

# *Chlamydia trachomatis* tanısında kullanılan hücre kültürü, hibridizasyon ve direkt flöresan antikor testlerinin karşılaştırılması

## The comparison of cell culture, hybridization and direct fluorescent antibody tests in *Chlamydia trachomatis* diagnosis

Elçin AKDUMAN<sup>1</sup>, Talat ECEMİŞ<sup>2</sup>, Sermet SAĞOL<sup>3</sup>, Candan ÇİÇEK<sup>4</sup>, Seda VATANSEVER<sup>5</sup>, Beril ÖZBAKKALOĞLU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Devlet Hastanesi, İnegöl, Bursa, <sup>2</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, Manisa, <sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İzmir, <sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD, İzmir, <sup>5</sup>Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Manisa

### ÖZET

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı genital *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonlarının tanısında hibridizasyon ve direkt flöresan antikor testlerinin güvenilirliğini araştırmaktır.

**Gereç ve Yöntem:** Yüz infertil kadından alınan servikal sürüntü örneği hibridizasyon, direkt flöresan antikor testi ve altın standart tanı yöntemi olan hücre kültür yöntemi ile incelenerek testlerin duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerleri karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Örneklerin 11'inde hücre kültürü ile *C. trachomatis* saptanmıştır. Direkt flöresan antikor testi ile 7, hibridizasyon testi ile 19 örnek pozitif bulunmuştur. Direkt flöresan antikor ve hibridizasyon testleri için duyarlılık sırasıyla %54,5, %81,8; özgüllük %98,9, %88,8; pozitif prediktif değer %85,7, %47,4; negatif prediktif değer %94,6, %97,5 olarak hesaplanmıştır.

**Sonuç:** Sonuç olarak *C. trachomatis* tanısında tek bir yöntemin yeterli duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığı, alınan sonuçların ikinci bir yöntem ile doğrulanması gerektiği ve hibridizasyon yönteminin diğer yöntemlere oranla hızlı ve etkin olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** *Chlamydia trachomatis*, tam, hibridizasyon, hücre kültürü, antikor

### ABSTRACT

**Objective:** The aim of this study was to compare the reliability of hybridization and direct fluorescent antibody tests for the diagnosis of genital *Chlamydia trachomatis* infections.

**Material and Methods:** Cervical specimens from 100 infertile women were evaluated with hybridization, direct fluorescent antibody tests, and cell culture method known as a gold standard, and also sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of the three methods were compared.

**Results:** *C. trachomatis* was isolated in cell cultures of 11 samples. Seven and 19 positive samples were found respectively through direct fluorescent antibody, and hybridization tests identified 7, and 19 positive samples, respectively. Direct fluorescent antibody tests demonstrated 54.5 % sensitivity, 98 % specificity, 47.4 % positive, and 94.6 % negative predictive value, while the corresponding percentages for hybridization tests were 81.8, 88.8, 47.4, and 97.5 %, respectively.

**Conclusion:** It was concluded that a single method has not sufficient sensitivity and specificity for the establishment of a definitive diagnosis *C. trachomatis* infection, and the results should be confirmed by other methods the hybridization method being more rapid and effective than the other methods.

**Key words:** *Chlamydia trachomatis*, diagnosis, hybridization, cell culture, antibody

**Alındığı tarih:** 21.07.2011

**Kabul tarihi:** 22.07.2011

**Yazışma adresi:** Yrd. Doç. Dr. Talat Ecemiş, Celal Bayar Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Uncubozköy-Manisa  
talat.ecemis@gmail.com

## GİRİŞ

*Chlamydia trachomatis*, cinsel yolla bulaşan hastalıklara neden olan etkenler arasında en sık izole edilen mikroorganizmalardan biridir. Sıklıkla erkeklerde üretrite, kadınlarda asemptomatik servisteye neden olur ve tedavi edilmeyen enfeksiyonlar üreme sisteminde ciddi komplikasyonlara yol açabilir. İnfertilite, ektopik gebelik, kronik pelvik ağrı gibi sekellerle seyreden pelvik inflamatuvar hastalık (PID), enfeksiyonun önemli bir komplikasyonudur <sup>(1)</sup>.

Son zamanlara kadar, klamidy enfeksiyonlarının tanısı, “altın standart” olarak kabul edilen hücre kültürü yöntemine dayanmaktaydı. Ancak, klinik örneğin alınması, taşınması, saklanması aşamalarında, etkenin canlılığını yitirmesi sonucunda hücre kültürünün duyarlılığı olumsuz yönde etkilenmektedir. Bu nedenle, direkt flöresan, enzim immünoassay, DNA prob teknikleri, polimeraz zincir reaksiyonu, ligaz zincir reaksiyonu, transkripsiyon aracılı amplifikasyon gibi nükleik asit amplifikasyon testleri geliştirilmiştir. Tüm bu testlerin duyarlılık ve özgüllükleri, ekonomik sonuçları yanında rutin mikrobiyoloji laboratuvarında uygulanabilirliğinde farklı yaklaşımlar ve tercihler söz konusu olabilmektedir <sup>(2)</sup>. Nükleik asit amplifikasyon testleri, az sayıda mikroorganizmayı saptayabilen yüksek duyarlılıkta testlerdir ve rutin servikal örneklerde *C. trachomatis* saptanmasında güvenle kullanılmaktadır. Yeni geliştirilen ve sıklıkla laboratuvarlarda kullanılan diğer testlerin etkinliği ve verimliliği ile ilgili veriler değişkenlik göstermektedir <sup>(3,4)</sup>.

Bu çalışmada, servikal örneklerde *C. trachomatis*'in saptanmasında kullanılan hibridizasyon ve Direkt Flöresan Antikor (DFA) testlerinin güvenilirliği, standart yöntem olan hücre kültürü ile karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

## GEREÇ ve YÖNTEM

### Klinik örnekler

Tüp bebek merkezine başvuran ve servisit yakın-

ması olmayan toplam 100 infertil kadın hasta çalışma kapsamına alındı.

Bilgilendirilmiş onamı alınmış her hastadan, hücre kültürü, DFA ve hibridizasyon testleri için ayrı ayrı endoservikal sürüntü örneği alındı. Servikte geçiş zonundan, endoüretre meatusundan 2-4 cm içeriye sokulan dakron eküvyon 10-30 saniye, 360 derece döndürülerek alınan örneklerde, olabildiği kadar çok epitel hücresi toplanmasına, mukus içermemesine ve eküvyonun vajen mukozasına değmemesine dikkat edildi. Hücre kültürü ve DFA için kullanılacak olan örnek, *Chlamydia* transport medium içeren tüplere (Eurotubo®, Deltalab, İspanya) aktarıldı. Hibridizasyon testi için kullanılacak örnekler ise üretici test firmasının örnek taşıma tüplerine (GenProbe®, Inc., San Diego, Amerika Birleşik Devletleri) konuldu. Örnekler laboratuvara ulaşıncaya kadar +4°C’de bekletildi, testler uygulanıncaya kadar -80°C’de saklandı.

### Hücre Kültürü

McCoy hücreleri kullanılarak “shell vial” hücre kültürü yöntemi uygulandı. Ardışık pasajlarla üretilen hücrelerin bulunduğu flasklara tripsin ilave edildi, 37°C’de 5-10 dk. inkübe edildi ve ayrışmaları sağlandı. Hücreler “Growth” Solüsyonu (GS) (Biochrom, Berlin, Almanya) konulmuş (25 cm<sup>2</sup> flask için 4 mL) flasklara aktarıldı ve %5 CO<sub>2</sub>’li etüvde 37°C’de tam bir tabaka oluşturana kadar inkübe edildi. Daha sonra shell vial şişelerine (Borkim, İstanbul, Türkiye) aktarıldı ve %5 CO<sub>2</sub>’li etüvde 37°C’de 24-48 saat inkübe edildi. Dondurucudan çıkarılan örnekler vorteksledi. Her örnek McCoy içeren iki shell-vial tüpüne, por çapı 0.45 µm olan filtreden geçirilerek ekildi ve 1750Xg’de 60 dk. santrifüjlendi. Oda ısısında bir saat bekletildikten sonra tüplerin içindeki ortam aspire edilerek uzaklaştırıldı ve hücrelerin üzerine “idame” besiyeri (Biochrom, Berlin, Almanya) eklendi. Shell vial tüpleri 37°C’de %5 CO<sub>2</sub>’li ortamda 48 saat inkübe edildi. İnkübasyon bitiminde shell vialler içindeki lameller lam üzerine

alındı ve soğuk asetonda 10 dk., -20 °C’da bekletilecek fiske edildi. Yıkamalar sonrasında lameller, 25 µl *C. trachomatis*’in dış membran proteinine (Major Outer Membrane Protein=MOMP) karşı oluşmuş ve Fluorescein Isothiocyanate (FITC) ile işaretlenmiş monoklonal antikor (Fluorotect Chlamydia®, Omega Diagnostics, İskoçya) ile boyandı ve 37°C’da nemli ve karanlık ortamda 30 dk. bekletildi. Yıkama sonrasında lameller flöresan mikroskopunda X400 büyütmede incelendi. Parlak elma yeşili yansıma veren bir veya daha fazla hücre içeren örnekler pozitif olarak kabul edildi.

### DFA testi

DFA tekniği için, *C. trachomatis*’in MOMP antijenine karşı ve FITC ile işaretlenmiş monoklonal antikorlar içeren Fluorotect Chlamydia® kiti (Omega Diagnostics, İskoçya) kullanıldı. Ependorflardaki örnekler santrifüjlendi ve elde edilen çökelti sitospinlendi, aseton ile -20°C’da 10 dk.’da lama fiske edilen sürüntü örneği, monoklonal antikor ile boyandı. Hazırlanan preparatlar X400 büyütmede flöresan mikroskopu ile incelendi. Sürüntü örneklerinde yeterli sayıda epitel hücrelerinin bulunmuş olmasına dikkat edilerek üç veya daha fazla elma yeşili flöresan veren, düzgün kenarlı yuvarlak veya oval elementer cisim içeren örnekler pozitif kabul edildi.

### Hibridizasyon testi

Bu çalışmada, endoservikal örneklerden *C. trachomatis* ve/veya *N. gonorrhoea*’yı saptayan bir DNA probe testi olan hibridizasyon bazlı PACE 2C® testi (GenProbe, Inc., San Diego, Amerika Birleşik Devletleri) kullanıldı. Bu testte, hedef organizmanın ribozomal 16 s RNA’sına komplementer olan kemilüminesan madde ile işaretlenmiş tek sarmallı DNA probu kullanıldı. Kit içeriğindeki liyofilize prob, öneriler doğrultusunda “hibridizasyon buffer” ile homojen süspansiyon haline getirildi. Hazırlanan örnekler ve kontrollerden 100 µl tüplere dağıtıldı, tüpler man-

yetik tepsiye dizildi ve üzerine hazırlanmış prob solüsyonundan 100 µl eklendi. Tüplerin üzeri koruyucu kart ile kapatıldı ve 60°C’lik su banyosunda tüpler 1 saat inkübe edildi. Her tüpe 1 ml ayrıştırma çözeltisinden koyuldu ve 60°C’lik su banyosunda 10 dk. inkübe edildi. İçindeki sıvı boşaltılarak yıkama sıvısı kondu ve 20 dk. oda ısısında inkübe edildi. Süpernatant atılarak dipteki çökelti homojen hale getirildi ve kontrollerle birlikte luminometrede (GenProbe Leader 450®, GenProbe, California, Amerika Birleşik Devletleri) okutuldu. Sonuçlar “rölatif ışımaya ünitesi” (RLU) olarak tespit edildi. Test sonuçları, örnek ile negatif referansların ortalaması arasındaki fark hesaplanarak bulundu. Üretici firma önerileri doğrultusunda “cut-off” değeri hesaplandı. Bu değer üzerindeki örnekler pozitif olarak kabul edildi.

### Test Sonuçlarının Analizi

Hücre kültüründe alınan sonuçlar altın standart kabul edilerek, DFA ve hibridizasyon testlerinin sonuçları SPSS v.12 istatistik programı (SPSS Inc. Chicago, IL, Amerika Birleşik Devletleri) ile bilgisayarda analiz edildi. Standart istatistik yöntemleri ile (duyarlılık, özgüllük, pozitif ve negatif prediktif değerler, test geçerliliği) hesaplandı.

### BULGULAR

Hasta grubunun yaşları 23 ile 48 arasında değişmekteydi ve yaş ortalaması 34.1’di. Hastaların 93’ü birincil, 5’i ikincil nedenlerle infertildi. İki hastadan bu konuda veri elde edilemedi. Hücre kültüründe toplam 100 olgunun 11’inde (%11) *C. trachomatis* saptandı. DFA ve hibridizasyon testlerinde ise sırasıyla 7 (%7) ve 19 (%19) örnek pozitif olarak bulundu (Tablo 1).

DFA ve hibridizasyon testi ile elde edilen sonuçların, hücre kültürü altın standart kabul edilerek yapılan değerlendirmesinde, DFA yöntemi ile pozitif bulunan yedi hastanın birinde hücre kültürü ile

uyumsuzluk saptandı. DFA negatif olduğu saptanan beş olguda hücre kültürü pozitif. Buna göre, DFA için duyarlılık %54.5, özgüllük %98.9, pozitif prediktif değer %85.7, negatif prediktif değer %94.6 olarak hesaplandı (Tablo 2).

Hibridizasyon yöntemi ile pozitif saptanan 19 hastadan dokuzunda hücre kültürü pozitif bulunurken, 10'unda negatifti. Hücre kültürü pozitif iki hastada ise hibridizasyon testi negatifti. Bu iki örneğin yinelenen hücre kültürlerinde aynı sonuç elde edildi. İki test arasında uyumsuzluğun olduğu diğer 10 örnek için, *C. trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae* ayırımını kesinleştirmek amacıyla, bu mikroorganizmaları ayrı ayrı belirleyen PACE 2 CT ve PACE 2 NG testleri ikinci kez tekrarlandı. Sonuçlar *C. trac-*

*homatis* için cut-off değerinin en az 3 katı RLU değerlerindeydi ve *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirildi. Hücre kültürü ile hibridizasyon testi sonuçları karşılaştırıldığında ise duyarlılık %81.8, özgüllük %88.8, pozitif prediktif değer %47.4, negatif prediktif değer %97.5 hesaplandı (Tablo 3).

Örneklerin tümünde; hücre kültürü, DFA ve hibridizasyon testi sonuçları karşılaştırıldığında; toplam üç örnek tüm yöntemlerde pozitif, 79 örnek negatif, 18 örnekte ise üç testin sonuçları birbiri ile uyumsuz bulundu.

## TARTIŞMA

*C. trachomatis* tanısında rutin kullanımında seçilecek testin, basit, ucuz ve kolay olması, kullanım yaygınlığını etkileyecek önemli faktörlerdir. Nükleik asit amplifikasyon testlerinde duyarlılık ve özgüllük açısından farklı sonuçlar elde edilse de, diğer testlere göre daha güvenilir sonuçlar bildirilmektedir<sup>(1)</sup>. Ancak test maliyeti, teknik zorluklar, kontaminasyon riski, örnekteki inhibitör maddelerin varlığı gibi faktörler, bu testin yaygın kullanımının önünde engeller oluşturmaktadır. Nispeten daha ucuz ve pratik testlere yönelmek, özellikle gelişmekte olan ülkeler için değerlendirilmesi gereken alternatiflerdir. Bu alternatiflerden biri olarak test ettiğimiz hızlı, pratik ve ucuz bir test olan DFA testi için birçok çalışmada %50-70 arasında duyarlılık oranları bildirilmiştir. Çalışmamızda %98.9 gibi oldukça yüksek özgüllük elde edilirken, %54.5 gibi göreceli düşük bir duyarlılık bulunmuştur. DFA testinde sonuçları etkileyen en önemli faktörler örneğin alınması ve sonuçların değerlendirilmesidir. Gerek DFA testinde, gerekse hücre kültüründe, örneklerin uygun koşullarda alınması ve laboratuvara gönderilmesi, test sonuçlarını birincil olarak etkileyen ilk ve en önemli aşamadır. Örnek miktarının yetersiz olması, yeterli sayıda hücre olmaması, mukuslu, hemorajik nitelikte örnek alınması yanlış negatif sonuçlara neden olup, test duyarlılığını azaltmaktadır. Ürogenital klamidya enfeksiyonu tanısı için laboratuvara gönderilen örnek-

**Tablo 1. Hücre kültürü, DFA testi ve hibridizasyon testi sonuçları.**

	Hücre kültürü	DFA testi	Hibridizasyon testi
Pozitif	11	7	19
Negatif	89	93	81
Toplam	100	100	100

**Tablo 2. Hücre kültürü ve DFA test sonuçlarının karşılaştırması.**

		Hücre Kültürü		Toplam**
		Pozitif	Negatif	
DFA	Pozitif (%)*	6 (54.5)	1 (1.1)	7
	Negatif (%)*	5 (45.5)	88 (98.9)	93
Toplam**		11	89	100

\*Hücre kültüründeki oranı

\*\*Toplamdaki yüzde oranları sayılarla aynı

**Tablo 3. Hücre kültürü ve hibridizasyon test sonuçlarının karşılaştırması.**

		Hücre Kültürü		Toplam**
		Pozitif	Negatif	
PACE 2	Pozitif (%)*	9 (81.8)	10 (11.2)	19
	Negatif (%)*	2 (18.2)	79 (88.8)	81
CT/NG				
Toplam**		11	89	100

Hücre kültüründeki oranı

\*\*Toplamdaki yüzde oranları sayılarla aynı

lerin en az %10'unun uygunsuz olduğu, üretral/servikal epitel içermediği veya eksüda içerdiği gösterilmiştir ve bazı durumlarda bu oranın %30'a kadar çıktığı bildirilmiştir<sup>(5)</sup>. Tüm flöresan mikroskopi değerlendirmelerinde olduğu gibi, DFA testinin değerlendirilmesi, testin diğer bir önemli aşamasıdır. Değerlendirmenin subjektif olması testin duyarlılığını ve özgüllüğünü ciddi olarak etkilemektedir. Non-spesifik boyanmalar ayırt edilmelidir, az sayıda inklüzyon cisimciği içeren örneklerde yanlış negatifliklere neden olabileceği unutulmamalıdır. Dolayısıyla, değerlendirecek kişinin eğitilmiş ve deneyimli olması, bu test için çok önemlidir. DFA testinin düşük duyarlılığı, bu testin "tarama testi" olarak kullanılmasını engellemekte, bu amaç için özellikle negatif sonuçlarda, diğer bir yüksek duyarlılıktaki test ile kullanılmasını zorunlu hale getirmektedir.

Hücre kültürü ile hibridizasyon test sonuçları karşılaştırıldığında, hibridizasyon testinin duyarlılığı %81.8, özgüllüğü %88.8, pozitif prediktif değeri %47.4 ve negatif prediktif değeri %97.5 olarak hesaplandı. Son yıllarda moleküler testlerle yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda, hücre kültürünün "altın standart" olma özelliğinde sorunlar yaşanmakta olup, hücre kültürünün de içinde bulunduğu test kombinasyonları referans yöntem olarak kullanılmaktadır<sup>(3)</sup>. Hücre kültürünün, amlifikasyonlu veya amplifikasyonsuz nükleik asit testleriyle yapılan karşılaştırmalı çalışmalarında, hücre kültürü referans olarak alındığında, bu testlerin duyarlılıkları %60-97 arasında değişmektedir<sup>(2)</sup>. Negatif sonuçlarda ise uyum çok iyi olup, birçok çalışmada %100'lere kadar varmaktadır. El-Sayed ve ark.'nın<sup>(2)</sup>, bu çalışmaya benzer şekilde yaptığı karşılaştırmalı çalışmada, hücre kültüründe pozitif olan 25 örnek, hibridizasyon testi ile de pozitif bulunmuş, ayrıca ek olarak hibridizasyon testi ile 15 pozitif sonuç daha elde edilmiştir. Çalışmamızdaki sonuçlarda, hücre kültürü ile pozitif bulunan 11 örneğin dokuzu hibridizasyon testi ile de pozitif bulundu, El-Sayed'in çalışmasına benzer şekilde, hücre kültürünün negatif bulunduğu 10 örnekte daha hibridizasyon testi ile pozitif sonuç elde edildi.

Referans yöntemine göre pozitif bulunan bu örnekler için PACE 2 CT ve PACE 2 NG testleri ayrı ayrı yineleni ve aynı sonuç alındı. Yinelenen testlerde cut-off değeri 362 RLU olarak hesaplandı ve örnekler 1694 ile 41858 RLU arasında bulundu. Yapılan birçok çalışmada PACE2 testine ait RLU cinsinden elde edilen sonuç değerleri ile gerçek pozitiflik arasında bir korelasyon olduğunu öne sürülmüştür<sup>(6,7,8)</sup>. Bebe ve ark.<sup>(6)</sup>, RLU değeri 2.000'den büyük örneklerin %99,7'sinin diğer yöntemlerle pozitif olduğunu göstermiş ve bu değerlerin üzerindeki sonuçlarda ilave bir teste gerek olmadığını bildirmiştir. Blanding'in<sup>(8)</sup> çalışmasında ise tüm pozitif sonuçların RLU değerleri 983 ve üzerinde bulunmuştur. Negatif sonuçları ikinci kez yinelenen araştırmacılar, dört testin üçünü 600 RLU, birini 1000 RLU değerinde bulmuştur. Ayrıca, kültür sonuçları negatif olduğu zaman PACE 2CT testi yineleniğinde, sonuç cut-off değerinin 3 katı üzerinde bir RLU değerine sahip ise, bu örneğin sonucunun gerçek pozitif olarak kabul edilmesi önerilmiştir<sup>(9,10)</sup>. Çalışmamızda yinelenen PACE 2 CT/NG sonuçlarında, pozitif bulunan örneklerde en düşük RLU değeri 1694, en yüksek RLU değeri ise 41.858 olarak saptandı ve tüm hastaların sonuçları *C. trachomatis* pozitif olarak değerlendirildi.

Referans yöntem kabul edilen hücre kültürünün 10 hastadaki negatif sonuçları ve dolayısıyla hücre kültürünün "altın standart" olma özelliği birçok çalışmada olduğu gibi bu çalışmada da tartışılacak niteliktedir. Değerlendirme çok önemli olup, eğitilmiş ve tecrübeli kişi gerektirmektedir. Çalışmamızda shell-vial kültür sonuçları en az iki deneyimli mikrobiyolog tarafından değerlendirilmiş olup, bu konuda bir sorun yaşanmamıştır. Bu negatif sonuçlar, örneğin alınması ve taşınması aşamasındaki aksaklıklara bağlı olabileceği gibi, test aşamalarındaki teknik bir nedenden kaynaklanabilir. Cansız organizmalar hibridizasyon testinde pozitifliklere neden olmuş olabilir.

Bu çalışmada, servikal örneklerde *C. trachomatis* tanısı için günümüzde tek başına hiçbir testin kusursuz bir duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmadığı, alınan



sonuçların bir diğer test ile doğrulanmasının gerekli olduğu sonucuna varıldı. Duyarlılık ve özgüllüğü yüksek, iş yükü daha hafif, kolay uygulanabilen bir test olan hibridizasyon testi objektif değerlendirme kriterleri ile öne çıkmaktadır.

## KAYNAKLAR

1. Bébéar C, de Barbeyrac B. Genital Chlamydia trachomatis infections. *Clin Microbiol Infect* 2009;15:4-10. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02647.x> PMID:19220334
2. El-Sayed M, Badwy W, Bakr A. Rapid hybridization probe assay and PCR for detection of Chlamydia trachomatis in urinary tract infections: a prospective study. *Current Microbiology* 2006;53:379-383. <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-005-0449-4>
3. Pasternack R, Vuorinen P, Kuukankorpi A, Jarvi TP and Miettinen A. Detection of Chlamydia trachomatis infections in women by Amplicor PCR: comparison of diagnostic performance with urine and cervical specimens. *J Clin Microbiol* 1996;34:995-998. PMID:8815129 PMCid:228938
4. Black CM, Marrazzo J, Johnson RE, Hook III EW, Jones RB, Green TA, et al. Head-to-Head multicenter comparison of DNA probe and nucleic acid amplification tests for Chlamydia trachomatis infection in women performed with an improved reference standard. *J Clin Microbiol* 2002;40:3757-3763. <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.40.10.3757-3763.2002> PMID:12354877 PMCid:130858
5. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. *Clin Microbiol Rev* 1997;10:160-184. PMID:8993862 PMCid:172947
6. Beebe JL, Sharpton TR, Zanto SN, Steece RS, Rogers C and Mottice SL. Performance characteristics of the Gen-Probe competition assay used as a supplementary test for the Gen-Probe PACE 2 and 2C assays for detection of Chlamydia trachomatis. *J Clin Microbiol* 1997;35:477-478. PMID:9003620 PMCid:229604
7. Wylie JL, Moses S, Babcock R, Jolly A, Giercke S and Hammond G. Comparative evaluation of chlamydiazyme, PACE 2, and AMP-CT assays for detection of Chlamydia trachomatis in endocervical specimens. *J Clin Microbiol* 1998;36:3488-3491. PMID:9817859 PMCid:105226
8. Blanding J, Hirsch L, Stranton N, Wright T, Aarnaes S, De La Maza LM, et al. Comparison of the clearview Chlamydia, the PACE 2 assay, and culture for detection of Chlamydia trachomatis from cervical specimens in a low-prevalence population. *J Clin Microbiol* 1993;31:1622-1625. PMID:8315006 PMCid:265591
9. Limberger RJ, Biega R, Evancoe A, McCarty L, Slivinski L, Kirkwood M. Evaluation of culture and Gen-Probe PACE 2 assay for detection Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis in endocervical specimens transported to a State Healty Laboratory. *J Clin Microbiol* 1992;30:1162-1166. PMID:1583114 PMCid:265242
10. Centers for Disease Control and Prevention. Recommendations for the prevention and management of C. trachomatis infections. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1993;42:12.