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

بتول رشیدی (M.D.)[1]، لیلی چمنی‌تبریز (M.D.)[2]، فدیه حق‌اللهی (M.Sc.)[1]، فاطمه رمضان‌زاده (M.D.)[1]، مامک شریعت (M.D.)[3]، عباس رحیمی‌فروشانی (Ph.D.)[4]، فائزه دانشجو (B.Sc.)[2]، محمدمهدی آخوندی (Ph.D)[2]، سهیلا عسگری (B.Sc.)[2و5]

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

٤- گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران

٥- 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 به‌صورت 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، ۲*ml* نمونه خون جهت بررسی آنتی‌بادی کلامیدیا روش (الایزا) و ۱۵*ml* 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 χ^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 (۸/٦٪) و در زنان باردار ۱۱ مورد (٤/۹٪) و افزایش IgM ۲ مورد در زنان نابارور (۰/۹٪) و ٤ مورد در زنان باردار (۱/۸٪) مشاهده شد که میزان تیتر مثبت برای دو گروه علیه کلامیدیا و نیز بین سرم و ادرار اختلاف معنی‌داری نداشت.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد فراوانی عفونت با کلامیدیا (برمبنای IgM، IgG 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 چمنی‌تبریز، پژوهشکده بیوتکنولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه فن‌آوری‌های نوین علوم پزشکی جهاددانشگاهی- ابن‌سینا، انتهای بلوار داخل دانشگاه، دانشگاه شهید بهشتی، اوین، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۱۷۷- ۱۹٦۱۵.

پست الکترونیک: lchamani@avicenna.ac.ir

دریافت: ۸۷/۱۰/۱ **پذیرش:** ۸۷/۱۲/۱۸

Archive of SID

www.SID.ir

زمینه و هدف

کلامیدیا تراکوماتیس یک باکتری کوکوئید کوچک (۰/۲-۱/۵$m\mu$)، گرم منفی و بی‌حرکت است و به‌صورت انگل اجباری در درون سلول‌های بدن انسان و حیوانات زندگی می‌کند (۱). عفونت کلامیدیایی، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های منتقله جنسی در سراسر جهان می‌باشد که از سال ۱۹۹٦ سالانه حدود ۲۰٪ به جمع مبتلایان به آن افزوده می‌شود (۲) بطور تخمینی، در ایالت متحده امریکا هر سال تا ٤ میلیون نفر به عفونت‌های کلامیدیایی مبتلا می‌شوند (۳).

عوارض ناشی از این عفونت، به‌صورت ناباروری و بارداری خارج از رحم در زنان و اپیدیدمیت در مردان بروز می‌نماید و بیش از ۵۰٪ زنان و ۸۰٪ مردان مبتلا به عفونت کلامیدیایی، بدون علامت هستند که درصد بالای عفونت‌های بدون علامت، باعث اشاعه ناقلین بسیار زیادی در جامعه می‌گردد که ناآگاهانه این عامل بیماری‌زا را به شرکای جنسی خود انتقال می‌دهند (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 می‌باشد (٤). دو ارگانیسم شایع در ایجاد PID[1] شامل کلامیدیا و گنوره، جدی‌ترین عوارض دراز مدت را با واسطه ایجاد چسبندگی ناشی از واکنش‌های ایمونولوژیک نسبت به عفونت‌های دیگر ایجاد می‌نمایند که این خود منجر به کاهش باروری، ایجاد ناباروری، بارداری خارج رحمی و درد مزمن لگن می‌شود (۱).

از جمله روش‌های مورد استفاده برای شناسایی کلامیدیا، آزمایش مولکولی PCR روی نمونه ادرار و تعیین غلظت یا تیتر آنتی‌بادی کلامیدیا در سرم (سرولوژی) می‌باشد که حساسیت آزمون PCR ۹۸/۲٪ گزارش شده است. این تست تا سه ماه پس از درمان هم ممکن است مثبت شود (۵،٦،۷). از طرف دیگر حساسیت آزمون الایزا (IgA, IgG)، جهت تشخیص عفونت کلامیدیایی ۵۳٪ گزارش شده است (۷). روش‌های سرولوژیکی به تنهایی حساسیت بالایی نداشته و همراه کردن آن با روش‌های مولکولی، تشخیص دقیق‌تری را در اختیار قرار می‌دهد (۹-۷) که روش PCR با نمونه‌گیری از جریان اول ادرار صبحگاهی در موارد عفونت حاد، توصیه می‌شود؛ در صورتی که استفاده از آزمون الایزا یا ایمونوفلوئورسانس جهت تعیین IgA و IgG در موارد عفونت مزمن، کمک‌کننده خواهد بود.

در حال حاضر شیوع عفونت کلامیدیایی در جهان رو به افزایش است و با توجه به هزینه درمان عوارض عفونت‌های کلامیدیایی که سالانه در آمریکا، بیش از ۲ میلیون دلار تخمین زده می‌شود و از آنجا که هزینه تشخیص در مقایسه با هزینه درمان عوارض عفونت بسیار ناچیز و جزئی می‌باشد، 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 مراجعه‌کننده به درمانگاه ناباروری بیمارستان ولیعصر و ۲۲۵ زن باردار مراجعه‌کننده به بخش زایمان و درمانگاه زنان بیمارستان امام خمینی (ره) برای مقایسه، بررسی شدند. نحوه تشخیص زنان نابارور بنا به تعریف، شامل

1- Pelvie Inflammatory Disease (or disorder)

Archive of SID
www.SID.ir

زنانی است که پس از یک سال مقاربت بدون پیشگیری موفق به بارداری نشده‌اند (۱۰). زنان باردار نیز افرادی 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[1] 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، ۲*ml* نمونه خون دریافت شد. سپس سرم از نمونه خون جدا گردیده و پس از کدگذاری، تا مرحله انجام آزمایش الایزا جهت بررسی تیتر آنتی‌بادی‌های IgG و IgM کلامیدیا تراکوماتیس، در دمای ۲۰- ℃ نگهداری شد. همچنین از هر شرکت‌کننده ۱۵*ml* نمونه اول جریان ادرار[2] صبحگاهی نیز جمع‌آوری گردید و بلافاصله به آزمایشگاه مرکز طبی کودکان منتقل شد، در آزمایشگاه این نمونه‌ها در لوله‌های درب‌دار با دور ۵۰۰۰*rpm* در دمای ۴ ℃ به مدت ۲۰*min* سانتریفوژ گردید سپس مایع رویی حذف و رسوب آن به لوله‌های ۱/۵*ml* منتقل گردید و تا زمان استخراج DNA در دمای ۷۰- ℃ 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 انتقال یافت و استخراج DNA روی نمونه‌ها براساس روش Russel و Sambrook (۵) و طبق مراحل ذیل انجام پذیرفت:

۱*ml* بافر PBS[3] به رسوب نمونه ادراری اضافه و با پیپت پاستور مخلوط گردید و به مدت ۱۰*min* با سرعت ۳۰۰۰*rpm* سانتریفوژ شد. سپس مایع رویی تخلیه و ۳۰۰*µl* بافر TES[4] به همراه ۷۰*µl* محلول ۱۰٪ SDS[5] اضافه گردید. سپس ۲۵*µl* پروتئیناز k (۱۰*mg/ml*) به رسوب اضافه شده و پس از آن، محلول مورد نظر به مدت ۲ ساعت در دمای ۵۶ ℃ انکوبه گردید. در مرحله بعد به مقدار ۲۵۰*µl* محلول NaCl اشباع به آن افزوده و به مدت ۵*min* با دور ۳۵۰۰*rpm* سانتریفوژ گردید. پس از انتقال محلول فوقانی به میکروتیوپ‌های جدید، ۳۰۰*µl* ایزوپروپانل به آنها اضافه و به آرامی مخلوط گردید (بهتر است الکل سرد باشد تا کلاف DNA ظاهر گردد). مجدداً مخلوط حاصل به مدت ۱۰*min* با دور ۱۰۰۰۰*RPM* سانتریفوژ و محلول رویی تخلیه و رسوب حاصل با ۵۰۰*µl* اتانل ۷۰٪ شستشو داده شد (سانتریفوژ ۱۰۰۰۰ *rpm* به مدت ۲*min*). در نهایت مقدار ۱۰۰-۱۰*µl* بافر TE[6] 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- ℃ 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`

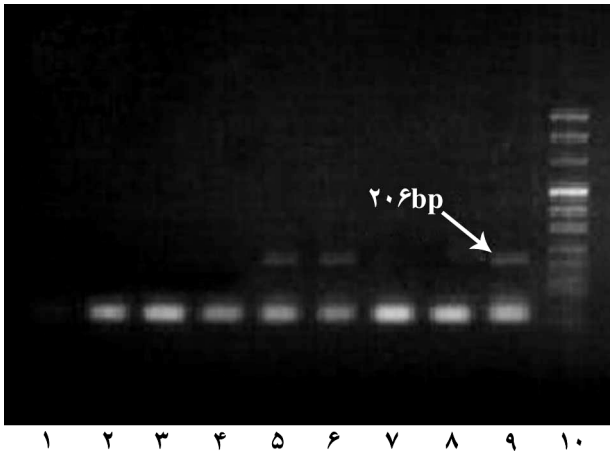
واکنش PCR در حجم ۲۵*µl* و به شرح زیر انجام گرفت: از بافر 10x PCR (Roche, Germany) به مقدار ۲/۵*µl*، dNTP (۱۰*mM*) به مقدار ۱/۵*µl*، پرایمرهای Forward و Reverse با غلظت ۱۰*mM* به مقدار ۰/۵*µl* و Taq DNA

1- First Catch Urine
2- Hysterosalpingogrphy

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

Archive of SID
www.SID.ir

Polymerase (۵$u/\mu l$) (Roche, Germany) به مقدار ۰/۲μl و آب مقطر دیونیزه استریل استفاده گردید.
برای کلامیدیا تراکوماتیس، برنامه ۹۴ $\mathcal{C}$ به مدت ۵min برای یک نوبت و نیز ۹۴ $\mathcal{C}$ به مدت ۳۰s و ۶۰ $\mathcal{C}$ به مدت ۳۰s و ۷۲ $\mathcal{C}$ به مدت ۳۰s طی ۳۷ سیکل و در نهایت ۷۲ $\mathcal{C}$ به مدت ۵min در یک نوبت به کار گرفته شد. محصول PCR بر روی ژل ۱/۵٪ آگارز الکتروفورز شد و محصول PCR به طول ۲۰۶pb با رنگ‌آمیزی 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).
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:
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 نبود آلودگی محرز گردد. همچنین در بررسی‌های تکمیلی، موارد مثبت کلامیدیا تراکوماتیس توسط کیت PCR (Bioron, Germany) تأیید گردید.



۱ ۲ ۳ ۴ ۵ ۶ ۷ ۸ ۹ ۱۰
شکل۱- الکتروفورز آگارز مربوط به محصولات PCR کلامیدیا تراکوماتیس:
۷-۱: نمونه‌های مورد بررسی،۵و۶: نمونه مثبت بیمار ۸: نمونه کنترل منفی
۹: نمونه کنترل مثبت، ۱۰: مارکر IIIV

انجام الایزا: سرم‌های جمع‌آوری شده در دو ویال ۰/۵ml و ۱/۵ml در شرایط استاندارد زنجیرهٔ سرد به پژوهشگاه ابن‌سینا منتقل و در دمای ۲۰ $\mathcal{C}$- 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 متغییرهای 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، ۵/۸۳±۲۶/۸۳ سال و در زنان نابارور، ۶/۲۶±۲۹/۸۵ سال بود (p<۰/۰۰۱). در گروه زنان نابارور، ۶۲/۲٪ و در گروه باردار، ۵۲/۵٪ افراد دارای تحصیلات زیر دیپلم بودند (p<۰/۰۰۰۱). ۵/۷٪ زنان نابارور، سابقه بارداری خارج رحم داشتند در حالی که در زنان باردار هیچ موردی وجود نداشت و ۴۰/۸٪ زنان نابارور و ۲۵٪ زنان باردار، سابقه جراحی در ناحیه شکم داشتند (p<۰/۰۰۰۱). سابقه استفاده از روش‌های پیشگیری از بارداری در ۹۷/۲٪ از زنان باردار در مقایسه با ۱۰٪

Archive of SID
www.SID.ir

گروه نابارور مشاهده شد (p<۰/۰۰۱).
۱۳/۸٪ افراد نابارور و ۱۱/۱ افراد باردار دارای نتایج مثبت PCR بودند که این اختلاف معنی‌دار نبود؛ به‌عبارتی شانس مثبت‌شدن نتایج PCR در افراد نابارور، ۱/۳ برابر افراد باروراست (OR=1.28, CI95%: 0.42-1.45). ۸/٦٪ زنان نابارور در مقایسه با ٤/۹٪ زنان بارور نتایج مثبت الایزا برای IgG داشتند که شانس مثبت‌شدن 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٪ باردارها آزمایش IgM مثبت داشتند که شانس مثبت‌شدن 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 ۱٤/۳٪ افراد با ناباروری ثانویه، PCR مثبت داشتند. ۸/٤٪ از موارد ناباروری اولیه و ۸٪ موارد ناباروری ثانویه، آزمایش IgG مثبت و ٦٪ 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=۰/۰٥٤).
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 مخدوش‌کننده که توزیع آنها در دو گروه بارور و نابارور متفاوت بود، نسبت شانس مثبت شدن نتیجه PCR در گروه زنان نابارور، ۱/٥٦ 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، ۱/٤۸ 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 کلامیدیاتراکوماتیس در زنان نابارور، ۱۳/۸٪ و در زنان باردار ۱۱/۱٪ و موارد مثبت آزمون‌های سرولوژی IgG در زنان نابارور، ۸/٦٪ و در زنان باردار، ٤/۹٪ و همچنین تیتر 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 ٤٤ زن نابارور استرالیایی با استفاده از روش PCR و سرولوژی، ۱٥/۹٪ نمونه‌ها عفونت کلامیدیا داشتند (۱۱). در مطالعه Siemery بر روی ۱۹۱ زن نابارور غنایی و ۲٤۸ زن باردار سالم، به ترتیب ۲/٤٪ 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

Archive of SID
www.SID.ir

گـزارش گردیـد (۱۳). در ایـران در مطالعـه بـادامی و همکاران نیـز بـا اسـتفاده از آزمـون PCR، ۸/۸٪ زنـان نابارور ایرانی آلـوده بـه کلامیـدیا بودنـد (۱٤). مطالعـه چمنی و همکـاران در تهـران بـا اسـتفاده از روش PCR نشان داد که ۱۱/۲٪ (۳۸/۳٤۰ نفر) افراد بـرای کلامیـدیا مثبت بودند (۱۵). در یک مطالعه در چـین، ۱۰/۱٪ زنـان باردار چینـی بـا روش PCR دارای تـست مثبـت بودنـد (۱٦). مطالعـه Tukur روی ۱۲۰ زن نابـارور بـا علـت لوله‌ای و ۱۲۰ زن سـالم نیجریـه‌ای بـا بکـارگیری PCR انجام شد، عفونـت کلامیـدیا در ۳۸/۳٪ زنـان نابـارور و ۱۳/۳٪ زنان سالم تشخیص داده شد (۱۷).

در این پژوهش، مـوارد مثبـت آزمـون‌هـای سـرولوژی الایزا (IgG) در زنان نابارور، ۸/٦٪ و در زنان باردار به ٤/۹٪ بود که از نظر آماری اختلافـی نداشـتند. همچنـین آنالیز رگرسیون لجـستیک نـشان داد کـه شـانس مثبـت شدن IgG در گروه نابـارور، ۱/٤۸ برابـر گـروه بـارور می‌باشد. در مطالعه Sonmez و همکـاران روی ۱۵۲ زن نابـارور و ۸۰ زن بـاردار بـا اسـتفاده از آزمـون سرولوژی، ۳٤/٦٪ زنان نابارور و ۲۲/۵٪ زنـان بـاردار عفونـت کلامیـدیایی داشـتند (۱۸). همچنـین در مطالعـه Sherman روی ۵۰ زن نابارور هندی بـا علـل لولـه‌ای و ۲۰ زن باردار سالم با سـن مـشابه، IgG در ۷۰٪ زنـان نابارور با علت لوله‌ای، ۳۵ ٪ زنـان بـاردار و ۵۵٪ زنـان نابارور با سایر علل، مثبت شـد (۹). در مطالعـه Omo-Aghoya Lo روی ۱٦۲ زن نابارور با مـشکل لولـه‌ای و ۱٦۲ زن باردار نیجریه‌ای، شیوع آنتی‌بادی کلامیـدیا در گـروه زنـان نابـارور بـه طـور معنـی‌داری بـالاتر بـود (٦۵/۸٪ در مقابل ۱۷/۳٪) (۱۹). مطالعه Idahia در سوئد نیز نشان داد که شیوع آنتی‌بادی ضد کلامیـدیا IgG در زنان نابارور با علـت لولـه‌ای بـالا بـوده اسـت (۲۰). در مطالعـه Land Ya، ارزش تعیـین آنتـی‌بـادی IgG در پیش‌بینی آسـیب لولـه‌ای و نابـاروری مطـرح شـد (۲۱). مطالعه Thomas در انگلستان نیز نشان داد کـه احتمـال آسیب لوله‌ای در تیترهای بالای آنتی‌بادی ضد کلامیـدیا بیشتر می‌باشد (۲۲).

تفاوت فراوانی موارد مثبت PCR و سرولوژی در زنـان باردار و نابارور این مطالعه نـسبت بـه سـایر مطالعـات (۱۱،۲۵،۲٦،۳۰)، ممکن است بـه ایـن دلیـل باشـد کـه در ایران علی‌رغم فرهنگ جاری در کشور، کلینیـک مـستقل بیماری‌های منتقلـه از راه جنـسی وجـود نـدارد و عـدم مراجعه و تشخیص، منجر به افزایش شیوع ایـن عفونـت می‌شود. چنانکه در بررسـی ۱۰۵۲ زن مجـرد و متأهـل مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان و مامایی سطح شهر تهران، شیوع عفونت بـا اسـتفاده از روش PCR، ۱۲/۳٪ بدست آمـد (۲۳). همچنـین بررسـی زنـان متأهـل دارای فعالیـت جنـسی نـشان داد کـه ۱۲/۸٪ (۱۲۷/۹۹۱ نفـر) آلودگی کلامیدیایی داشتند (۲٤).

در ایـن پـژوهش بـین نـوع نابـاروری و خطـر ابـتلا بـه کلامیدیا، ارتباط معنی‌داری یافت نشد و تقریبـاً فراوانـی عفونـت کلامیـدیایی بـر حـسب هـر یـک از روش‌هـای آزمایشگاهی بـین دو دسـته نابـاروری اولیـه و ثانویـه یکسان بود. اما مطالعه Tukur، نـشان داد کـه بـین نـوع نابارووری با عفونت کلامیـدیا ارتبـاط وجـود دارد (۱۷). همچنـین Malik نـشان داد کـه بـین نـوع نابـاروری و آزمایش سرولوژی IgG ارتبـاط معنـی‌دار وجـود دارد؛ بدین ترتیب که در ۵۵٪ زنان نابارور بـا علـت ثانویـه و ۵/۵٪ از زنـان سـالم، IgG مثبـت شـد (۲۵). در مطالعـه 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 بـاردار مشاهده شد؛ همچنین با روش الایـزا، عفونـت مثبـت در ۱٦/۳۷٪ از نابارورها ملاحظه گردید. در این مطالعـه بـه ارتباط بین مـوارد مثبـت عفونـت کلامیـدیا و نابـاروری ثانویه اشاره شده است (۲٦).

در مطالعـه حاضـر، بـین علـت نابـاروری بـا نتـایج آزمایـشگاهی IgG و IgM، ارتبـاط معنـی‌داری وجـود

Archive of SID
www.SID.ir

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 (٤٥/٥٪) در مطالعه باشد.

مطالعه Cravioto Mdl در مکزیک روی ٥٨٥ زن نابارور (با سابقه بارداری خارج رحمی (EP)[1] ، 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 (٢٧)؛ ولی مطالعه Hatog بر روی ٣١٣ زن با کاهش قدرت باروری[2] هلندی، نشان‌دهنده وجود ارتباط آنتی‌بادی کلامیدیا تراکوماتیس با پاتولوژی لوله‌ای بود (٢٨). همچنین مطالعه Shamram در هند (٩) و Idahi در سوئد نیز نشان‌دهنده وجود ارتباط IgG مثبت و عامل ناباروری لوله‌ای بوده است (٢٠). مطالعه den Hartog نیز نشان داد که وجود آنتی‌بادی کلامیدیا تراکوماتیس به عنوان پیشگویی‌کننده مستقل پاتولوژی لوله‌ای می‌تواند مطرح باشد (٢٨). مطالعه Havid نشان داد که متعاقب عفونت کلامیدیا و افزایش اینترلوکین، واکنش‌های التهابی در لوله‌های فالوپ ایجاد می‌شود (٢٦)؛ ولی مطالعه مروری Wallac و Omo-Aghoya Lo نشان‌دهنده عدم وجود ارتباط قوی بین آنتی‌بادی کلامیدیا و ناباروری می‌باشد (١٩،٢٩).

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 سال‌های اخیر مطالعات پراکنده‌ای جهت یافتن بهترین روش تشخیص کلامیدیا انجام شده است (٦،١٢،٣٠،٣١)، 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 (٢٥).

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.

1- Ectopic pregnancy
2- Subfertile

Archive of SID
www.SID.ir

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

Archive of SID
www.SID.ir

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.

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

Archive of SID

www.SID.ir