

Pregledni rad | Review paper

Uloga serologije u dijagnostici urogenitalnih klamidijskih infekcija

The role of serology in diagnostics of urogenital *Chlamydia trachomatis* infections

Ivana Puškarić, Oktavija Đaković Rode, Snježana Židovec Lepej, Tomislava Skuhala, Alemka Markotić, Višnja Škerk[†]

Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“, Zagreb

Ključne riječi:

Chlamydia trachomatis
genitalne infekcije
dijagnostika
serologija

Keywords:

Chlamydia trachomatis
genital infections
diagnostic
serology

Primljeno: 08-08-2023

Received: 08-08-2023

Prihvaćeno: 17-10-2023

Accepted: 17-10-2023

✉ Adresa za dopisivanje:

Ivana Puškarić, dr. med.
Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“,
Mirogojska 8, 10 000 Zagreb
e-pošta: ibabic.pz@gmail.com

Alternativna adresa za dopisivanje:

Izv. prof. dr. sc. Oktavija Đaković Rode
Klinika za infektivne bolesti „Dr. Fran Mihaljević“,
Mirogojska 8, 10 000 Zagreb
e-pošta: orode@bfm.hr

Sažetak

Chlamydia trachomatis je najčešći bakterijski uzročnik spolno prenosivih infekcija. Od klamidijskih spolno prenosivih (SP) infekcija razlikujemo venerični limfogranulom koji uzrokuju serovari L1-L3 te ostale urogenitalne infekcije koje uzrokuju serovari D-K. *C. trachomatis* perinatalnim putem može inficirati novorođenčad. Najveći izazov u sprječavanju infekcija uzrokovanih *C. trachomatis* jest velik broj asimptomatskih infekcija, do 70% u žena i 50% u muškaraca, što rezultira velikim potencijalom za daljnje širenje infekcije. Iako je većina infekcija koje uzrokuje *C. trachomatis* asimptomatska, u žena se može manifestirati kao uretritis, cervicitis, endometritis, zdjelična upalna bolest, kronična zdjelična bol, tubarna neplodnost, ektopična trudnoća, proktitis, konjunktivitis, reaktivni artritis, Reiterov sindrom. Kod inficiranih trudnica može doći do prijevremenog poroda i postpartalnog endometritisa. U muškaraca infekcija se manifestira kao uretritis, epididimitis, prostatitis, proktitis u homoseksualnih muškaraca, konjunktivitis, reaktivni artritis, Reiterov sindrom. Novorođenčad se zarazi prolaskom kroz inficirani porođajni kanal, a infekcija se najčešće manifestira kao konjunktivitis i pneumonija.

Dijagnoza se postavlja izravnim i neizravnim mikrobiološkim postupcima dokazivanja uzročnika. Izravne metode su: kultivacija na staničnim kulturama, detekcija antigena, hibridizacija nukleinskih kiselina i metode amplifikacije nukleinskih kiselina (engl. *nucleic acid amplification test*, NAAT) koje uključuju lančanu reakciju polimerazom (engl. *polymerase chain reaction*, PCR), lančanu reakciju ligazom (engl. *ligase chain reaction*, LCR), amplifikaciju izmjenom lanaca (engl. *strand displacement amplification*, SDA) i transkripcijom potaknutu amplifikaciju (engl. *transcription mediated amplification*, TMA). Neizravna metoda temelji se na određivanju specifičnih protutijela IgM, IgG i IgA.

Glavni uzorci za izravnu dijagnostiku jesu endocervikalni obrisak, endouretralni obrisak, obrisak rektuma, obrisak konjunktive, a za NAAT i obrisak rodnice i prvi mlaz urina.

Summary

Chlamydia trachomatis is the most common cause of bacterial sexually transmitted infections. Chlamydial sexually transmitted infections include lymphogranuloma venereum caused by serovars L1-L3 and other urogenital infections caused by serovars D-K. *C. trachomatis* can infect newborns through perinatal transmission.

The biggest challenge in prevention of Chlamydial infections is a significant proportion of asymptomatic infections, about 70% in women, and 50% in men, resulting in great potential for further infection spread. Although *C. trachomatis* infection is usually asymptomatic, in women can cause urethritis, cervicitis, endometritis, pelvic inflammatory disease, chronic pelvic pain, tubal factor infertility, ectopic pregnancy, proctitis, conjunctivitis, reactive arthritis, Reiter's syndrome, and in pregnant women also preterm labor and postpartal endometritis. In men, infection can cause urethritis, prostatitis, epididymitis, proctitis in homosexual men, conjunctivitis, reactive arthritis, Reiter's syndrome. *C. trachomatis* can be transmitted to newborns during delivery and cause health complications such as conjunctivitis and pneumonia.

Laboratory diagnosis of *C. trachomatis* infection can be divided into direct and indirect diagnostic tests. Direct tests include isolation in cell culture, antigen detection, nucleic acid hybridization (NAH) and nucleic acid amplification test (NAAT) which consists of polymerase chain reaction (PCR), ligase chain reaction (LCR), strand displacement amplification (SDA) and transcription mediated amplification (TMA). Indirect method is based on detection of IgM, IgG and IgA antibodies.

Clinical specimens for direct diagnostic test include endocervical swab, endourethral swab, rectal swab, conjunctival swab and for NAAT also first-void urine and vaginal swab.

Epidemiologija

Prevalencija infekcije *C. trachomatis* u Europi kreće se između 1,7% i 17%.^[1] Analizom uzoraka urina u spolno aktivnih mladih osoba u dobi od 18 – 25 godina u Hrvatskoj je utvrđena prevalencija od 7,3% u muškaraca te 5,3% u žena.^[2] Serovari D, E, F najčešće uzrokuju infekcije u svijetu.^[3-5] U Hrvatskoj, prema istraživanju urogenitalnih uzoraka na području sjeveroistočne Hrvatske, najčešće izoliran serotip bio je E (44%), potom F (33%), K (11,5%) i G (8%).^[6]

Podjela i razvojni ciklus *C. trachomatis*

Klamidije su nepokretne, Gram-negativne bakterije. Zbog svojih ograničenih metaboličkih sposobnosti obvezno parazitiraju u citoplazmi zaražene stanice. Temeljem različitih antigenskih i bioloških svojstava, patogeni sojevi *C. trachomatis* svrstani su u biovare, a na temelju antigenske raznolikosti glavnog proteina vanjske membrane (engl. *major outer membrane protein*, MOMP) biovari su podijeljeni u serovare (serotipove). Razlikujemo dva biovara: biovar trahoma koji uključuje serovare trahoma (A, B, Ba, C) i urogenitalnih infekcija (D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J i K) te biovar veneričnog limfogranuloma (serovari L1, L2, L3).

U razvojnem ciklusu klamidija razlikujemo dva osnovna morfološki i funkcionalno različita oblika: ekstracelularni – elementarno tjelešće (ET) i intracelularni – retikularno tjelešće (RT). Infektivni oblik elementarno tjelešće ulazi u epitelne stanice gdje mijenja oblik u retikularno tjelešće stvarajući karakteristične stanične inkluzije vidljive svjetlosnim mikroskopom. Retikularno tjelešće se replicira, stvarajući elementarna tjelešća koja egzocitozom napuštaju stanicu te mogu inficirati nove stanice. Osim ovih dvaju osnovnih oblika, u određenim nepovoljnim uvjetima u stanicama mogu nastati i aberantna RT, odnosno „perzistentna tjelešća“ (PT) s usporenim metabolizmom, koja se ne dijele i dugotrajno ostaju u inficiranim stanicama. Smatra se da su „perzistentna tjelešća“ odgovorna za kronične infekcije u ljudi, otpornost klamidija na antimikrobno liječenje u kroničnim infekcijama te čestu pojavu rekurentnih infekcija.

Imunopatogeneza infekcije *C. trachomatis*

Utvrđeno je da klamidije mogu utjecati na imunski odgovor domaćina inhibicijom fuzije lizosoma s fagocitnom vakuolom te inhibicijom apoptoze zaražene domaćinovne stanice.^[7] Pri infekciji dolazi do stimulacije zaraženih epitelnih stanica koje stvaranjem proupalnih kemokina i citokina stimuliraju migraciju ostalih upalnih stanica, poput neutrofila, monocita, u manjoj mjeri i makrofaga, T-limfocita, citotoksičnih

limfocita i NK-stanica.^[8-9] Različita zastupljenost Toll-like-receptora (TLR) u različitim dijelovima ženskoga spolnog sustava sugerira njihovu važnu ulogu u obrani gornjeg dijela spolnog sustava od patogena, uz toleranciju komenzala donjeg dijela spolnog sustava.^[10-12] Sekretorna IgA protutijela sudjeluju u ograničavanju širenja infekcije, dok serumska protutijela pružaju određenu zaštitu, no slabo štite od reinfekcije. Kod većine klamidijskih infekcija upala je prolazna i ne zaostaju oštećenja tkiva. Problem predstavlja kronična infekcija koja nastaje zbog unutarstaničnog perzistiranja uzročnika u atipičnom obliku (perzistentno tjelešće), rekurirajućih infekcija i reinfekcija. Dugotrajna imunostimulacija klamidijskim antigenima rezultira prvenstveno kasnom reakcijom preosjetljivosti (tip IV), a ponekad i reakcijom stvaranja imunokompleksa (tip III), dovodeći do oštećenja tkiva i fibroze. Neliječena ili neodgovarajuće liječena infekcija može rezultirati kroničnom infekcijom. Stvaranje perzistentnog tjelešća u *in vitro* uvjetima može se postići izlaganjem penicilinu, manjkom određenih aminokiselina (triptofan, izoleucin, cistein) ili izlaganjem određenim citokinima (IFN- γ , TNF- α , TGF- β). Perzistentno tjelešće ima slabiju metaboličku aktivnost, manje količine glavnog proteina vanjske membrane (MOMP) i lipopolisaharida (LPS) te veće količine C-HSP 60 kDa i C-HSP 10 kDa koji su snažni stimulatori imunoreakcija, uslijed čega dolazi do slabijeg prodiranja antibiotika u stanicu, čestih terapijskih neuspjeha, smanjenog stvaranja zaštitnih anti-MOMP protutijela te pojačanog stvaranja patogenih anti-C-HSP protutijela. Imunosni odgovor rezultira stvaranjem tipno specifičnih protutijela koja imaju slabu zaštitnu ulogu kod intracelularno smještenih organizama, stoga su reinfekcije česte. Anti-C-HSP protutijela smatraju se pokazateljima kronične upale i dobrim prediktorima tubarne neplodnosti. Studije u kojima se istraživao prirodni tijek neliječene klamidijske infekcije donjeg dijela spolnog sustava u žena pokazale su da u većini slučajeva dolazi do spontane eradikacije.^[13-15] Tijek infekcije mogao bi biti određen virulencijom uzročnika, okolišnim čimbenicima i imunosnim odgovorom domaćina. Različiti serovari također utječu na klinički tijek infekcije. U asimptomatskih infekcija spontana eradikacija iz cerviksa češće je bila povezana sa serovarima F i G (intermedijarna serogrupa), dok su perzistentne infekcije češće zabilježene kod serovara B, D, E, H, I, J i K. Serovar G češće uzrokuje simptomatske infekcije u muškaraca, serovar K vaginalni iscjedak u žena, a serovar F bol i/ili dispareuniju u žena.^[3-5]

Utvrđena je povezanost infekcije *C. trachomatis* s razvojem planocelularnog karcinoma vrata maternice, pri čemu je najveća povezanost utvrđena za serovar G,

manje za I i D, a rizik povećava i reinfekcija različitim serovarima *C. trachomatis*.^[15-19] *C. trachomatis* ima sposobnost modulacije humanih tumor-supresorskih gena i onkogeni na način da smanjuje ekspresiju tumor-supresorskog gena kaveolina-1 i pojačava ekspresiju onkogeni c-Myc.^[20]

Klinička slika

Serovari trahoma uzrokuju trahom, očnu infekciju koja se prenosi kontaktom sa sekretima oka, nosa i ždrijela zaraženih osoba, a jedan je od najčešćih infektivnih uzroka sljepoće u svijetu. Genitalni serovari u oba spola mogu uzrokovati uretritis, proktitis, reaktivni artritis, Reiterov sindrom, u muškaraca epididimitis i prostatitis, a u žena cervicitis, endometritis, zdjeličnu upalnu bolest, kroničnu zdjeličnu bol, tubarnu neplodnost, ektopičnu trudnoću, prijevremeni porod i postpartalni endometritis. Sekretima inficiranoga genitalnog trakta genitalni serovari mogu se prenijeti na konjunktive, pri čemu nastaje inkluzijski konjunktivitis. Prolaskom kroz inficirani porođajni kanal kod novorođenčadi se može razviti mukopurulentni konjunktivitis, infekcija gornjega respiratornog trakta, pneumonija i vulvovaginitis. Utvrđeno je da *C. trachomatis* posjeduje i onkogeni potencijal jer povećava rizik za razvoj karcinoma vrata maternice. Serovari L1-L3 uzrokuju venerični limfogranulom (LGV) koji se odlikuje papulom, zatim ulkusom na mjestu ulaska mikroorganizma koji ubrzo spontano zacjeljuje, a nakon latencije od jednog do tri tjedna dolazi do širenja u regionalne limfne čvorove, praćeno općim simptomima. U kasnijem tijeku nastaju apscesi, fistule i ožiljkavanje s posljedičnim strikturama.

Dijagnostika

Za kultivaciju i izravno dokazivanje klamidijских antigena uzorci moraju sadržavati inficirane stanice pa se rabe strugotine ili obrisci epitelnih stanica konjunktive, uretre, endocervikalnog kanala, rektuma te različiti aspirati (iz jajovoda, Douglasova prostora, epididimisa, ognojenoga limfnog čvora) i materijali dobiveni biopsijom. Ako se testom dokazuje nukleinska kiselina klamidija, može se upotrijebiti i prvi mlaz prvoga jutarnjeg urina, iscjedak iz genitalnog trakta i obrisak rodnice.

Uzgoj na staničnim kulturama

Umnožavanjem na odgovarajućim staničnim podlogama (McCoy, HeLa, HL i Hep-2), nakon inkubacije od 48 do 72 sata, stanične inkluzije dokazuju se bojenjem fluorescentno obilježenim antiklamidijskim protutijelima. Kulturom se dokazuje prisutnost vijabil-

nih elementarnih tjelešaca, stoga je to najspecifičnija dijagnostička metoda s najmanjim rizikom kontaminacije. Dodatna prednost ove metode jest mogućnost dodatnih istraživanja poput genotipizacije i testiranja osjetljivosti na antibiotike. Nedostatci ove metode su relativno manja osjetljivost u usporedbi s metodama umnožavanja nukleinskih kiselina, potreba za posebnim uvjetima transporta, vrijeme potrebno do dobivanja rezultata (tri do sedam dana), važnost iskustva laboratorija. Osjetljivost kulture je u najboljem slučaju 70 – 85%.

Metode određivanja antigena temelje se na izravnoj vizualizaciji mikroorganizma u uzorcima pomoću obilježenih antiklamidijskih protutijela imunofluorescentnim (engl. *direct fluorescent antibody*, DFA) ili imunoenzimskim testovima (engl. *enzyme immunoassay*, EIA). Prednosti ovih metoda u odnosu na kulturu jesu manja zahtjevnost transportnih uvjeta te bolja standardizacija tehnologije.

DFA ima visoku specifičnost poput kulture, uz dodatnu prednost što istovremeno daje uvid u kvalitetu uzetog uzorka jer omogućava vizualizaciju kuboidnih kolumnarnih epitelnih stanica. Osjetljivost DFA je 80 – 90%, uz nešto manju osjetljivost iz uzoraka uretre muškaraca koja iznosi oko 70%. Specifičnost ove metode je 98 – 99%. Mikroskopska evaluacija uzoraka zahtijeva vještinu i iskustvo laboratorijskih djelatnika.

Kod izravnog EIA testa protutijela obilježena enzimom vežu se na LPS svih klamidijских vrsta izdvojenih iz elementarnih tjelešaca u uzorku. Enzim iz vezanih protutijela pretvara bezbojni supstrat u obojenu tvar koju detektira spektrofotometrijski čitač. Nedostatak je ove metode mogućnost lažno pozitivnih rezultata zbog križne reakcije obilježenih protutijela s LPS-om drugih Gram-negativnih bakterija, što se može umanjiti potvrdnim testom blokirajućim protutijelima.

Dokazivanje nukleinske kiseline klamidija molekularnim metodama uključuje testove hibridizacije i amplifikacije nukleinskih kiselina. Testovi amplifikacije nukleinskih kiselina imaju najveću osjetljivost u detekciji klamidijских infekcija, a njihova je specifičnost usporediva s metodama kultivacije. Stoga su NAAT metoda izbora u kliničkoj dijagnostici klamidijских infekcija.^[21-25] Dodatna prednost uporabe ovih testova jest i mogućnost da se, uz uobičajene biološke uzorke dobivene invazivnim putem, mogu rabiti i neinvazivni uzorci kao što su prvi jutarnji urin, iscjedak iz uretre i obrisak rodnice.^[21-25]

Rezultati NAAT-a ne ovise o vijabilnosti uzročnika, stoga su uvjeti transporta manje zahtjevni, tj. mogu se pohraniti i do dva tjedna na sobnoj temperaturi u od-

govarajućem mediju. Test izlječenja se preporučuje isključivo u neadekvatno liječenih bolesnika (ili njihovih partnera), no treba proći najmanje tri tjedna od završetka liječenja kako bi se izbjegla detekcija DNA mrtvih mikroorganizama koja nije klinički značajna.^[25]

Serologija se temelji na određivanju specifičnih protutijela IgM, IgG i IgA. Serološke metode su mikromunofluorescencija (MIFA), indirektni imunoenzimski test (EIA) i reakcija vezanja komplementa (RVK). LPS je zajednički svim vrstama porodice klamidija, dok je glavni protein vanjske membrane (MOMP) karakterističan za pojedine vrste. MIFA je serološka metoda izbora u kojoj su antigeni pročišćena elementarna tjelešca pojedinih klamidija prema kojima se detektiraju IgM, IgG i IgA protutijela na *C. trachomatis*.^[26]

Brzi testovi, tzv. „point-of-care“ (POC). Klasični brzi testovi temelje se na imunoenzimskim metodama (engl. *immunochromatography assay* – ICA, *membrane capture*, *lateral immunodiffusion*). Osnovna prednost im je što ne zahtijevaju posebnu opremu ni laboratorij, a rezultat je najčešće gotov za 30 minuta. Rezultat se očitava vizualno i kvalitativan je. Suvremene tehnologije omogućile su molekularne POC testove. Molekularni POC testovi izvode se u zatvorenom, automatiziranom sustavu koji koristi RT-PCR metodu, bez potrebe za prethodnom obradom uzorka, što smanjuje rizik kontaminacije. Odlikuje ih visoka osjetljivost i specifičnost, a najboljim se pokazao Xpert CT/NG (Cepheid) čija osjetljivost i specifičnost prelaze 97%.^[27]

Zaključak

Serološki testovi rutinski se koriste kao neinvazivni postupci u dijagnostici sustavnih i kroničnih klamidijских infekcija u kojima je izravna dijagnostika slabije učinkovita. Serološkom dijagnostikom teško je razlučiti aktivnu od prošle infekcije budući da protutijela mogu dugo perzistirati u krvi, a protutijela IgM nisu uvijek prisutna u akutnoj infekciji, posebno kada se radi o reinfekciji. Za dokaz akutne infekcije potrebno je dokazati četverostruki porast titra protutijela u rekonvalescentnom serumu nakon dva tjedna, a ponekad i dulje. Indikativni nalaz za akutnu infekciju može biti prisutnost protutijela IgA koja načelno imaju bržu kinetiku od IgM, posebno u reinfekciji, ali također mogu dugo biti prisutna nakon akutne infekcije. Stoga je svaki serološki nalaz potrebno interpretirati u skladu s prisutnim simptomima te anamnestičkim i epidemiološkim podacima. Serološka dijagnostika značajna je u dijagnostici neonatalne infekcije, kada se očekuje visoki titar protutijela IgM, zatim u dijagnostici LGV-a te kod obrade steriliteta i okluzije jajovo-

da zbog ranije infekcije *C. trachomatis*, što potvrđuje prisutnost visokog titra IgG. U određenim slučajevima kao što su infekcije gornjeg dijela genitalnog trakta – zdjelica upalna bolest (engl. *pelvic inflammatory disease*, PID) i kronična infekcija, serologija može biti jedina pretraga kojom možemo dokazati klamidijску infekciju.^[28-38] Stoga je istovremeno korištenje izravnih i neizravnih mikrobioloških postupaka najpouzdaniji način dijagnosticiranja klamidijске infekcije.

LITERATURA

- [1] Wilson JS, Honey E, Templeton A, Paavonen J, Mårdh PA, Stray-Pedersen B i sur. A systematic review of the prevalence of Chlamydia trachomatis among European women. Hum Reprod Update. 2002;8:385–94.
- [2] Božičević I, Grgić I, Židovec-Lepej S, Čakalo JJ, Belak-Kovačević S, Štulhofer A i sur. Urine-based testing Chlamydia trachomatis among young adults in a population-based survey in Croatia: feasibility and prevalence. BMC Public Health. 2011;11:1–24.
- [3] Geisler WM, Suchland RJ, Whittington WLH, Stamm WE. The relationship of serovar to clinical manifestations of urogenital Chlamydia trachomatis infection. Sex Transm Dis. 2003;30:160–5.
- [4] Persson K, Osler S. Lack of evidence of a relationship between genital symptoms, cervicitis and salpingitis and different serovars of Chlamydia trachomatis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1993;12:195–9.
- [5] Morré SA, Rozendaal L, van Valkengoed IG, Boeke AJ, van Voorst Vader PC, Schirm J i sur. Urogenital Chlamydia trachomatis serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestation? J Clin Microbiol. 2000;38:2292–6.
- [6] Bošnjak Z, Džijan S, Pavlinić D, Perić M, Ružman N, Križan IR i sur. Distribution of Chlamydia trachomatis serotypes in clinical urogenital samples from North-Eastern Croatia. Curr Microbiol. 2012;64:552–60.
- [7] Zdrodowska-Stefanov B, Ostaszewska-Puchalska I, Pucilo K. The immunology of Chlamydia trachomatis. Arch Immunol Ther Exp. 2003;51:289–94.
- [8] Elwell C, Mirrashidi K, Engel J. Chlamydia cell biology and pathogenesis. Nat Rev Microbiol. 2016;14:385–400.
- [9] Darville T, Hiltke TJ. Pathogenesis of genital tract disease due to Chlamydia trachomatis. J Infect Dis. 2010; 201(Suppl 2): 114–25.
- [10] Pioli PA, Amiel E, Schaefer TM, Connolly JE, Wira CR, Guyre PM. Differential expression of Toll-like receptors 2 and 4 in tissues of the human female reproductive tract. Infect Immun. 2004;72:5799–5806.
- [11] Fazeli A, Bruce C, Anumba DO. Characterization of Toll-like receptors in the female reproductive tract in humans. Hum Reprod. 2005;20:1372–8.
- [12] Schaefer TM, Desouza K, Fahey JV, Beagley KW, Wira CR. Toll-like receptor (TLR) expression and TLR-mediated cytokine/chemokine production by human uterine epithelial cells. Immunology 2004;112:428–36.
- [13] Molano M, Meijer CJ, Weiderrpass E, Arslan A, Posso H, Franceschi S i sur. The natural course of Chlamydia trachomatis infection in asymptomatic Colombian women: a 5-year follow-up study. J Infect Dis. 2005;191:907–16.

- [14] Morré SA, van den Brule AJ, Rozendaal L, Boeke AJ, Voorhorst FJ, de Blok S i sur. The natural course of asymptomatic Chlamydia trachomatis infections: 45% clearance and no development of clinical PID after one-year follow-up. *Int J STD AIDS*. 2002;13:12–18.
- [15] Dean D, Suchland RJ, Stamm WE. Evidence for long-term cervical persistence of Chlamydia trachomatis by omp1 genotyping. *J Infect Dis*. 2000;182:909–16.
- [16] Koskela P, Anttila T, Bjørge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M i sur. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for invasive cervical cancer. *Int J Cancer*. 2000;85:35–9.
- [17] Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikäheimo I i sur. Serotypes of Chlamydia trachomatis and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. *JAMA*. 2001; 285:47–51.
- [18] Zhu H, Shen Z, Luo H, Zhang W, Zhu X. Chlamydia Trachomatis Infection-Associated Risk of Cervical Cancer: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Mar;95(13):e3077.
- [19] Paavonen J, Karunakaran KP, Noguchi Y, Anttila T, Bloigu A, Dillner J i sur. Serum antibody response to the heat shock protein 60 of Chlamydia trachomatis in women with developing cervical cancer. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:1287–92.
- [20] Schlott T, Eifert H, Bohne W, Landgrebe J, Brunner E, Spielbauer B i sur. Chlamydia trachomatis modulates expression of tumor suppressor gene caveolin-1 and oncogene C-myc in the transformation zone of non-neoplastic cervical tissue. *Gynecol Oncol*. 2005;98:409–19.
- [21] Meyer T. Diagnostic Procedures to Detect Chlamydia trachomatis Infections. *Microorganisms*. 2016;4:25.
- [22] Lanjouw E, Ouburg S, de Vries HJ, Sary A, Radcliffe K, Unemo M. 2015 European guideline on the management of Chlamydia trachomatis infections. *Int J STD AIDS*. 2016;27:333–48.
- [23] Lanjouw E, Ouburg S, de Vries HJ, Sary A, Radcliffe K, Unemo M. Background review for the „2015 European guideline on the management of Chlamydia trachomatis infections“. *Int J STD AIDS*. 2015 Nov 24;0956462415618838.
- [14] Nwokolo NC, Dragovic B, Patel S, Tong CY, Barker G, Radcliffe K. 2015 UK national guideline for the management of infection with Chlamydia trachomatis. *Int J STD AIDS*. 2016; 27:251–67.
- [25] Workowski KA, Bolan GA. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep*. 2015;64:1–135.
- [26] Bas S, Muzzin P, Ninet B, Bornand JE, Scieux C, Vischer TL. Chlamydial serology: comparative diagnostic value of immunoblotting, microimmunofluorescence test, and immunoassays using different recombinant proteins as antigens. *J Clin Microbiol*. 2001;39:1368–77.
- [27] De Cortina SH, Claire C, Bristow CC, Davey DJ, Klausner JD. A Systematic Review of Point of Care Testing for *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis*. *Infect Dis Obstet Gynecol*. 2016;2016:4386127.
- [28] Chernesky M, Luinstra K, Sellors J, Schachter J, Moncada J, Caul O i sur. Can serology diagnose upper genital tract *Chlamydia trachomatis* infections? Studies on women with pelvic pain, with or without chlamydial plasmid DNA in endometrial biopsy tissue. *Sex Transm Dis*. 1998;25:14–9.
- [29] Muvunyi CM, Dhont N, Verhelst R, Temmerman M, Claeys G, Padalko E. *Chlamydia trachomatis* infection in fertile and subfertile women in Rwanda: prevalence and diagnostic significance of IgG and IgA antibodies testing. *Hum Reprod*. 2011;26:3319–26.
- [30] Joyee AG, Thyagarajan SP, Reddy VE, Rajendran P, Venkatesan C, Ganapathy M. Diagnostic utility of serologic markers for genital chlamydial infection in STD patients in Chennai, India. *J Assoc Physicians India*. 2007;55:777–80.
- [31] Mouton JW, Peeters ME, Van Rijssort-Vos JH and Verkooyen RP. Tubal factor pathology caused by Chlamydia trachomatis: the role of serology. *Int J STD AIDS* 2002;13(Suppl 2):26–29.
- [32] Veenemans LMW, Van der Linden PJQ. The value of Chlamydia trachomatis antibody testing in predicting tubal factor infertility. *Hum Reprod*. 2002;17:695–8.
- [33] Akande VA, Hunt LP, Cahill DJ, Caul EO, Ford WCL, Jenkins JM. Tubal damage in infertile women: prediction using chlamydia serology. *Hum Reprod*. 2003;18:1841–7.
- [34] Land JA, Gijzen AP, Kessels AGH, Slobbe MEP, Bruggeman CA. Performance of five serological chlamydia antibody tests in subfertile women. *Hum Reprod*. 2003;18:2621–7.
- [35] den Hartog JE, Land JA, Stassen FRM, Kessels AGH and Bruggeman CA. Serological markers of persistent C. trachomatis infections in women with tubal factor subfertility. *Hum Reprod*. 2005;20:986–90.
- [36] Mascellino MT, Ciardi MR, Oliva A, Cecinato F, Hassemer MP, Borgese L. Chlamydia trachomatis detection in a population of asymptomatic and symptomatic women: correlation with the presence of serological markers for this Infection. *New Microbiol*. 2008;31:249–56.
- [37] Toye B, Laferrière C, Claman P, Jessamine P, Peeling R. Association between antibody to the chlamydial heat-shock protein and tubal infertility. *J Infect Dis*. 1993;168:1236–40.
- [37] Arno JN, Yuan Y, Cleary RE, Morrison RP. Serologic responses of infertile women to the 60-kd chlamydial heat shock protein (hsp60). *Fertil Steril*. 1995;64:730–5.