

Semptomatik Hastaların Genital Sürüntü Örneklerinde Hücre Kültürü, DFA ve PCR Yöntemleriyle *Chlamydia trachomatis*'in Araştırılması

Investigation of *Chlamydia trachomatis* with Cell Culture, DFA and PCR Methods in the Genital Swab Samples of Symptomatic Patients

Osman ÖZÜBERK¹, Selma GÖKAHMETOĞLU¹, Bülent ÖZÇELİK², Oğuz EKMEKÇİOĞLU³

¹ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

¹ Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Kayseri, Turkey.

² Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Kayseri.

² Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology, Kayseri, Turkey.

³ Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Kayseri.

³ Erciyes University Faculty of Medicine, Department of Urology, Kayseri, Turkey.

Geliş Tarihi (Received): 04.06.2012 • Kabul Ediliş Tarihi (Accepted): 17.09.2012

ÖZET

Tüm dünyada cinsel yolla bulaşan bakteriyel hastalıklardan en yaygın olanı *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonlarıdır. *C.trachomatis*, trahom ve yenidoğan inklüzyon konjunktiviti gibi göz enfeksiyonlarına, yenidoğanlarda pnömonilere, genitoüriner sistem enfeksiyonlarına ve süpüratif inguinal adenitle karakterize lenfogranüloma veneruma yol açabilmektedir. Bu çalışmada, genital enfeksiyon ön tanısıyla mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde *C.trachomatis* varlığının, hücre kültürü, direkt floresan antikor (DFA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmaya, Şubat-Mart 2010 tarihinde genital akıntı yakınmasıyla hastanemize başvuran 50 (49 kadın, 1 erkek) erişkin hastadan alınan sürüntü örnekleri dahil edilmiştir. Örneklerde *C.trachomatis* antijeni ticari bir DFA (PathoDx, Remel, ABD) yöntemiyle araştırılmış; etkenin izolasyonunda ise mikropoplaklarda hazırlanan McCoy hücre kültürleri kullanılmıştır. Hücre kültürlerinde *C.trachomatis* üremesi DFA ve iyot boyama yöntemleri ile doğrulanmıştır. Örneklerde *C.trachomatis* DNA varlığının araştırılması için ticari bir PCR yöntemi (*Chlamydia trachomatis* 330/740 IC; Sacace, İtalya) kullanılmıştır. Çalışmamızda, 50 sürüntü örneğinin 4 (%8)'ünde DFA ile, 1 (%2)'inde hücre kültürü ile ve 1 (%2)'inde de PCR ile pozitiflik saptanmıştır.

İletişim (Correspondence): Prof. Dr. Selma Gökahmetoğlu, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 38039 Talas, Kayseri, Türkiye. **Tel (Phone):** +90 352 437 4937, **E-posta (E-mail):** selmagk@gmail.com

Her üç yöntemle de pozitif bulunan tek örneğin, çalışmadaki erkek hastaya ait üretral sürüntü örneği olduğu izlenmiştir. Sadece DFA ile pozitifliğin saptandığı üç servikal sürüntü örneği ise yalancı pozitif olarak değerlendirilmiştir. Hücre kültürü referans olarak alındığında DFA yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %94; PCR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü %100 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, hücre kültürü altın standart olarak yerini korumakla birlikte, zaman alıcı olması ve uygulama güçlüğü nedeniyle daha hızlı ve güvenilir olan PCR yönteminin, koşullar ve olanaklar dahilinde, *C.trachomatis* enfeksiyonlarının tanısında kullanılabileceği düşünülmüştür. Rutin klinik laboratuvarlarda pratik ve ucuz olması nedeniyle tercih edilen DFA yönteminde ise, yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuçların önlenmesi açısından, örneğin kaliteli olmasına, değerlendirmenin deneyimli personel tarafından yapılmasına ve her çalışmada kalite kontrollerinin kullanılmasına özen gösterilmesi gerektiği akıldaki tutulmalıdır.

Anahtar sözcükler: *Chlamydia trachomatis*; genital enfeksiyon; tanı; immüno Floresans; PCR; hücre kültürü.

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis infection is considered the most prevalent bacterial sexually transmitted disease worldwide. *C.trachomatis* causes eye infections such as trachoma and newborn inclusion conjunctivitis, newborn pneumonia, genitourinary system infections and suppurative inguinal lymphadenitis namely lymphogranuloma venerum. The aim of this study was to investigate *C.trachomatis* by direct fluorescent antibody (DFA), polymerase chain reaction (PCR) and cell culture methods in the clinical samples sent to the microbiology laboratory with the prediagnosis of genital infections. A total of 50 swab samples obtained from adult patients (49 female, 1 male) who were admitted to Erciyes University Hospital, Kayseri, Turkey between February-March 2010, were included in the study. *C.trachomatis* antigens were investigated by a commercial DFA (PathoDx, Remel, USA) method. McCoy cell cultures prepared in microplate wells were used for the isolation of *C.trachomatis*. The growth of *C.trachomatis* in cell cultures was confirmed by DFA and iodine staining methods. *C.trachomatis* DNA was investigated by commercially available PCR (*Chlamydia trachomatis* 330/740 IC; Sacace, Italy) method. In our study, 4 (8%) of the 50 swab samples were found positive with DFA, 1 (2%) was positive with cell culture, and 1 (2%) was positive with PCR. The only sample that gave positive results with all of the three methods was an urethral swab. Three cervical swab samples that were found positive only with DFA method was evaluated as false positivity. When cell culture was considered as the reference method, the sensitivity and specificity of DFA method were estimated as 100% and 94%, respectively, while those rates for PCR were 100% and 100%, respectively. In conclusion, although cell culture is still the gold standard in the diagnosis of *C.trachomatis* infections, since it is time consuming and difficult to apply, more rapid and reliable PCR methods may be applied in diagnosis. DFA method which is practical and cheap, is preferred largely in routine laboratory practice. However, false negative and false positive DFA results should be prevented by the maintenance of good quality clinical specimens, evaluation of the test by experienced personnel and use of quality control samples in each run.

Key words: *Chlamydia trachomatis*; genital infection; diagnosis; immunofluorescence; PCR; cell culture.

GİRİŞ

Zorunlu hücre içi paraziti olan *Chlamydia trachomatis*, tüm dünyada en yaygın seksüel geçişli bakteriyel enfeksiyon ajanı olarak bilinir¹. Geniş bir klinik spektrumda hastalık oluşturabilen *C.trachomatis*, kronik keratokonjunktivit (trahom) ve yenidoğan inklüzyon konjunktiviti gibi göz enfeksiyonlarına; yenidoğanlarda pnömonilere; genitoüriner sistem enfeksiyonlarına ve süpüratif inguinal adenitle karakterize lenfogradülozma veneruma yol açabilmektedir¹. Kadınlarda genital *C.trachomatis* enfeksiyonlarının çoğu asemp-

tomatik olarak seyretmekte ancak pelvik inflamatuvar hastalık ve tübal infertiliteye kadar ilerleyebilmektedir².

C.trachomatis enfeksiyonlarının laboratuvar tanısı; kültür ve izolasyon, serolojik testlerle antijen ve antikor tespiti, sitolojik inceleme ile inklüzyon cisimciklerinin araştırılması ve moleküler yöntemlerle yapılmaktadır^{2,3}. Bu çalışmada, genital enfeksiyon ön tanısıyla mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen klinik örneklerde *C.trachomatis* varlığının, hücre kültürü, direkt floresan antikor (DFA) ve polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemleriyle araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Viroloji Laboratuvarında yapılan bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Araştırmaları Yerel Etik Kurulu onayı (4.11.2008 tarih ve 2008/548 no) ile gerçekleştirildi. Şubat-Mart 2010 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gevher Nesibe Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Poliklinikleri ile Üroloji Polikliniklerine genital akıntı ön tanısıyla başvuran ve genital enfeksiyon düşünülen 50 hastadan (49 kadın, 1 erkek) alınan sürüntü örneği çalışmaya dahil edildi. Genital akıntı ön tanı hastaların herbirinden ikişer adet steril plastik saplı dakron eküvyon ile üretral veya servikal sürüntü örnekleri alındı. Sürüntü örneklerinden birisi PCR ve DFA için, diğeri ise hücre kültüründe kullanılmak üzere *C.trachomatis* için özel taşıma besiyerine (Vircell, İspanya) koyularak -70°C'de saklandı.

Örneklerden nükleik asit izolasyonu QIAamp DNA Mini Kiti (Qiagen, Almanya) kullanılarak, kit prosedürüne uygun olarak çalışıldı. *C.trachomatis* DNA amplifikasyonu için "*Chlamydia trachomatis* 330/740 IC" (Sacace, İtalya) kiti ile termal döngü cihazında (GeneAmp PCR System 2700, Applied Biosystems) PCR uygulandı. PCR ürünleri jel elektroforezi ile değerlendirildi. Jel transilüminatörde UV ışık altında incelendi. Örnekler 330 baz çifti (bc) uzunluğunda olan pozitif kontrol ile aynı bölgede bant verdiğinde pozitif kabul edildi.

Sürüntü örneklerinde *C.trachomatis* antijeni, DFA (PathoDx, Remel, ABD) yöntemiyle kit prosedürüne uygun olarak araştırıldı. Teflon kaplı lam üzerindeki kuyucukta hücre dışında floresan veren en az 10 adet elementer cisim (EC) görüldüğünde test pozitif olarak değerlendirildi.

Klinik örneklerden *C.trachomatis* izolasyonu, McCoy hücre kültürleri (Vircell, İspanya) kullanılarak konvansiyonel yöntem ile yapıldı⁴. Kısaca; hücre kültürü şişelerinde tek tabaka olarak üretilen hücreler, 1 ml tripsin ile muamele edildi ve 5-10 dakika 37°C'de CO₂'li ortamda bekletilerek şişe yüzeyinden ve birbirlerinden ayrılımları sağlandı. Daha sonra 10 ml hücre üretim besiyeri (MEM Eagle besiyeri 500 ml, 200 mM L-glutamin 6 ml, fetal sıgır serumu 55 ml) şişeye ilave edildi ve pipetaj yapılarak homojen hücre süspansiyonu elde edildi. Hücre süspansiyonunun üzerine 20 ml hücre üretim besiyeri eklendi ve pipetaj yapılarak karıştırıldı. Bu süspansiyondan 24 kuyucuklu hücre kültürü plaklarının her kuyucuğuna 1'er ml dağıtıldı ve 37°C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edildi. Hücrele-

rin plak tabanını kaplayıp kaplamadığı invert mikroskopuyla kontrol edildi. Plak tabanı hücre ile kaplandıktan sonra, üreme besiyeri hücrelere zarar vermeden pipetle alındı ve 1'er ml eşit oranlarda her kuyucuğa izolasyon besiyeri eklendi. Muayene maddesi içeren taşıma besiyerleri iki dakika vorteklendi ve taşıma besiyerinden 500 µl alınarak hücre içeren kuyucuklara ekim yapıldı. Plaklar 37°C'de %5 CO₂'li ortamda üç gün inkübe edildi. Her gün invert mikroskopuyla hücreler incelendi ve günlük olarak izolasyon besiyeri değiştirildi. Hücre kuyucuklarının içindeki izolasyon besiyeri 72 saat sonra pipet yardımıyla boşaltıldı. Her kuyucuğa 500 µl PBS solüsyonundan eşit oranlarda eklendi ve plak tabanındaki hücreler ucu künt plastik pastör pipetleri ile kazınarak pipetaj yapıldı. Hazırlanan bu hücre süspansiyonunda DFA ve iyot boyama yöntemleriyle *C.trachomatis* antijenleri/inklüzyonları araştırıldı⁵.

Süspansiyon haline getirilen hücrelerde DFA yöntemi (PathoD_x Chlamydia Culture Confirmation Kit, Remel, ABD) kit prosedürüne göre uygulandı. Preparatlar floresan mikroskopunda 10x ve 40x objektifle incelenerek *C.trachomatis*'e özgü floresan veren inklüzyon antijenleri araştırıldı. Her alanda bir adet floresan veren hücre görüldüğünde test pozitif olarak değerlendirildi.

İyot boyama yönteminde; hücre süspansiyonundan hazırlanan yayma oda ısısında kurutulduktan sonra metanol ile fikse edildi ve üzerine iyot çözeltisi damlatılarak bir dakika bekletildi. Preparat su ile yıkanarak boya fazlası uzaklaştırıldı ve immersiyon yağı ile ışık mikroskopunda 100x objektifle incelendi. Değerlendirmede, sarı renkle boyanmış McCoy hücreleri içinde koyu kahverengi inklüzyonların görülmesi pozitif olarak kabul edildi.

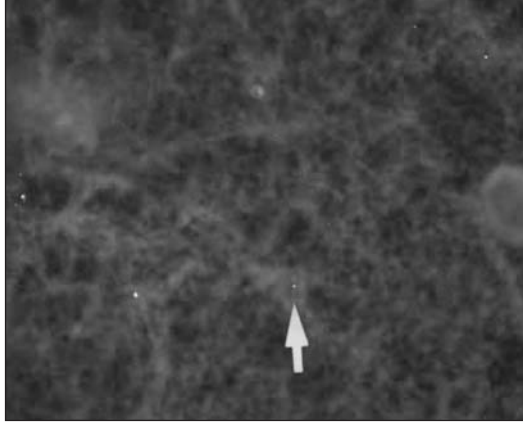
BULGULAR

Çalışmamızda, 49 servikal sürüntü örneğinin üçünde ve bir üretral sürüntü örneğinde olmak üzere toplam 50 örneğin 4 (%8)'ünde DFA ile *C.trachomatis* antijeni pozitif bulunmuştur (Resim 1). Hücre kültürüne ekimi yapılan genital sürüntü örneklerinin %2 (1/50)'sinde DFA ve iyot boyama yöntemiyle *C.trachomatis* antijen/inklüzyonları saptanmış; PCR ile çalışılan örneklerin de %2 (1/50)'sinde *C.trachomatis* DNA'sı pozitif bulunmuştur (Resim 2-4). Her üç yöntemle de pozitif bulunan örneğin üretral sürüntü örneği olduğu izlenmiştir. DFA yöntemi ile *C.trachomatis* antijeni pozitif bulunan üç servikal sürüntü örneğinde, hem PCR hem de hücre kültürü yöntemleri ile negatif sonuç alınmıştır (Tablo I).

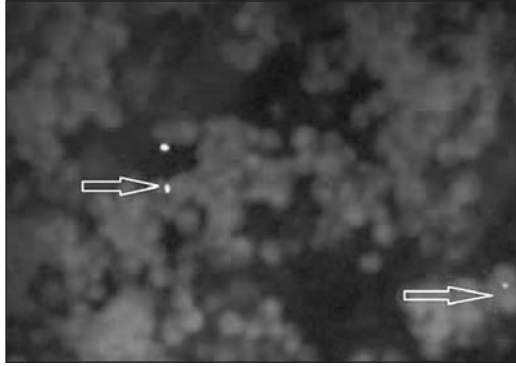
Hücre kültürü altın standart olarak kabul edildiğinde, DFA yönteminin duyarlılığı %100, özgüllüğü %94; PCR yönteminin duyarlılığı ve özgüllüğü ise %100 olarak bulunmuştur.

TARTIŞMA

Günümüzde cinsel yolla bulaşan bakteriyel hastalıklardan en yaygın olanı *C.trachomatis* enfeksiyonlarıdır. Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre, dünyada her yıl 50 milyondan fazla yeni *C.trachomatis* olgusunun ortaya çıktığını tahmin edilmekte, ancak kadınların çoğunda (> %50) alt genital sistem enfeksiyonlarının asemptomatik olması nedeniyle tanı konulamamaktadır². Ülkemizde İzmir bölgesinde DFA yöntemiyle yapılan çeşitli çalış-



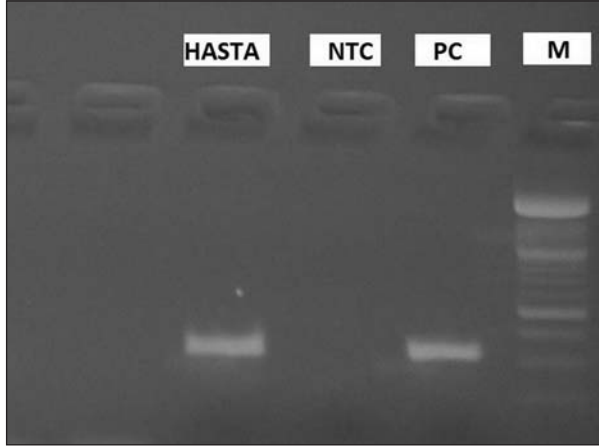
Resim 1. Üretral sürüntü örneğinde DFA yöntemiyle saptanan *C.trachomatis* antijen pozitifliği.



Resim 2. McCoy hücre kültüründe DFA yöntemiyle saptanan *C.trachomatis* antijen pozitifliği.



Resim 3. McCoy hücre kültüründe iyot boyama yöntemiyle saptanan *C.trachomatis* inklüzyon pozitifliği.



Resim 4. PCR sonucu üretral örnekte *C.trachomatis* DNA pozitifliği (NTC: Negatif kontrol, PC: Pozitif kontrol, M: Moleküler belirteç).

Tablo I. Sürüntü Örneklerinde DFA ve PCR Bulgularının Hücre Kültürü Bulgularıyla Karşılaştırılması

		Hücre Kültürü				Hücre Kültürü	
		Pozitif	Negatif			Pozitif	Negatif
DFA	Pozitif	1	3	PCR	Pozitif	1	-
	Negatif	-	46		Negatif	-	49

malarda, *C.trachomatis* enfeksiyon insidansının asemptomatik kadınlarda %23-27.3, semptomatik kadınlarda %32.4-42, infertil kadınlarda %8.5-11.5, hayat kadınlarında %25.4, konjunktivit olgularında ise %26.5 olduğu bildirilmektedir⁵⁻⁹. Ankara'da Özdağ ve arkadaşlarının¹⁰ çalışmasında, kadın hastalıkları kliniğine başvuran semptomatik ve asemptomatik kadınlarda *C.trachomatis* antijen pozitifliği DFA yöntemiyle %24.5 (49/200) olarak saptanmıştır. Ağaçfıdan'ın¹¹ İstanbul'da yaptığı çalışmada ise, risk grubundaki 560 olguya ait klinik örneklerde hücre kültürü yöntemi ile *C.trachomatis* varlığı araştırılmış; servikal örneklerde %19.2 (45/234), üretral örneklerde %15.2 (43/282) ve rektal örneklerde %18.2 (8/44) oranında pozitiflik saptanmıştır. Çiçek ve arkadaşlarının¹² Ege Bölgesinde semptomatik olgularda *C.trachomatis* prevalansını araştırmak için yaptıkları çalışmada, McCoy hücre dizisi ile shell-vial yöntemi kullanılmış ve erkek hastaların %20 (10/50)'sinden, kadın hastaların %20 (15/75)'sinden ve çocuk hastaların %30.8 (4/13)'inin konjunktival, %6.1 (12/195)'inin ise nazofarengeal örneklerinden *C.trachomatis* izole etmiştir. Bizim çalışmamızda, McCoy hücre kültürü yöntemiyle 50 genital sürüntü örneğinin 1 (%2)'inden *C.trachomatis* izole edilmiştir.

C.trachomatis enfeksiyonlarının tanısında DFA yöntemi, hızlı, pratik ve ekonomik olmakla birlikte, örneğin uygunluğu, kalitesi (epitel hücre içeriği) ve değerlendirmeyi yapan kişinin deneyimine bağlı olarak özgüllük ve duyarlılığı değişebilmektedir^{13,14}.

Schwebke ve arkadaşları¹⁵, majör dış membran proteinine (MOMP) özgül antikorların kullanıldığı bir DFA kitinin, hücre kültürüyle karşılaştırıldığında %99 duyarlılık ve %99.8 özgüllüğe sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ertem ve arkadaşları⁶ ise, semptomatik ve asemptomatik 93 kadından alınan endoservikal sürüntü örneğinde DFA yöntemiyle *C.trachomatis* pozitifliğini %34.4 olarak saptamışlar; yöntemin duyarlılık ve özgüllüğünü sırayla %50-96 ve %94-96 olarak rapor etmişlerdir. Dereli ve arkadaşları⁷, endoservikal örneklerde *C.trachomatis* tespitinde DFA yönteminin duyarlılığını semptomatik ve asemptomatik kadınlarda sırasıyla %84 ve %75, özgüllüğünü ise sırasıyla %89 ve %95 olarak bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda, MOMP'a özgül antikorların kullanıldığı DFA yönteminin duyarlılığı %100 ve özgüllüğü %94 olarak bulunmuş; olgu sayısının az olmasına rağmen verilerimizin diğer çalışmaların sonuçları ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Son yıllarda moleküler yöntemler, mikrobiyolojinin tüm alanlarında olduğu gibi *C.trachomatis* enfeksiyonlarının tanısında da hızlı ve duyarlı bir tanı aracı olarak kullanılmaktadır^{3,16}. Cheng ve arkadaşları¹⁷ asemptomatik 1138 erkeğin üretral sürüntü örneklerinde *C.trachomatis*'in araştırılmasında moleküler yöntemleri hücre kültürüyle karşılaştırmışlar ve PCR yönteminin hücre kültürüne kıyasla daha duyarlı, ancak özgüllüğün birbirine benzer olduğunu ifade etmişlerdir. Olafsson ve arkadaşları¹⁸, yüksek risk grubunda yer alan 203 kadının servikal sürüntü örneğinde McCoy hücre kültürü ve PCR yöntemleriyle, aynı hastaların idrar örneklerinde PCR yöntemiyle *C.trachomatis* varlığını araştırmışlar; servikal sürüntü örneklerinde hücre kültürü ve PCR yöntemlerinin duyarlılığını sırasıyla %87 ve %92, idrar örneklerinde PCR yönteminin duyarlılığını ise %95 olarak bildirmişlerdir. Goessens ve arkadaşları¹⁹, ilk akım idrar örneklerinde *C.trachomatis* varlığını farklı moleküler yöntemler (PCR, LCR, TMA) ile araştırmışlar; *C.trachomatis* prevalansını %7.7 olarak tespit etmişler ve tüm yöntemlerle özgüllüğün %99'dan fazla olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda, kriptik plazmid gen bölgesinin hedef alındığı PCR yönteminde duyarlılık ve özgüllük %100 olarak bulunmuştur.

Bu çalışmada, incelenen bir üretral sürüntü örneğinde hücre kültürü, PCR ve DFA yöntemleriyle *C.trachomatis* pozitif olarak bulunmuş; 49 servikal sürüntü örneğinin ise üçünde DFA yöntemiyle pozitiflik saptanmıştır. Bu örneklerde hücre kültürü ve PCR yöntemleri negatif sonuç verdiğinden, elde edilen DFA sonucu yalancı pozitiflik olarak yorumlanmıştır. Çalışmamızda, *C.trachomatis*'in hücre kültüründen izolasyonu üç gün sonra sonuçlanırken, DFA ve PCR yöntemleri çalışma başladığı gün birkaç saat içerisinde tamamlanmıştır. Sonuç olarak, hücre kültürü altın standart olarak yerini korumakla birlikte, uygun koşulların her zaman sağlanamaması ve uygulama güçlüğü nedeniyle daha hızlı, kolay ve güvenilir bir yöntem olan PCR'nin *C.trachomatis* enfeksiyonlarının laboratuvar tanısında -koşullar ve olanaklar dahilinde- kullanılabileceği düşünülmüştür. Rutin klinik laboratuvarlarda pratik ve ucuz olması nedeniyle tercih edilen DFA yönteminde ise, yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuçların önlenmesi açısından, örneğin kaliteli olması, değerlendirmenin deneyimli personel tarafından yapılmasına ve her çalışmada kalite kontrollerinin kullanılmasına özen gösterilmesi gerektiği akılda tutulmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Bébéar C, de Barbeyrac B. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. Clin Microbiol Infect 2009; 15(1): 4-10.
2. Land JA, Van Bergen JE, Morré SA, Postma MJ. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* infection in women and the cost-effectiveness of screening. Hum Reprod Update 2010; 16(2): 189-204.
3. Low N, McCarthy A, Macleod J, et al; Chlamydia Screening Studies Project Group. Epidemiological, social, diagnostic and economic evaluation of population screening for genital chlamydial infection. Health Technol Assess 2007; 11(8): iii-iv, ix-xii, 1-165.
4. Özüberk O. Klinik örneklerde çeşitli yöntemlerle *Chlamydia trachomatis* araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, 2011. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.
5. Ertem E, Dereli D, Serter D, Tavmergen E, Çapanoğlu R. İnfertil kadınlarda *Chlamydia trachomatis* insidansı. Türk Mikrobiyol Cem Derg 1991; 21: 47.
6. Ertem E, Dereli D, Yüce K. Screening for *Chlamydia trachomatis* in a Turkish population. Genito-urine Med 1991; 67(4): 354-5.
7. Dereli D, Ertem E, Serter D, Yüce K. Evaluation of a direct fluorescent antibody test for detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical specimens. Brief report. APMIS 1991; 99(10): 961-4.
8. Ertem E, Dereli D, Serter D, Engin Ö. İzmir genelevinde çalışan kadınlarda *Chlamydia trachomatis* araştırılması. Mikrobiyol Bul 1993; 27(4): 335-7.
9. Dereli D, Ertem E, Serter D, Köse S, Haznedaroğlu G. Konjunktival örneklerde *Chlamydia trachomatis* araştırılması. Mikrobiyol Bul 1993; 27(2): 127-30.
10. Özdağ D, Us D, Demirezen S, Beksaç S. Investigation of *Chlamydia trachomatis* positivity in women with and without gynecologic complaints by cytologic and direct immunofluorescence methods. Mikrobiyol Bul 2007; 41(1): 51-61.
11. Ağaçfıdan A. *Chlamydia trachomatis*'in McCoy hücre kültürleri yöntemi kullanarak izolasyonu. Türk Mikrobiyol Cem Derg 2000; 30(3-4): 114-20.
12. Çiçek C, Bilgiç A, Yaygın E ve ark. Semptomlu hastalarda *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonunun prevalansı. Enfeksiyon Derg 2006; 20(1): 27-30.
13. Chan EL. Laboratory testing for *Chlamydia trachomatis* urogenital infections. J Fam Plann Reprod Health Care 2002; 28(3): 153-4.
14. Swain GR, McDonald RA, Pfister JR, Gradus MS, Sedmak GV, Singh A. Decision analysis: point-of-care *Chlamydia* testing vs. laboratory-based methods. Clin Med Res 2004; 2(1): 29-35.
15. Schwebke JR, Stamm WE, Handsfield HH. Use of sequential enzyme immunoassay and direct fluorescent antibody tests for detection of *Chlamydia trachomatis* infections in women. J Clin Microbiol 1990; 28(11): 2473-6.
16. Harkins AL, Munson E. Molecular diagnosis of sexually transmitted *Chlamydia trachomatis* in the United States. ISRN Obstet Gynecol 2011; 2011: 279149.
17. Cheng H, Macaluso M, Vermund SH, Hook EW 3rd. Relative accuracy of nucleic acid amplification test and culture in detecting *Chlamydia* in asymptomatic men. J Clin Mic 2001; 39(11): 3927-37.
18. Olafsson JH, Davidsson S, Karlsson SM, Palsdottir R, Steingrimsen O. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection in high-risk females with PCR on first void urine. Acta Derm Venereol 1996; 76(3): 226-7.
19. Goessens WH, Mouton JW, van der Meijden WI, et al. Comparison of three commercially available amplification assays, AMP CT, LCx and COBAS AMPLICOR, for detection of *Chlamydia trachomatis* in first void urine. J Clin Microbiol 1997; 35(10): 2628-33.