington pp 856-862, 1985.
33. BIRD B.R.; FORRESTER F.T. Laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections, U.S. Department of Health and Human Services. Centers for Disease Control Atlanta, 1981.
34. KOZIN P.J.; TASCHIDJIAN C.L. Laboratory diagnosis of Candidiasis. En Candidiasis. Badey G.P. and Fainstein V. Raven Press N Y, pp.92 - 95, 1985.
35. CLES L.D.; BRUCH K.; STAMM W.E. Staining characteristics of six commercially available monoclonal immunofluorescence reagents for direct diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. J. Clin Microbiol 1988; 26: 1735 - 1737.
36. SCHACHTER, J.; MONCADA. J. et al. Monoculture methods for diagnosing chlamydial infection in patients with trachoma: a clue to the pathogenesis of the disease? J. Infect. Dis 1988; 158: 1347-1352.
37. MANDELBLATT J. Cervical cancer screening in primary care. Primary care 1989; 16: 135 - 140.