

## فراوانی عفونت با کلامیدیا تراکوماتیس در زنان نابارور و بارور با دو روش سرولوژی و مولکولی

بتول رشیدی (M.D.)<sup>۱</sup>، لیلی چمنی تبریز (M.D.)<sup>۲</sup>، فدیة حق اللہی (M.Sc.)<sup>۱</sup>، فاطمه رمضانزاده (M.D.)<sup>۱</sup>، مامک شریعت (M.D.)<sup>۲</sup>، عباس رحیمی‌فروشانی (Ph.D.)<sup>۳</sup>، فائزہ دانشجو (B.Sc.)<sup>۴</sup>، محمدمهدی آخوندی (Ph.D.)<sup>۵</sup>، سهیلا عسگری (B.Sc.)<sup>۵</sup>

- ۱- مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر (عج)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران، تهران، ایران
- ۲- پژوهشکده بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی-ابن‌سینا، تهران، ایران
- ۳- مرکز تحقیقات مادر-کودک-جنین، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران، تهران، ایران
- ۴- گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران، تهران، ایران
- ۵- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران- واحد بین‌الملل، کیش، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** کلامیدیا تراکوماتیس، یکی از شایع‌ترین عوامل باکتریایی بیماری‌های مقاربتی در جهان می‌باشد و شواهد گسترده‌ای مبنی بر بسته شدن لوله‌ها، متعاقب ابتلا به عفونت‌های کلامیدیایی وجود دارد. حدود ۸۰٪ زنان مبتلا به عفونت این باکتری بدون علامت بوده؛ ولی عفونت‌های بالا رونده به صورت PID و متعاقب آن، ناباروری در خانم‌های مبتلا به کلامیدیا شایع می‌باشد. با توجه به نقش اساسی عفونت کلامیدیا تراکوماتیس در زمینه ناباروری لوله‌ای و دردهای مزمن لگنی، مطالعه حاضر طراحی شد تا با توجه به فراوانی این عفونت در زنان نابارور و مقایسه آن با زنان باردار، اهمیت غربالگری عفونت در انواع مختلف ناباروری ارزیابی شده و بعلاوه دو تست سرولوژی و الایزا از نظر تشخیص عفونت کلامیدیایی مورد مقایسه قرار گیرند.

**روش بررسی:** در مطالعه حاضر، ۲۳۳ زن نابارور مراجعه‌کننده به درمانگاه ناباروری بیمارستان ولیعصر (عج) و ۲۲۵ زن باردار مراجعه‌کننده به درمانگاه پره‌ناتال بیمارستان امام خمینی (ره) و اورژانس زایمان، انتخاب شدند. از هر داوطلب شرکت در مطالعه، پس از تکمیل پرسشنامه، ۲ml نمونه خون جهت بررسی آنتی‌بادی کلامیدیا روش (الایزا) و ۱۰ml نمونه اول ادرار جهت انجام PCR، جمع‌آوری شد. اطلاعات پرسشنامه‌ها همراه با نتایج آزمایشات PCR و الایزا، مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. جهت آنالیز داده‌ها، از آزمون‌های آماری  $\chi^2$ ، تست دقیق فیشر، تی مستقل و رگرسیون لجستیک چندگانه، با سطح معنی‌داری ۵٪ استفاده شد.

**نتایج:** آزمایش PCR، در ۲۹ مورد (۱۳/۸٪) از افراد نابارور و ۱۹ مورد (۱۱/۱٪) از زنان باردار، مثبت گزارش شده است که این اختلاف معنی‌دار نبود. موارد مثبت وجود IgG علیه کلامیدیا به روش الایزا، در زنان نابارور ۲۰ مورد (۸/۶٪) و در زنان باردار ۱۱ مورد (۴/۹٪) و افزایش IgM ۲ مورد در زنان نابارور (۰/۹٪) و ۴ مورد در زنان باردار (۱/۸٪) مشاهده شد که میزان تیتراژ مثبت برای دو گروه علیه کلامیدیا و نیز بین سرم و ادرار اختلاف معنی‌داری نداشت.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد فراوانی عفونت با کلامیدیا (برمبنای IgG، IgM و آزمایش PCR) در زنان نابارور و باردار، از نظر آماری یکسان می‌باشد. نتایج حاکی از آن است که به واسطه حساسیت و ویژگی بالای روش‌های مولکولی تشخیص عوامل بیماری‌های عفونی می‌توان به آسانی از نمونه ادرار به عنوان یک روش غیرتهاجمی، به جای نمونه خون که یک روش تهاجمی است، برای غربالگری گونه‌های کلامیدیا به ویژه کلامیدیا تراکوماتیس استفاده نمود.

**کلیدواژگان:** بارور، روش‌های مولکولی، سرولوژی، عفونت‌های منتقله از راه تماس جنسی، کلامیدیا تراکوماتیس، نابارور.

**مسئول مکاتبه:** دکتر لیلی چمنی تبریز، پژوهشکده بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی-ابن‌سینا، انتهای بلوار داخل دانشگاه، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۱۷۷-۱۹۶۱۵.

پست الکترونیک: lchamani@avicenna.ac.ir

دریافت: ۸۷/۱۰/۱ پذیرش: ۸۷/۱۲/۱۸

## Prevalence of *Chlamydia trachomatis* Infection in Fertile and Infertile Women; A Molecular and Serological Study

Rashidi, Batool (M.D.)<sup>1</sup>; Chamani Tabriz, Leili\* (M.D., M.P.H.)<sup>2</sup>; Haghollahi, Fedyeh (M.Sc.)<sup>1</sup>; Ramezanzadeh, Fatemeh (M.D.)<sup>1</sup>; Shariat, Mamak (M.D.)<sup>3</sup>; Rahimi Forooshani, Abbas (Ph.D.)<sup>4</sup>; Daneshjoo, Faezeh (B.Sc.)<sup>2</sup>; Akhondi, Mohammad Mehdi (Ph.D.)<sup>2</sup>; Asgari, Soheila (B.Sc.)<sup>2,5</sup>

1. Vali-e-Asr Reproductive Health Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2. Reproductive Biotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, ACECR, Tehran, Iran.

3. Maternal-Fetal-Neonatal Health Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4. Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

5. M.Sc. Student, Department of Biostatistics and Epidemiology, International Branch of Tehran University of Medical Sciences, Kish Island, Iran.

### Abstract

**Introduction:** *Chlamydia trachomatis* is one of the most common sexually transmitted infections (STIs) in the world. About 80% of the infected women are asymptomatic, while ascending infections such as pelvic inflammatory disease (PID) and the resultant infertility due to fallopian tube occlusion are common manifestations. Due to the higher prevalence of *C. trachomatis* infection in infertile than fertile women and the importance of screening for this infection in different types of infertility, this study was undertaken to compare two serologic and ELISA methods for the diagnosis of the bacteria in the two groups.

**Materials and Methods:** In this cross-sectional study, the participants included 233 infertile women attending Vali-e-Asr Infertility Clinic and 225 fertile women attending the Prenatal Clinic and Emergency Labor of Imam Khomeini Hospital. Each participant completed a researcher-devised questionnaire and subsequently 2 mls of peripheral blood for serological studies and 15 ml of the first catch urine (FCU) for molecular detection of the germ through Polymerase Chain Reaction (PCR) method were obtained.

**Results:** PCR results showed *C. trachomatis* infection in 29 (13.8%) infertile and 19 (11.1%) pregnant participants with no significant statistical differences. Serological results showed presence of *Chlamydia* IgG in 20 (8.6%) infertile and 11 (4.9%) fertile participants and *Chlamydia* IgM was observed in 2 (0.9%) infertile and 4 (1.8%) fertile participants with no significant differences.

**Conclusion:** The prevalence of *C. trachomatis* infection among fertile and infertile women by serological and molecular methods was not significantly different. However, considering the high specificity and sensitivity of PCR, it could be used as a noninvasive screening technique for *C. trachomatis*, compared to the invasive method of blood sampling.

**Key Words:** *Chlamydia trachomatis*, Infertility, Polymerase Chain Reaction (PCR), Pregnancy, Serology, Sexually Transmitted Infection (STI), Tubal occlusion.

\* **Corresponding Author:** Leili Chamani Tabriz, Reproductive Biotechnology Research Center, Avicenna Research Institute, Shahid Beheshti University, Velenjak, Tehran, Iran. P.O. Box 19615-1177.

**E-mail:** lchamani@avicenna.ac.ir

**Received:** Dec 21, 2008; **Accepted:** Mar 8, 2009

## زمینه و هدف

کلامیدیا تراکوماتیس یک باکتری کوکویید کوچک ( $0.2-1.0 \mu m$ )، گرم منفی و بی حرکت است و به صورت انگل اجباری در درون سلولهای بدن انسان و حیوانات زندگی می کند (۱). عفونت کلامیدیایی، یکی از شایع ترین بیماری های منتقله جنسی در سراسر جهان می باشد که از سال ۱۹۹۶ سالانه حدود ۲۰٪ به جمع مبتلایان به آن افزوده می شود (۲) بطور تخمینی، در ایالت متحده آمریکا هر سال تا ۴ میلیون نفر به عفونت های کلامیدیایی مبتلا می شوند (۳).

عوارض ناشی از این عفونت، به صورت ناباروری و بارداری خارج از رحم در زنان و اپیدیمیت در مردان بروز می نماید و بیش از ۵۰٪ زنان و ۸۰٪ مردان مبتلا به عفونت کلامیدیایی، بدون علامت هستند که درصد بالای عفونت های بدون علامت، باعث اشاعه ناقلین بسیار زیادی در جامعه می گردد که ناآگاهانه این عامل بیماری را به شرکای جنسی خود انتقال می دهند (۱،۳). اهمیت کلامیدیا تراکوماتیس در مامایی، بخاطر توانایی این میکروارگانیسم در ایجاد سرویسیت، پارگی زودرس کیسه آب، زایمان زودرس و عفونت نوزادی در زمان عبور نوزاد از کانال زایمان می باشد (۴). دو ارگانیسم شایع در ایجاد PID<sup>۱</sup> شامل کلامیدیا و گنوره، جدی ترین عوارض دراز مدت را با واسطه ایجاد چسبندگی ناشی از واکنش های ایمنولوژیک نسبت به عفونت های دیگر ایجاد می نمایند که این خود منجر به کاهش باروری، ایجاد ناباروری، بارداری خارج رحمی و درد مزمن لگن می شود (۱).

از جمله روش های مورد استفاده برای شناسایی کلامیدیا، آزمایش مولکولی PCR روی نمونه ادرار و تعیین غلظت یا تیترا آنتی بادی کلامیدیا در سرم (سرولوژی) می باشد که حساسیت آزمون PCR ۹۸/۲٪ گزارش شده است. این تست تا سه ماه پس از درمان

هم ممکن است مثبت شود (۵،۶،۷). از طرف دیگر حساسیت آزمون الایزا (IgA, IgG)، جهت تشخیص عفونت کلامیدیایی ۵۳٪ گزارش شده است (۷). روش های سرولوژیکی به تنهایی حساسیت بالایی نداشته و همراه کردن آن با روش های مولکولی، تشخیص دقیق تری را در اختیار قرار می دهد (۷-۹) که روش PCR با نمونه گیری از جریان اول ادرار صبحگاهی در موارد عفونت حاد، توصیه می شود؛ در صورتی که استفاده از آزمون الایزا یا ایمونوفلورسانس جهت تعیین IgA و IgG در موارد عفونت مزمن، کمک کننده خواهد بود.

در حال حاضر شیوع عفونت کلامیدیایی در جهان رو به افزایش است و با توجه به هزینه درمان عوارض عفونت های کلامیدیایی که سالانه در آمریکا، بیش از ۲ میلیون دلار تخمین زده می شود و از آنجا که هزینه تشخیص در مقایسه با هزینه درمان عوارض عفونت بسیار ناچیز و جزئی می باشد، لذا غربالگری و درمان به موقع، باعث کاهش شیوع عفونت دستگاه تولیدمثل شده و از هزینه درمان این بیماری خواهد کاست (۳).

مطالعه حاضر با توجه به نقش اساسی عفونت کلامیدیا تراکوماتیس در زمینه ناباروری و دردهای مزمن لگنی طراحی شد تا با توجه به فراوانی این عفونت در زنان نابارور و مقایسه آن با زنان باردار، اهمیت غربالگری عفونت در انواع مختلف ناباروری ارزیابی شده و بعلاوه دو تست سرولوژی و الایزا از نظر تشخیص عفونت کلامیدیایی مورد مقایسه قرار گیرند.

## روش بررسی

در این مطالعه مقطعی، ۲۳۳ زن نابارور مراجعه کننده به درمانگاه ناباروری بیمارستان ولیعصر و ۲۲۵ زن باردار مراجعه کننده به بخش زایمان و درمانگاه زنان بیمارستان امام خمینی (ره) برای مقایسه، بررسی شدند. نحوه تشخیص زنان نابارور بنا به تعریف، شامل

1- Pelvic Inflammatory Disease (or disorder)

انتقال یافت و استخراج DNA روی نمونه‌ها براساس روش Russe و Sambrook (5) و طبق مراحل ذیل انجام پذیرفت:

۱ml بافر PBS<sup>۳</sup> به رسوب نمونه ادراری اضافه و با پیپت پاستور مخلوط گردید و به مدت ۱۰min با سرعت ۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی تخلیه و ۳۰۰μl بافر TES<sup>۴</sup> به همراه ۷۰μl محلول ۱۰% SDS<sup>۵</sup> اضافه گردید. سپس ۲۵μl پروتئیناز k (۱۰mg/ml) به رسوب اضافه شده و پس از آن، محلول مورد نظر به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۶°C انکوبه گردید. در مرحله بعد به مقدار ۲۵۰μl محلول NaCl اشباع به آن افزوده و به مدت ۵min با دور ۳۵۰۰rpm سانتریفوژ گردید. پس از انتقال محلول فوقانی به میکروتیوپ‌های جدید، ۳۰۰μl ایزوپروپانل به آنها اضافه و به آرامی مخلوط گردید (بهتر است الکل سرد باشد تا کلاف DNA ظاهر گردد). مجدداً مخلوط حاصل به مدت ۱۰min با دور ۱۰۰۰۰RPM سانتریفوژ و محلول رویی تخلیه و رسوب حاصل با ۵۰۰μl اتانل ۷۰% شستشو داده شد (سانتریفوژ ۱۰۰۰۰ rpm به مدت ۲min). در نهایت مقدار ۱۰۰-۱۰۰μl بافر TE<sup>۶</sup> به DNA افزوده گردید (حجم TE اضافه شده به DNA، به اندازه کلاف DNA بستگی دارد). DNA استخراج شده، تا زمان انجام PCR در دمای ۲۰°C نگهداری شد.

**انجام PCR:** پرایمر طراحی شده برای کلامیدیا تراکوماتیس دارای توالی زیر می‌باشد:

S: 5' CTA CGC GTT TGT ACT CCG TCA CAG 3'  
AS: 5'AACTTATCCTCAGAAGTTTATGCA CT 3'  
واکنش PCR در حجم ۲۵μl و به شرح زیر انجام گرفت:  
از بافر 10x PCR (Roche, Germany) به مقدار ۲/۵μl،  
dNTP (۱۰mM) به مقدار ۱/۵μl، پرایمرهای Forward و  
Reverse با غلظت ۱۰mM به مقدار ۰/۵μl و Taq DNA

زنانی است که پس از یک سال مقاربت بدون پیشگیری موفق به بارداری نشده‌اند (۱۰). زنان باردار نیز ادراری بودند که سابقه ناباروری نداشته و در زمان مطالعه، در سه ماهه سوم بارداری قرار داشتند. این زنان در سنین ۴۹-۱۵ سال بوده و رضایت خود را جهت شرکت در مطالعه ابراز نمودند. معیارهای خروج از این مطالعه، شامل ناباروری با علل مردان در گروه زنان نابارور و سابقه ناباروری در گروه زنان باردار و مصرف آنتی‌بیوتیک طی یک ماه قبل از نمونه‌گیری در هر دو گروه بود. تمامی اطلاعات مربوط به بیماران از قبیل سن، نوع و علت ناباروری، سابقه استفاده از IUD، طول مدت ناباروری، HSG<sup>۱</sup> و لاپاراسکوپی و آزمایشات هورمونی که در پرونده بیمار منعکس شده و از روی آنها علت ناباروری به عنوان یک متغیر مشخص می‌شود، توسط پرسشگر واحد به پرسشنامه اطلاعاتی افراد منتقل شد. از هر شرکت‌کننده پس از تکمیل پرسشنامه، ۲ml نمونه خون دریافت شد. سپس سرم از نمونه خون جدا گردیده و پس از کدگذاری، تا مرحله انجام آزمایش الایزا جهت بررسی تیتراژ آنتی‌بادی‌های IgM و IgG کلامیدیا تراکوماتیس، در دمای ۲۰°C- نگهداری شد. همچنین از هر شرکت‌کننده ۱۵ml نمونه اول جریان ادرار<sup>۲</sup> صبحگاهی نیز جمع‌آوری گردید و بلافاصله به آزمایشگاه مرکز طبی کودکان منتقل شد، در آزمایشگاه این نمونه‌ها در لوله‌های درب‌دار با دور ۵۰۰۰rpm در دمای ۴°C به مدت ۲۰min سانتریفوژ گردید سپس مایع رویی حذف و رسوب آن به لوله‌های ۱/۵ml منتقل گردید و تا زمان استخراج DNA در دمای ۷۰°C- نگهداری شد. سپس نمونه‌های ذخیره شده به ترتیب جهت انجام آزمایشات الایزا و PCR به پژوهشگاه ابن‌سینا انتقال یافت.

**استخراج DNA:** رسوب نمونه‌های ادراری تحت شرایط استاندارد (رعایت زنجیره سرد)، به پژوهشگاه ابن‌سینا

1- First Catch Urine  
2- Hysterosalpingography

3- Phosphate Buffer Saline  
4- Tris-EDTA-Salt  
5- Sodium Dodecyl Sulfate  
6- Tris-EDTA

نبود آلودگی محرز گردد. همچنین در بررسی‌های تکمیلی، موارد مثبت کلامیدیا تراکوماتیس توسط کیت PCR (Bioron, Germany) تأیید گردید.

**انجام الایزا:** سرم‌های جمع‌آوری شده در دو ویال ۰/۵ml و ۱/۰ml در شرایط استاندارد زنجیره سرد به پژوهشگاه ابن‌سینا منتقل و در دمای ۲۰°C- نگهداری گردید. جهت سنجش IgG و IgM بر علیه کلامیدیا از کیت الایزا (Euroimmune, Germany) استفاده شد. برای انجام الایزا طبق دستورالعمل کیت، ۵µl سرم بیمار به نسبت ۱ به ۱۰۱ با sample buffer موجود در کیت رقیق شده و سایر مراحل آزمون مطابق دستورالعمل کیت انجام شد.

در نهایت اطلاعات پرسشنامه، همراه با نتایج حاصل از آزمایشات PCR و الایزا وارد نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۱ شد. روش‌های آماری که در این مطالعه استفاده شد، عبارتند از آزمون مقایسه دو نسبت، آزمون جهت پیدا کردن ارتباط بین متغیر پیامد با متغیرهای مستقل و محاسبه شاخص اپیدمیولوژیک OR و از مدل رگرسیون لجستیک برای بررسی اثر متغیر مواجهه عفونت بر پیامد پس از تعدیل برای بقیه متغیرها استفاده شد و سطح معنی‌داری ۵٪ در نظر گرفته شد.

### نتایج

میانگین سنی در گروه زنان باردار، ۲۶/۸۳±۵/۸۳ سال و در زنان نابارور، ۲۹/۸۵±۶/۲۶ سال بود (p</p>
 </div>
 <div data-bbox="522 103 913 379" data-label="Text">
 <p>Polymerase (Roche, Germany) (۵۰/µl) به مقدار ۰/۲µl و آب مقطر دیونیزه استریل استفاده گردید. برای کلامیدیا تراکوماتیس، برنامه ۹۴°C به مدت ۹۴°C و ۶۰°C به مدت ۳۰s و ۷۲°C به مدت ۳۰s طی ۳۷ سیکل و در نهایت ۷۲°C به مدت ۵min در یک نوبت به کار گرفته شد. محصول PCR بر روی ژل آگارز الکتروفورز شد و محصول PCR به طول ۲۰۶pb با رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید در ژل آگارز قابل مشاهده شود. در این مرحله از مارکر DNA شماره VIII (Roche, Germany) جهت تأیید اندازه محصول PCR استفاده شد (شکل ۱).</p>
 </div>
 <div data-bbox="522 386 913 520" data-label="Text">
 <p>برای اطمینان بیشتر از هر سری PCR منفی (سری‌های ۸ تایی)، یک نمونه منفی برداشته شده و روی آن PCR semi-nested انجام شد و علاوه بر این، روی نمونه‌های مثبت PCR مجدد با ۴۵ سیکل تکرار شد. توالی پرایمر AS2 جهت اجرای semi-nested PCR به شرح زیر می‌باشد:</p>
 </div>
 <div data-bbox="522 523 913 630" data-label="Text">
 <p>AS2: 5' GGT AAT AAT TTG CTG GAT GGC 3'  
 محصول PCR مجدد روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز شدند. در این مرحله طول قطعه مورد نظر، ۲۱۵bp بود. به همراه هر سری تست PCR، یک نمونه کنترل مثبت و کنترل منفی نیز گنجانده شد تا صحت اجرای PCR و</p>
 </div>
 <div data-bbox="527 634 916 836" data-label="Figure">
 <img alt="Agarose gel electrophoresis image showing PCR products. Lane 10 is a DNA ladder with a 206bp band indicated by an arrow. Lanes 1-9 show PCR products for various samples, with bands visible in lanes 1-7 and lane 9, and no band in lane 8." data-bbox="527 634 916 836"/>
 </div>
 <div data-bbox="527 836 923 885" data-label="Caption">
 <p>شکل ۱- الکتروفورز آگارز مربوط به محصولات PCR کلامیدیا تراکوماتیس: ۱-۷: نمونه‌های مورد بررسی، ۶ و ۸: نمونه مثبت بیمار، ۸: نمونه کنترل منفی، ۹: نمونه کنترل مثبت، ۱۰: مارکر IIIV</p>
 </div>
 <div data-bbox="395 910 600 926" data-label="Page-Footer">
 <p>فصلنامه باروری و ناباروری / بهار ۸۸</p>
 </div>
 <div data-bbox="887 910 913 924" data-label="Page-Footer">
 <p>۳۶</p>
 </div>
 </div>

گروه نابارور مشاهده شد ( $p < 0.001$ ).

۱۳/۸٪ افراد نابارور و ۱۱/۱٪ افراد باردار دارای نتایج مثبت PCR بودند که این اختلاف معنی‌دار نبود؛ به عبارتی شانس مثبت شدن نتایج PCR در افراد نابارور، ۱/۳ برابر افراد بارور است ( $OR=1.28$ ,  $CI95\%: 0.42-1.45$ ). ۸/۶٪ زنان نابارور در مقایسه با ۴/۹٪ زنان بارور نتایج مثبت الیزا برای IgG داشتند که شانس مثبت شدن آن در افراد نابارور، ۱/۸ برابر افراد بارور است ( $OR=1.82$ ,  $CI95\%: 0.85-3.89$ ). ۰/۹٪ زنان نابارور و ۱/۸٪ بارداریها آزمایش IgM مثبت داشتند که شانس مثبت شدن تست در افراد نابارور، نصف افراد بارور بود ( $OR=0.48$ ,  $CI95\%: 0.09-$ ). 2.63 اختلاف مشاهده شده بین دو گروه برای تمامی موارد فوق معنی‌دار نبود.

۱۳/۸٪ زنان با ناباروری اولیه در مقابل ۱۴/۳٪ افراد با ناباروری ثانویه، PCR مثبت داشتند. ۸/۴٪ از موارد ناباروری اولیه و ۸٪ موارد ناباروری ثانویه، آزمایش IgG مثبت و ۶٪ از زنان با ناباروری اولیه در مقابل ۱/۳٪ از زنان با ناباروری ثانویه، آزمایش IgM مثبت داشتند؛ ولی این تفاوتها در هیچ مورد معنی‌دار نبود. در افراد دارای نتایج مثبت PCR، میانگین طول مدت ناباروری کمتر می‌باشد که از نظر آماری معنی‌دار نیست ( $p=0.054$ ).

جهت بررسی ارتباط نتایج PCR، IgM و IgG برای کلامیدیا در دو گروه زنان باردار و نابارور، پس از حذف اثر متغیرهای مخدوش کننده شغل، سابقه جراحی شکم، سابقه بارداری خارج از رحم، سابقه استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری، سن و تحصیلات، از رگرسیون لجستیک استفاده گردید.

نتایج آنالیز رگرسیون لجستیک نشان می‌دهد که پس از حذف اثر متغیرهای مخدوش کننده که توزیع آنها در دو گروه بارور و نابارور متفاوت بود، نسبت شانس مثبت شدن نتیجه PCR در گروه زنان نابارور، ۱/۵۶ برابر

شانس مثبت شدن در گروه زنان باردار بود. هیچکدام از متغیرهای سطح تحصیلات، سن، سابقه استفاده از داروهای ضد بارداری، سابقه جراحی شکم و سابقه بارداری خارج از رحم، تأثیری بر نتایج PCR نداشت و شانس مثبت شدن نتیجه PCR در دو گروه زنان نابارور و بارور، تفاوت معنی‌دار آماری نداشت.

همچنین آنالیز رگرسیون لجستیک نشان می‌دهد که شانس مثبت شدن IgG در گروه نابارور، ۱/۴۸ برابر گروه بارور می‌باشد؛ اما این تفاوت معنی‌دار نیست. همچنین این آزمون نشان داد که هیچگونه تفاوت آماری معنی‌داری بین فراوانی مثبت شدن IgM در دو گروه زنان باردار و نابارور وجود نداشت.

### بحث

در پژوهش حاضر، فراوانی نتایج مثبت PCR برای کلامیدیا تراکوماتیس در زنان نابارور، ۱۳/۸٪ و در زنان باردار ۱۱/۱٪ و موارد مثبت آزمون‌های سرولوژی IgG در زنان نابارور، ۸/۶٪ و در زنان باردار، ۴/۹٪ و همچنین تیترا بالای IgM ضد کلامیدیا در زنان نابارور، ۰/۹٪ و در زنان باردار، ۱/۸٪ بود که از نظر آماری در افراد بارور و نابارور، یکسان بود. در مطالعه Debatista روی ۴۴ زن نابارور استرالیایی با استفاده از روش PCR و سرولوژی، ۱۵/۹٪ نمونه‌ها عفونت کلامیدیا داشتند (۱۱). در مطالعه Siemery بر روی ۱۹۱ زن نابارور غنایی و ۲۴۸ زن باردار سالم، به ترتیب ۲/۴٪ و ۱/۸٪ موارد مثبت PCR گزارش شد که از نظر آماری اختلافی بین دو گروه وجود نداشت. شیوع آنتی‌بادی IgG در زنان نابارور، ۳۹٪ و در زنان باردار، ۱۹٪ بود که در گروه زنان نابارور بطور معنی‌داری بالاتر بود. براساس این نتایج عفونت‌های قبلی کلامیدیا ممکن است با ناباروری زنان غنایی در ارتباط باشد (۱۲). در مطالعه Ramper Sad و همکاران، در ۲۱٪ زن‌های باردار ترینیداد، موارد مثبت کلامیدیا با PCR

آسیب لوله‌ای در تیتراهای بالای آنتی‌بادی ضد کلامیدیا بیشتر می‌باشد (۲۲).

تفاوت فراوانی موارد مثبت PCR و سرولوژی در زنان باردار و نابارور این مطالعه نسبت به سایر مطالعات (۱۱،۲۵،۲۶،۳۰)، ممکن است به این دلیل باشد که در ایران علی‌رغم فرهنگ جاری در کشور، کلینیک مستقل بیماری‌های منتقله از راه جنسی وجود ندارد و عدم مراجعه و تشخیص، منجر به افزایش شیوع این عفونت می‌شود. چنانکه در بررسی ۱۰۵۲ زن مجرد و متأهل مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان و مامایی سطح شهر تهران، شیوع عفونت با استفاده از روش PCR، ۱۲/۳٪ بدست آمد (۲۳). همچنین بررسی زنان متأهل دارای فعالیت جنسی نشان داد که ۱۲/۸٪ (۱۲۷/۹۹۱ نفر) آلودگی کلامیدیایی داشتند (۲۴).

در این پژوهش بین نوع ناباروری و خطر ابتلا به کلامیدیا، ارتباط معنی‌داری یافت نشد و تقریباً فراوانی عفونت کلامیدیایی بر حسب هر یک از روش‌های آزمایشگاهی بین دو دسته ناباروری اولیه و ثانویه یکسان بود. اما مطالعه Tukur، نشان داد که بین نوع ناباروری با عفونت کلامیدیا ارتباط وجود دارد (۱۷). همچنین Malik نشان داد که بین نوع ناباروری و آزمایش سرولوژی IgG ارتباط معنی‌دار وجود دارد؛ بدین ترتیب که در ۵۵٪ زنان نابارور با علت ثانویه و ۵/۵٪ از زنان سالم، IgG مثبت شد (۲۵). در مطالعه دیگری بر روی ۱۱۰ زن نابارور با علت ثانویه و ۳۰ زن باردار هندی، با روش کشت سلولی، عفونت کلامیدیا در ۲۸٪ از زنان نابارور با علت ثانویه و ۳/۳٪ زنان باردار مشاهده شد؛ همچنین با روش الایزا، عفونت مثبت در ۱۶/۳۷٪ از نابارورها ملاحظه گردید. در این مطالعه به ارتباط بین موارد مثبت عفونت کلامیدیا و ناباروری ثانویه اشاره شده است (۲۶).

در مطالعه حاضر، بین علت ناباروری با نتایج آزمایشگاهی IgG و IgM، ارتباط معنی‌داری وجود

گزارش گردید (۱۳). در ایران در مطالعه بادامی و همکاران نیز با استفاده از آزمون PCR، ۸/۸٪ زنان نابارور ایرانی آلوده به کلامیدیا بودند (۱۴). مطالعه چمنی و همکاران در تهران با استفاده از روش PCR نشان داد که ۱۱/۲٪ (۳۸/۳۴۰ نفر) افراد برای کلامیدیا مثبت بودند (۱۵). در یک مطالعه در چین، ۱۰/۱٪ زنان باردار چینی با روش PCR دارای تست مثبت بودند (۱۶). مطالعه Tukur روی ۱۲۰ زن نابارور با علت لوله‌ای و ۱۲۰ زن سالم نیجریه‌ای با بکارگیری PCR انجام شد، عفونت کلامیدیا در ۳۸/۳٪ زنان نابارور و ۱۳/۳٪ زنان سالم تشخیص داده شد (۱۷).

در این پژوهش، موارد مثبت آزمون‌های سرولوژی الایزا (IgG) در زنان نابارور، ۸/۶٪ و در زنان باردار به ۴/۹٪ بود که از نظر آماری اختلافی نداشتند. همچنین آنالیز رگرسیون لجستیک نشان داد که شانس مثبت شدن IgG در گروه نابارور، ۱/۴۸ برابر گروه بارور می‌باشد. در مطالعه Sonmez و همکاران روی ۱۵۲ زن نابارور و ۸۰ زن باردار با استفاده از آزمون سرولوژی، ۳۴/۶٪ زنان نابارور و ۲۲/۵٪ زنان باردار عفونت کلامیدیایی داشتند (۱۸). همچنین در مطالعه Sherman روی ۵۰ زن نابارور هندی با علت لوله‌ای و ۲۰ زن باردار سالم با سن مشابه، IgG در ۷۰٪ زنان نابارور با علت لوله‌ای، ۳۵٪ زنان باردار و ۵۵٪ زنان نابارور با سایر علل، مثبت شد (۹). در مطالعه Omo-Aghoya Lo روی ۱۶۲ زن نابارور با مشکل لوله‌ای و ۱۶۲ زن باردار نیجریه‌ای، شیوع آنتی‌بادی کلامیدیا در گروه زنان نابارور به طور معنی‌داری بالاتر بود (۱۶/۸٪ در مقابل ۱۷/۳٪) (۱۹). مطالعه Idahia در سوئد نیز نشان داد که شیوع آنتی‌بادی ضد کلامیدیا IgG در زنان نابارور با علت لوله‌ای بالا بوده است (۲۰). در مطالعه Land Ya، ارزش تعیین آنتی‌بادی IgG در پیش‌بینی آسیب لوله‌ای و ناباروری مطرح شد (۲۱). مطالعه Thomas در انگلستان نیز نشان داد که احتمال

سال‌های اخیر مطالعات پراکنده‌ای جهت یافتن بهترین روش تشخیص کلامیدیا انجام شده است (۳۱، ۳۰، ۱۲، ۶)، نتایج این مطالعه و سایر مطالعات حاکی از آن است که به واسطه حساسیت و ویژگی بالای روش‌های مولکولی از جمله PCR، می‌توان به آسانی از نمونه ادرار به عنوان یک روش غیر تهاجمی برای غربالگری گونه‌های کلامیدیا به ویژه کلامیدیا تراکوماتیس استفاده نمود. به ویژه آنکه این روشها از نظر هزینه برای آزمایش تعداد زیادی نمونه مناسب‌تر بوده و دارای حساسیت کافی برای تشخیص کلامیدیا هستند (۲۵).

در مجموع می‌توان گفت که شیوع کلامیدیا تراکوماتیس مانند دیگر عوامل بیماری‌های مقاربتی قابل انتقال، از کشوری به کشور دیگر و حتی در داخل کشورها متفاوت می‌باشد، لذا فراوانی مشاهده شده در مطالعه حاضر بر اهمیت فوق‌العاده برنامه‌های غربالگری در ایران در زنان نابارور و باردار از نظر این عفونت تأکید می‌نماید. همچنین با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که در انواع علل ناباروری، عفونت کلامیدیایی باید در نظر گرفته شود. به‌علاوه انجام مطالعات جامع‌تر به‌صورت مورد-شاهدی جهت بررسی و مقایسه عفونت در زنان نابارور با زنان باردار، می‌تواند ارتباط عفونت کلامیدیایی با ناباروری را بطور دقیق‌تری ترسیم نماید.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت و پشتیبانی پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاد دانشگاهی-ابن‌سینا و مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر (عج) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی-درمانی تهران انجام شده است که بدینوسیله از ریاست محترم آن پژوهشگاه و همچنین معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران تشکر و قدردانی می‌گردد.

نداشت و فراوانی عفونت کلامیدیایی بر حسب هر یک از روش‌های آزمایشگاهی، بین علل ناباروری (رحمی، تخمدان، لوله‌ای و ...) یکسان بود؛ ولی موارد مثبت PCR در نمونه‌های با علت ناباروری تخمدانی بیشتر از سایر انواع ناباروری بود که شاید به دلیل فراوانی بالاتر این بیماران (۴۵/۵٪) در مطالعه باشد.

مطالعه Cravioto Mdl در مکزیک روی ۵۸۵ زن نابارور (با سابقه بارداری خارج رحمی (EP)<sup>۱</sup>، سقط و آسیب لوله‌ای) و زنان باردار و زنان نابارور بدون علت لوله‌ای نیز نشان دهنده عدم وجود ارتباط عفونت کلامیدیا در افراد نابارور با سابقه بارداری خارج رحمی و سقط بود (۲۷)؛ ولی مطالعه Hatog بر روی ۳۱۳ زن با کاهش قدرت باروری<sup>۲</sup> هلندی، نشان‌دهنده وجود ارتباط آنتی‌بادی کلامیدیا تراکوماتیس با پاتولوژی لوله‌ای بود (۲۸). همچنین مطالعه Shamram در هند (۹) و Idahi در سوئد نیز نشان‌دهنده وجود ارتباط IgG مثبت و عامل ناباروری لوله‌ای بوده است (۲۰). مطالعه den Hartog نیز نشان داد که وجود آنتی‌بادی کلامیدیا تراکوماتیس به عنوان پیشگویی‌کننده مستقل پاتولوژی لوله‌ای می‌تواند مطرح باشد (۲۸). مطالعه Havid نشان داد که متعاقب عفونت کلامیدیا و افزایش اینترلوکین، واکنش‌های التهابی در لوله‌های فالوپ ایجاد می‌شود (۲۶)؛ ولی مطالعه مروری Wallac و Omo-Aghoya Lo نشان‌دهنده عدم وجود ارتباط قوی بین آنتی‌بادی کلامیدیا و ناباروری می‌باشد (۱۹، ۲۹).

لذا شاید بتوان گفت که کلامیدیا تراکوماتیس با واکنش‌هایی غیر از عوارض لوله‌ای منجر به ناباروری می‌گردد که لزوم مطالعات آزمایشگاهی دقیق‌تر را ایجاب می‌نماید.

### نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج PCR و در نظر گرفتن اینکه در

1- Ectopic pregnancy

2- Subfertile

## References

- 1- Stamm WE, Jones RB, Batteiger BE, editors. Chlamydia trachomatis (Trachoma, perinatal infections, lymphogranuloma venereum, and other genital infections). Philadelphia: Elsevier Churchill Livingstone; 2005: 2239 p. (Mandell GL, Dolin R, Bennette JE, editors. Principles and practice of infectious diseases; vol. 2).
- 2- Sciarra JJ. Sexually transmitted diseases: global importance. *Int J Gynaecol Obstet.* 1997;58(1):107-19.
- 3- Workowski KA, Levine WC, Wasserheit JN; Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia. US Centers for Disease Control and Prevention guidelines for the treatment of sexually transmitted diseases: an opportunity to unify clinical and public health practice. *Ann Intern Med.* 2002;137(4):255-62.
- 4- McGregor JA, French JI. Chlamydia trachomatis infection during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;164 (6 Pt 2): 1782-9. Review.
- 5- Sambrook J, Russell DW, editors. Molecular cloning: A laboratory manual. 3rd ed. Vol. 6, Preparation and analysis of eukaryotic genomic DNA. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001. 237 p.
- 6- Chaudhry U, Saluja D. Detection of Neisseria gonorrhoeae by PCR using orf1 gene as target. *Sex Transm Infect.* 2002;78(1):72.
- 7- Marushko IuV, Desiatnyk DH, Bychkova NH, Marushko TV, Iehipko HV. [Characteristics of modern diagnosis of diseases caused by Chlamydia bacteria]. *Lik Sprava.* 2002;(7):3-6. Ukrainian.
- 8- Hacker NF, Moore JG. Essentials of obstetrics and gynecology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1998: p. 507-37.
- 9- Sharma M, Sethi S, Daftari S, Malhotra S. Evidence of chlamydial infection in infertile women with fallopian tube obstruction. *Indian J Pathol Microbiol.* 2003;46 (4):680-3.
- 10- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril.* 2008;90(5 Suppl): S60.
- 11- Debattista J, Gazzard CM, Wood RN, Allan JA, Allan JM, Scarman A, et al. Interaction of microbiology and pathology in women undergoing investigations for infertility. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2004;12(3-4): 135-45.
- 12- Siemer J, Theile O, Larbi Y, Fasching PA, Danso KA, Kreienberg R, et al. Chlamydia trachomatis infection as a risk factor for infertility among women in Ghana, West Africa. *Am J Trop Med Hyg.* 2008;78(2):323-7.
- 13- Rampersad J, Wang X, Gayadeen H, Ramsewak S, Ammons D. In-house polymerase chain reaction for affordable and sustainable Chlamydia trachomatis detection in Trinidad and Tobago. *Rev Panam Salud Publica.* 2007;22(5):317-22.
- 14- Badami N, Salari MH. Rate of Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in infertile females and control group. *Iran J Public Health.* 2001;30(1-2):57-60.
- 15- Chamani-Tabriz L, Tehrani M J, Zeraati H, Asgari S, Moini M, Rabbani H, et al. [A Molecular survey on prevalence of Chlamydia trachomatis infection in pregnant woman attending OB&GY clinics of Tehran]. *Iran J Infect Dis Trop Med.* 2007;13(41):45-50. Persian.
- 16- Chen XS, Yin YP, Chen LP, Thuy NT, Zhang GY, Shi MQ, et al. Sexually transmitted infections among pregnant women attending an antenatal clinic in Fuzhou, China. *Sex Transm Dis.* 2006;33(5):296-301.
- 17- Tukur J, Shittu SO, Abdul AM. A case control study of active genital Chlamydia trachomatis infection among patients with tubal infertility in northern Nigeria. *Trop Doct.* 2006;36(1):14-6.
- 18- Sönmez S, Sönmez E, Yasar L, Aydin F, Coskun A, Süt N. Can screening Chlamydia trachomatis by serological tests predict tubal damage in infertile patients? *New Microbiol.* 2008;31(1):75-9.
- 19- Omo-Aghoja LO, Okonofua FE, Onemu SO, Larsen U, Bergstrom S. Association of Chlamydia trachomatis serology with tubal infertility in Nigerian women. *J Obstet Gynaecol Res.* 2007;33(5):688-95.
- 20- Idahl A, Boman J, Kumlin U, Olofsson JI. Demonstration of Chlamydia trachomatis IgG antibodies in the male partner of the infertile couple is correlated with a reduced likelihood of achieving pregnancy. *Hum Reprod.* 2004;19(5):1121-6.
- 21- Land JA, den Hartog JE. Chlamydia antibody testing in subfertile women. *Drugs Today (Barc).* 2006;42 Suppl A:35-42. Review.
- 22- Thomas K, Coughlin L, Mannion PT, Haddad NG. The value of Chlamydia trachomatis antibody testing as part of routine infertility investigations. *Hum Reprod.* 2000;15(5):1079-82.
- 23- Chamani-Tabriz L, Tehrani MJ, Akhondi MM, Mosavi-Jarrahi A, Zeraati H, Ghasemi J, et al. Chlamydia trachomatis prevalence in Iranian women attending obstetrics and gynaecology clinics. *Pak J Biol Sci.* 2007;10(24):4490-4.
- 24- Chamani-Tabriz L, Tehrani MJ, Zeraati H, Asgari S, Tarahomi M, Moini M, et al. [A molecular survey of

- Chlamydia trachomatis infection in married women: a cross sectional study on 991 women]. *Tehran Univ Med J*. 2008;66(7):485-91. Persian.
- 25- Malik A, Jain S, Rizvi M, Shukla I, Hakim S. Chlamydia trachomatis infection in women with secondary infertility. *Fertil Steril*. 2009;91(1):91-5.
- 26- Hvid M, Baczynska A, Deleuran B, Fedder J, Knudsen HJ, Christiansen G, et al. Interleukin-1 is the initiator of fallopian tube destruction during Chlamydia trachomatis infection. *Cell Microbiol*. 2007;9(12):2795-803.
- 27- Cravioto Mdel C, Matamoros O, Villalobos-Zapata Y, Peña O, García-Lara E, Martínez M, et al. [Prevalence of anti-Chlamydia trachomatis and anti-Neisseria gonorrhoeae antibodies in Mexican populations]. *Salud Publica Mex*. 2003;45(5 Suppl):S681-9. Review. Spanish.
- 28- den Hartog JE, Land JA, Stassen FR, Slobbe-van Drunen ME, Kessels AG, Bruggeman CA. The role of chlamydia genus-specific and species-specific IgG antibody testing in predicting tubal disease in subfertile women. *Hum Reprod*. 2004;19(6):1380-4.
- 29- Wallace LA, Scoular A, Hart G, Reid M, Wilson P, Goldberg DJ. What is the excess risk of infertility in women after genital chlamydia infection? A systematic review of the evidence. *Sex Transm Infect*. 2008;84(3):171-5.
- 30- Kanayama A, Fujihara E, Saika T, Kobayashi I, Onoye Y. [Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in urine samples of males and females by the strand displacement amplification (SDA) method]. *Kansenshogaku Zasshi*. 2008;82(3):182-6. Japanese.
- 31- Fedorova VA, Bannikova VA, Alikberov ShA, Eliseev IuIu, Grashkin VA. [Comparative efficiency of detection of the causative agent of urogenital chlamydiasis by immunofluorescence, polymerase chain reaction, and dot immunoassay]. *Klin Lab Diagn*. 2007;7:30-5. Russian.