

Alteraciones en la citología cervical y respuesta inmune contra *Chlamydia trachomatis* en trabajadoras sexuales.

María I. Camejo¹, Gloria Mata² y Marcos Díaz².

¹Departamento de Biología de Organismos, Universidad Simón Bolívar, Baruta y

²Unidad Sanitaria de Los Teques, Ministerio de Salud y Desarrollo Social.
Estado Miranda, Venezuela.

Palabras clave: Cervicitis, citología cervical, *Chlamydia trachomatis*, neoplasia intraepitelial cervical.

Resumen. Existen controversias en cuanto a la asociación entre infección por *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) y el desarrollo de neoplasia cervical. El objetivo del presente estudio fue evaluar la relación entre la presencia de anticuerpos contra la *C. trachomatis* de tipo IgG en suero e IgA en moco cervical y la prevalencia de modificaciones en citología cervical. Se evaluaron 166 mujeres trabajadoras sexuales, controladas en el servicio de Infecciones de Transmisión Sexual de la Unidad Sanitaria de los Teques, Estado Miranda, Venezuela. Fueron entrevistadas y evaluadas para cervicitis y se tomó muestras de moco cervical y sangre para la determinación de anticuerpos contra *C. trachomatis* de tipo IgA e IgG (ELISA). Se tomaron muestras cervicales y se estudiaron por coloración de Pap. Los resultados fueron evaluados estadísticamente (Chi cuadrado, Keldal Tau). La prevalencia de IgA contra *C. trachomatis* en moco cervical fue de 45,2% y la de IgG en suero sanguíneo fue de 69,3%. El 38,0% de las citologías cervicales fue reportada normal o con cambios inflamatorios leves, el 35,5% inflamación moderada, el 25,3% inflamación severa y un 1,2% presentó lesiones intraepiteliales escamosas de bajo grado (LIEBG). No se encontró correlación estadísticamente significativa entre la presencia de anticuerpos contra *C. trachomatis* (IgA e IgG) y la de cervicitis, ni con los resultados de la citología. En conclusión, no se observó asociación entre respuesta inmune contra *C. trachomatis* y resultados de la citología cervical ni la presencia de cervicitis. Sin embargo, la existencia de otras infecciones simultáneas pudiera haber interferido en la observación de una posible asociación entre estas variables.

Abnormal pap smears and immune response against *C. trachomatis* in a sexual workers.

Invest Clín 2003; 44(3): 319 - 326

Key words: Cervicitis, pap smears, *Chlamydia trachomatis*, cervical intraepithelial neoplasia.

Abstract. There are controversies about the relationship between *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) infections and development of cervical carcinoma. The objective of this investigation was to evaluate the relation between the presence of IgG against *C. trachomatis* in serum and IgA in cervical mucus with the prevalence of abnormalities in the Papanicolaou smears. One hundred sixty-six sexual workers were evaluated. They were checked up for sexual transmitted diseases (STD) at the "Unidad Sanitaria de Los Teques, Edo. Miranda". Sexual workers were interviewed and had a gynecological evaluation. Cervical mucus and peripheral blood samples were obtained to determine antibodies IgA and IgG against *C. trachomatis*. Cervical samples were taken to be evaluated by Papanicolaou staining. The association among the different variables was statistically evaluated (Chi squared and Kendal Tau). The prevalence of antibodies isotype IgA against *C. trachomatis* in cervical mucus was 45.2% and IgG in serum was 69.3%. Papanicolaou smear showed that 38% of women had normal or low inflammation grade, 35.5% moderate inflammation, 25.3% severe inflammation and 1.2% presented Low Grade Squamous Intraepithelial Lesion (LGSIL). There was no statistical correlation among presence of antibodies against *C. trachomatis*, presence of cervicitis and Papanicolaou smears. In conclusion we could not observe any relationships between immune response against *C. trachomatis*, cervicitis and Papanicolaou smears abnormalities. However, it is important to consider that other infections, that could be present simultaneously, could interfere in the interpretation of the results.

Recibido: 12-02-2003. Aceptado: 03-06-2003.

INTRODUCCIÓN

Algunas infecciones de transmisión sexual, como el Virus Papiloma Humano (VPH), han sido asociadas con lesiones pre-neoplásicas y malignas del cuello uterino (1, 2). Se ha propuesto que el VPH por sí solo no es suficiente para provocar lesiones malignas en el cuello uterino y que otras infecciones de transmisión sexual, tal como *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*), pudieran ejercer un papel permisivo para el

establecimiento de la malignidad; sin embargo, las investigaciones realizadas no muestran resultados concluyentes (3, 4).

La infección genital por *Chlamydia trachomatis* es la enfermedad de transmisión sexual más frecuente en los países desarrollados. Es responsable de la mayoría de los casos de enfermedad inflamatoria pélvica y puede provocar embarazo ectópico e infertilidad en la mujer, además, la transmisión perinatal de esta endobacteria puede causar conjuntivitis neonatal y neumonía (5, 6).

Algunos investigadores han evaluado la relación entre presencia de infección por *C. trachomatis* y resultados de la citología cervical (7-9); sin embargo, la asociación entre el desarrollo de una respuesta inmune local de anticuerpos isotipo IgA, contra *C. trachomatis* y su posible relación con los resultados del frotis de Papanicolaou no ha sido evaluada.

Algunas patologías asociadas con *C. trachomatis*, como la enfermedad pélvica inflamatoria y la oclusión de las trompas de Falopio, han sido vinculadas al desarrollo de una respuesta inmune por el huésped, más que a la presencia de la bacteria, tal como lo han reportado Mc Cormack y col. (10) quienes encontraron que las infecciones latentes por esta endobacteria podrían no causar mayores problemas. La infección por *C. trachomatis* se caracteriza por ser generalmente asintomática, lo que provoca cronicidad de la respuesta inmune, principalmente hacia las proteínas de choque térmico de 60 kDa (hsp-60) de la bacteria, la cual tiene una alta homología con la humana, favoreciendo la reactividad cruzada y la prolongación de la respuesta inmune aún cuando ya no esté presente la bacteria (11, 12).

Las trabajadoras sexuales son una población expuesta a un alto riesgo de padecer neoplasias intracervicales debido al temprano comienzo de las relaciones sexuales, múltiples parejas sexuales, patrón sexual promiscuo, contagio de infecciones de transmisión sexual (ITS) y bajo nivel socioeconómico (13).

La presente investigación tiene como propósito evaluar el efecto de la presencia de anticuerpos contra la *C. trachomatis* de tipo IgG en suero e IgA en moco cervical, sobre la prevalencia de alteraciones en la citología cervical, en una población de alto riesgo de contagio de infecciones de transmisión sexual, como son las trabajadoras sexuales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluaron 166 mujeres, trabajadoras sexuales, que acudieron al control sanitario en el servicio de Infecciones de Transmisión Sexual (ITS) de la Unidad Sanitaria de los Teques, Distrito Sanitario N° 1, con autorización de dicha institución, durante el período de abril a octubre de 1999, representando el 30% de la población evaluada durante ese año. La edad promedio de las mujeres fue de $29,9 \pm 8,4$ años (mínima 18 años; máxima 54 años). Previo consentimiento, las trabajadoras sexuales fueron entrevistadas, se les practicó un examen ginecológico donde se evaluó la presencia de cervicitis y se les tomó muestras de moco cervical y de sangre, para la posterior determinación de anticuerpos contra *C. trachomatis* de tipo IgA e IgG, respectivamente.

Adicionalmente, se tomaron muestras exocervicales y endocervical, las cuales fueron preparadas por el método estándar en lámina e inmediatamente fijadas. Posteriormente fueron teñidas por Papanicolaou y evaluadas por el personal del Laboratorio de citología patológica del Hospital Victorino Santaella, en Los Teques, Edo. Miranda. Los resultados del Papanicolaou fueron reportados siguiendo la nomenclatura Bethesda: células atípicas escamosas (ASCUS), lesiones escamosas intraepiteliales de bajo grado (LIEBG), lesiones escamosas intraepiteliales de alto grado (LIEAG). Además en el informe de la citología fueron incluidos los grados de inflamación observados: leve, moderado y severo.

Las muestras de suero fueron diluidas 1:256 y se evaluó la presencia de anticuerpos tipo IgG contra *Chlamydia trachomatis* por un análisis inmunoabsorbente ligado a enzimas (Sero ELISA, Savyon Diagnostic, Beer-Sheva, Israel). Las muestras de moco cervical fueron diluidas 1:4 con Buffer fosfa-

to salino (PBS) y se evaluó la presencia de anticuerpos tipo IgA contra *C. trachomatis* por ELISA (Sero ELISA, Savyon Diagnostic, Beer-Sheva, Israel). Las placas, de Sero ELISA, recubiertas con lipolisacáridos de membrana plasmática de *C. trachomatis* fueron incubadas con las muestras diluidas de suero o moco cervical, respectivamente. Simultáneamente se colocaron los controles en los pozos respectivos: positivo, positivo bajo y negativo. Se realizó el ensayo siguiendo las instrucciones del fabricante. Se leyó la absorbancia a 405 nm en un lector de ELISA (BioTek Instrument INC, EL_x800 UV). Los puntos de corte (cut off) se determinaron basándose en la absorbancia de los controles.

Se realizó un análisis estadístico por *Chi* cuadrado para evaluar la relación entre los hallazgos citológicos con la presencia de anticuerpos séricos contra *C. trachomatis* (IgG) o locales en el moco cervical (IgA) contra *C. trachomatis*. Además se aplicó un análisis de correlación de Kendal Tau (test no paramétrico) entre las variables evaluadas.

RESULTADOS

La prevalencia de anticuerpos isotipo IgA contra *C. trachomatis* en moco cervical fue de 45,2% y la de IgG en suero sanguíneo 69,3%. Al evaluar la presencia de IgA y/o IgG en cada una de las mujeres se determinó que un 81,3% eran positivas para al menos uno de estos anticuerpos (Tabla I). Estos resultados indican que sólo un pequeño porcentaje de mujeres (18,7%) fueron negativas para anticuerpos anti-*Chlamydia trachomatis* de tipo IgG e IgA.

Los resultados de la citología cervical se muestran en la Tabla II. La mayor parte de mujeres presentó una citología con resultados normales o con un grado inflamatorio leve. Se observaron dos casos con lesiones intraepiteliales de bajo grado.

TABLA I
PREVALENCIA DE ANTICUERPOS
CONTRA *C. trachomatis* EN SUERO (IgG)
Y/O MOCO CERVICAL (IgA)
(n=166)

| Anticuerpos anti- <i>C. Trachomatis</i> | Prevalencia (%) |
|--|-----------------|
| IgA anti- <i>C. trachomatis</i> Moco Cervical | 45,2 |
| IgG anti- <i>C. trachomatis</i> Suero Sanguíneo | 69,3 |
| Prevalencia total de anticuerpos (IgA y/o IgG anti- <i>C. Trachomatis</i>) | 81,3 |

TABLA II
CITOLOGÍA CERVICAL EN UN GRUPO
DE TRABAJADORAS SEXUALES
(n=166)

| Resultados del Papanicolau | Prevalencia (%) |
|--|-----------------|
| Normal o Inflamatorio leve (n=63) | 38,0 |
| Inflamatorio Moderado (n=59) | 35,5 |
| Inflamatorio Severo (n=42) | 25,3 |
| Lesión Intraepitelial de bajo grado (LIEBG) (n=2) | 1,2 |

Los resultados de anticuerpos contra *C. trachomatis* fueron clasificados en cuatro grupos: 1-mujeres que no presentaron anticuerpos contra *C. trachomatis*, 2-pacientes con IgA anti *C. trachomatis* positivos, 3-trabajadoras sexuales con IgG e IgA positivos y 4-mujeres con IgG anti *C. trachomatis* presentes. En la Tabla III se presentan los resultados de la presencia de cervicitis en relación con *C. trachomatis*. No se observó correlación estadísticamente significativa entre la cervicitis y la presencia de IgG (suero) o IgA (moco cervical) contra *C. tra-*

TABLA III
PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *C. trachomatis* EN MOCO CERVICAL (IgA) Y SUERO SANGUÍNEO (IgG) Y SU RELACIÓN CON LOS RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA CERVICAL (n=166)

| Cervicitis | Anticuerpos contra <i>C. trachomatis</i> | | | |
|------------------|--|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | IgA Negativo IgG Negativo % | IgA Positivo IgG Negativo % | IgA Positivo IgG Positivo % | IgA Negativo IgG Positivo % |
| Presente (n=101) | 17,8 | 11,9 | 32,7 | 37,6 |
| Ausente (n=65) | 20,0 | 12,3 | 33,8 | 33,8 |

No se observó asociación, estadísticamente significativa, entre los resultados de la citología y cervicitis.

TABLA IV
PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA *C. trachomatis* EN MOCO CERVICAL (IgA) Y SUERO SANGUÍNEO (IgG) Y SU RELACIÓN CON LOS RESULTADOS DE LA CITOLOGÍA CERVICAL (n=166)

| Citología | Anticuerpos contra <i>C. trachomatis</i> | | | |
|--|--|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | IgA Negativo IgG Negativo % | IgA Positivo IgG Negativo % | IgA Positivo IgG Positivo % | IgA Negativo IgG Positivo % |
| Normal e Inflamatorio leve (n=63) | 12,7 | 7,9 | 36,5 | 42,9 |
| Inflamatorio Moderado (n=59) | 18,6 | 18,6 | 33,9 | 28,9 |
| Inflamatorio Severo (n=42) | 23,8 | 9,5 | 28,6 | 38,1 |
| Lesión Intraepitelial de bajo grado (LGIL) (n=2) | 66,6 | 0 | 16,7 | 16,7 |

No se observó asociación, estadísticamente significativa, entre los resultados de la citología y la presencia de anticuerpos contra *C. trachomatis*.

chomatis en los diferentes grupos. Por otra parte, en la Tabla IV se presentan los resultados de la prevalencia de anticuerpos contra *C. trachomatis* en relación con los resultados de la citología cervical, no observándose asociación estadísticamente significativa entre las dos variables.

DISCUSIÓN

El papel de la infección genital por *C. trachomatis* como factor de riesgo para el

desarrollo de neoplasia cervical ha sido controversial. Parte del problema ha surgido por la utilización de técnicas muy diversas para determinar la presencia de *C. trachomatis* en los diversos estudios donde se trata de correlacionar la presencia de esta endobacteria con los resultados del Papanicolaou. Entre estas técnicas están el cultivo, PCR (14) las técnicas serológicas y cambios en el frotis de Papanicolaou asociados a la presencia de *C. trachomatis*, los cuales han sido encontrados como inespecíficos y de

bajo poder predictivo de la presencia de *C. trachomatis* (15-17).

En el presente trabajo se evaluó tanto la respuesta inmune local en moco cervical (IgA) como en suero (IgG), contra *C. trachomatis*, observándose diferencias entre ambos resultados. La discrepancia entre la presencia de IgG en suero e IgA en moco cervical podría explicarse de la siguiente forma: *C. trachomatis* ingresa en el organismo durante el contacto sexual alcanzando el cuello uterino, donde se desarrollará inicialmente una respuesta inmune de tipo mucosal con un predominio de anticuerpos de tipo IgA. Si la infección no es eliminada, la bacteria podría permanecer en la parte baja del tracto reproductor o continuar su ascenso hacia el tracto genital superior como es cavidad endometrial y trompas de Falopio (18), desarrollando en ambos casos una respuesta inmune que involucra inicialmente anticuerpos séricos tipo IgM y posteriormente tipo IgG. Por ese motivo, en un momento de la infección podrían estar presentes anticuerpos tipo IgA en moco cervical y de tipo IgG en suero. Finalmente, si la bacteria es eliminada, ya sea por el propio organismo o por el uso de antibióticos, la respuesta inmune de tipo IgA tenderá a desaparecer por la carencia del estímulo antigénico (19); sin embargo, los anticuerpos tipo IgG en sangre podrían permanecer por años.

En el presente estudio, las pacientes con anticuerpos IgG positivos en sangre (37,6%) representaron mujeres con infección a *C. trachomatis* en el pasado, la cual, fue superada. La presencia simultánea de IgG en suero e IgA en moco cervical podría sugerir que la mujer presenta una infección en desarrollo, ya sea en etapa de cronicidad o en etapa de superación de la misma (32,7%), mientras que la presencia exclusiva de IgA en moco cervical (11,9%) indicaría que la mujer ha adquirido la infección recientemente. La mayoría de los estudios que se han realizado para evaluar la rela-

ción entre NIC y la *C. trachomatis* se basan en la presencia de IgG en suero; en los mismos, al igual que en la presente investigación, no encontró ninguna asociación entre estas dos variables (20, 21).

En este estudio no se encontró correlación entre la presencia de anticuerpos contra *C. trachomatis* (IgA e IgG) y la presencia de cervicitis. Tampoco se apreció asociación entre el grado de inflamación observado en la citología con la respuesta inmune hacia *C. trachomatis* de tipo IgG o IgA. Se ha descrito que los grados inflamatorios observados en la citología cervical, tienen un bajo nivel predictivo de la presencia de patógenos en la mujer con infecciones asintomáticas (15).

Smith y col. (22) correlacionaron anticuerpos séricos contra *C. trachomatis* y los resultados de la citología cervical, indicando que esta bacteria podría ser un cofactor del Virus de Papiloma Humano en el desarrollo del cáncer escamoso cervical y proponen que este efecto puede estar mediado por una inflamación crónica provocada por *C. trachomatis* (22). Koskela y col. (23), en un estudio prospectivo de tipo caso-control, utilizando una cohorte que fue evaluada durante cinco años, determinaron que la presencia de anticuerpos IgG contra *C. trachomatis* aumenta el riesgo de presentar cáncer cervical.

En la presente investigación no se observó asociación entre los resultados de la citología y la presencia de IgG e IgA contra *C. trachomatis*. Estos resultados coinciden con lo observado por otros autores (7,8). Sin embargo, dado que las trabajadoras sexuales son una población de alto riesgo de adquirir ITS, la probabilidad de la co-existencia de otras infecciones de transmisión sexual es elevada, lo cual podría dificultar la interpretación de los resultados de la citología, ya que estas infecciones son capaces de provocar procesos inflamatorios en el cuello uterino los cuales se reflejan en la citología

vaginal en asociación o no con la *C. trachomatis*. Esto podría estar ocasionando cervicitis o diferentes grados de inflamación en el Papanicolaou de forma simultánea o no con *C. trachomatis* y dificultar la determinación de la posible relación entre *C. trachomatis* y los resultados de la citología.

Recientemente Zenilman (24) ha sugerido que ciertos isotipos de *C. trachomatis* tienen una mayor probabilidad de provocar el desarrollo de neoplasia intracervical (24), tal es el caso de los serotipos D, E e I. Anttila y col. (25) encontraron una fuerte asociación entre anticuerpos séricos contra *C. trachomatis* de serotipo G y el desarrollo de cáncer cervical de las células escamosas. Si los isotipos de *C. trachomatis* presentes en la muestra en el presente estudio, no son del tipo asociado con neoplasias cervical es de esperarse no observar correlación; sin embargo, ese aspecto no fue evaluado.

En conclusión, no se observó asociación entre la presencia de IgA contra *C. trachomatis* en moco cervical o IgG en suero sanguíneo con los resultados de la citología cervical ni con la presencia de cervicitis. Sin embargo, dado que esta población es de alto riesgo de adquirir ITS, la presencia de otras infecciones que puedan causar inflamación y/o cervicitis pudieran haber dificultando la detección de la posible asociación entre estas variables. En futuras investigaciones es necesario tomar en cuenta los isotipos de *C. trachomatis* que han sido asociados con neoplasia intracervical (25), lo que podría ayudar a interpretar la posible relación entre infección por esta endobacteria y alteraciones en la citología cervical.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo del Fondo Nacional Ciencia, Tecnología e Innovación (FONACIT) N° 99000190, Caracas, Venezuela, por el financiamiento parcial de este trabajo.

REFERENCIAS

1. Schiffman MH. Recent progress in defining the epidemiology of human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *N Engl J Med* 1992; 310:880-883.
2. Cannistra SA, Niloff JM. Cancer of the uterine cervix. *N Engl J Med* 1996; 334: 1030-1038.
3. Claas EC, Melchers WJ, Niesters HG, van Muyden R, Stolz E, Quint WG. Infections of the cervical uteri with human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis*. *J Med Virol* 1992; 37:54-57.
4. Tamim H, Finan RR, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Cervicovaginal coinfections with human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43:277-281
5. Pavonen J. Genital *Chlamydia trachomatis* infections of the female. *J Infect* 1992; 25: 39-45.
6. Westrom L. *Chlamydia* and its effects on reproduction. *J British Fertil Soc.* 1996; 1: 23-30.
7. Ecker LO, Koutsky LA, Kiviat NB, Krone MR, Stevens CE, Eschenbach DA. The inflammatory Papanicolaou smears: what does it mean? *Obstet Gynecol* 1995; 86:360-366.
8. Edelman M, Fx A, Alderman E, Neal W, Shapiro A, Silver EJ, Spigland I, Suhrland MJ. Cervical Papanicolaou Smear abnormalities and *Chlamydia trachomatis* in sexually active adolescent females. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 2000; 13:65-69.
9. Paler RJ, Simpson DR, Kaye AM, Gunn S, Felix JC. The relationship of inflammation in the papanicolaou smear to *Chlamydia trachomatis* infection in high-risk population. *Contraception* 2000; 61:231-234
10. Mc Cormack WM, Alpert S, McComb DE, et al. Fifteen-month follow-up study of women with *Chlamydia trachomatis*. *N Engl J Med* 1979; 300:123-125.
11. Domeika M, Domeika K, Paavonen J, Mardh P-A. Humoral immune response to conserved epitopes of *Chlamydia trachomatis* and human 60-kDa Heat-Shock protein in women with pelvic inflammatory disease. *J infect Diseases* 1998; 77:714-719.

12. Morrison RP, Maning DS, Cadwell HD. Immunology of *Chlamydia trachomatis* infections. Immunoprotective and immunopathogenic responses. In: Quinn TC ed. Sexually transmitted diseases. New York: Raven Press, 1992, p57-84.
13. Núñez JT, Delgado M, Pino G, Girón H, Bolet B. Cyto-colpo-histological Study in sexual workers. J Lower Gen Tract Dis 2001; 5: 208-211
14. Finan RR, Tamim H, Almawi WY. Identification of *Chlamydia trachomatis* DNA in human papilloma virus (HPV) positive women with normal and abnormal cytology. Arch Gynecol Obstet 2002; 266:168-171.
15. Bertolino JG, Rangel JE, Blake RL, Silverstein D, Ingram E. Inflammation on the cervical Papanicolou smear: the predictive value for infection in asymptomatic women. Fam Med 1992; 24:447-452
16. Dimian C, Nayagan M, Bradbeer C. The association between sexually transmitted diseases and inflammatory cervical cytology. Genitourin Med 1992; 68:305-306
17. Henry MR, de Mesy Jensen KL, Skoglund CD, Armstrong DW 3rd. *Chlamydia trachomatis* in routine cervical smears. A microscopic and ultrastructural analysis. Acta Cytol 1993; 37:343-352
18. McCormack WM. Pelvic inflammatory disease. N Engl J Med 1994; 330:115-119.
19. Abbas A, Lichtman AH and Pober JS. Inmunología celular y Molecular 4ta edición McGraw Hill. Madrid, 2002, p 237-239.
20. Schacter J, Hill EC, King EB, Heilbron DC, Ray RM, Margolis AJ, Greenwood SA. Chlamydia trachomatis and cervical neoplasia. JAMA 1982; 248:2134-2138
21. Paavonen J, Vesterinen E, Meyer B, Saikku P, Suni J, Purola E, Saksela E. Genital *Chlamydia trachomatis* infections in patients with cervical atypia. Obstet Gynecol 1979; 54:289-291
22. Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, Bosch FX, Walboomers JM, Peeling RW. Evidence for *Chlamydia trachomatis* as human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. J Infect Dis 2002; 185:324-331.
23. Koskela P, Anttila T, Borge T, Brunsvig A, Dillner J, Hakama M, Hakulinen T, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Loustarinen T, Pukkala E, Saikku P, Thorensen S, Youngman L, Paavonen J. *Chlamydia trachomatis* infection as a risk factor for invasive cervical cancer. Int J Cancer 2000; 85:35-39
24. Zenilman JM. *Chlamydia* and cervical cancer a real association? JAMA 2001; 285: 81-83
25. Anttila T, Saikku P, Koskela P, Bloigu A, Dillner J, Ikaheimo I, Jellum E, Lehtinen M, Lenner P, Hakulinen T, Narvanen A, Pukkala E, Thorensen S, Youngman L, Paavonen J. Serotypes of *Chlamydia trachomatis* and risk for development of cervical squamous cell carcinoma. JAMA 2001; 285:47-51.