Archive of SID

Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 19, No. 1, Spring 2019, Pages 80-87

Screening for *Chlamydia trachomatis* among Infertile Women Using PCR Method

Mansour Ghanaie M*[1], Tabrizian Namin S[1], Kazemnejad-Leili E[2], Bashizadeh Fakhar H[3], Asgari Galebin S.M[4]

1. Reproductive Health Research Center, Department of Obstetrics & Gynecology, Alzahra Hospital, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
2. Departement of Biostatictis, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran
3. Department of Laboratory Sciences, Chalous Branch, Islamic Azad University, Chalous, Iran
4. General Practitioner, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

**** Corresponding author.*** Tel: +989113313240, Fax: +981333369224, E-mail: m_ghanaei@gums.ac.ir

Received: Dec 21, 2018 Accepted: Mar 11, 2019

ABSTRACT

Background & objectives: *Chlamydia trachomatis* is a gram negative bacterium and chlamydia infection, as a curable infection, is one of the most common sexually transmitted diseases (STD). With regard to the essential role of *chlamydia* in infertility, the study of the prevalence of asymptomatic cases is precious. The aim of this study was to determine of the prevalence of *chlamydia trachomatis* in endocervical samples in infertile women with PCR method.

Methods: In this cross sectional descriptive-analytical study, a total of 135 women between 20-40 years old with chief complaint of infertility that referred to Alzahra-Rasht hospital and private clinics were randomly selected. The endocervical specimen was prepared using a sterile swab and was transferred to the laboratory in PBS for performing PCR. . The results of PCR and collected data from checklists were statistically analyzed using SPSS16.

Results: *Chlamydia trachomatis* was detected in 19.3% of infertile women. There were no statistically significant differences between PCR results and the patient's age, type of infertility, obstruction in salpingography, family history and duration of infertility.

Conclusion: The results of this study revealed that chlamydia infection has a high prevalence and in order to reduce the complications of this disease, screening tests can be used as a part of the country's health programs.

Keywords: *Chlamydia trachomatis*; Infertile Women; PCR

www.SID.ir

Archive of SID

غربالگری *کلامیدیا تراکوماتیس* در زنان نابارور به روش PCR

ماندانا منصور قناعی[۱]*، شروین تبریزیان نمین[۱]، احسان کاظم نژاد لیلی[۲]، هانیه باشی زاده فخار[۳]، سید محمد عسگری قلعه بین[٤]

۱. مرکز تحقیقات بهداشت باروری، گروه زنان و مامایی، بیمارستان الزهرا (س)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۲. گروه آمار حیاتی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران
۳. گروه علوم آزمایشگاهی، شعبه چالوس، دانشگاه آزاد اسلامی چالوس، چالوس، ایران
٤. دانشجوی پزشکی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۱۳۳۱۳۲٤۰ فاکس: ۰۱۳۳۳۳۶۹۲۲٤ پست الکترونیک: M_ghanaei@gums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: *کلامیدیا تراکوماتیس* یک باکتری گرم منفی است و عفونت کلامیدیایی یکی از عفونت‌های شایع منتقله از راه تماس جنسی است که قابل درمان می‌باشد. با توجه به نقش اساسی کلامیدیا در زمینه ناباروری، مطالعهٔ فراوانی موارد بدون علامت بیماری ارزشمند خواهد بود. هدف از این مطالعه، تعیین فراوانی *کلامیدیا تراکوماتیس* در نمونه اندوسرویکس زنان نابارور به روش PCR می‌باشد.

روش کار: این مطالعه از نوع توصیفی- تحلیلی، مقطعی بود. ۱۳۵ خانم ٤۰-۲۰ ساله مراجعه کننده با شکایت نازایی به بیمارستان الزهرا (س) و مطب های خصوصی رشت به طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه اندوسرویکس با استفاده از سواپ استریل تهیه و در نمونه PBS به آزمایشگاه منتقل شد. سپس PCR روی نمونه ها انجام شد. جواب حاصل از PCR همراه با اطلاعات موجود در چک لیست ها با استفاده از نرم افزار SPSS-16 مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

یافته ها: در ۱۹/۳درصد زنان نازا PCR از نظر کلامیدیا مثبت بود. ارتباط معنی داری بین وضعیت ابتلا به کلامیدیا با سن، نوع باروری، انسداد در سالپنگوگرافی، سابقهٔ نازایی در خویشاوندان و مدت نازائی وجود نداشت.

نتیجه گیری: با توجه به فراوانی به دست آمده می‌توان گفت عفونت کلامیدیایی، عفونتی شایع در جامعهٔ مورد مطالعه بود. به منظور کاهش عوارض بیماری در جامعه، غربالگری کلامیدیا می‌تواند به عنوان بخشی از برنامه های بهداشتی کشور باشد.

واژه های کلیدی: *کلامیدیا تراکوماتیس*، ناباروری زنان، PCR

دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۳۰ **پذیرش:** ۱۳۹۷/۱۲/۲۰

مقدمه

کلامیدیاتراکوماتیس یک پاتوژن داخل سلولی اجباری و شایع‌ترین علت عفونت باکتریال منتقله از راه جنسی (STD[۱]) است [۱]. این باکتری با افزایش خطر بیماری التهابی لگن (PID[۲])، حاملگی نابجا (EP[۳])، نازایی لوله‌ای، اندومتریت همراه می‌باشد. در افراد مبتلا به *کلامیدیاتراکوماتیس* استعداد ابتلا به عفونت ویروس نقص ایمنی انسانی (HIV[٤]) افزایش می‌یابد [۲]. تقریباً ۶۰ درصد عفونت‌های ژنیتال ناشی از *کلامیدیا تراکوماتیس* بی علامت هستند [۳]. بنابراین تشخیص آنها دشوار است و ممکن است سبب عفونت مزمن گردند [٤]. عدم درمان، سبب تخریب سیلیاهای فالوپ و انسداد لولهٔ فالوپ می‌گردد. تشخیص و

[1] Sexual Transmitted Disease
[2] Pelvic Inflammatory Disease
[3] Ectopic Pregnancy
[4] Human Immunodeficiency Virus

www.SID.ir

Archive of SID

درمان عوارض دیررس توسط لاپاراسکوپی هم دشوار و هم پرهزینه می‌باشد [۵]. شیوع *کلامیدیا تراکوماتیس* در کشورهای در حال توسعه بیش از کشورهای پیشرفته است. در برخی کشورهای صنعتی بدلیل میزان بالای شیوع و بی علامت بودن این باکتری برنامه‌های غربالگری، برای پیشگیری از ایجاد عوارض باروری اجرا می‌شود [۶]. در ایران اطلاعات اپیدمیولوژیک مبنی بر شیوع عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* اندک است و کسب این دانش می‌تواند در انتخاب استراتژی بیماریابی و درمان موثر باشد [۷]. به علاوه در ایران اطلاعات اندکی در مورد دستورالعمل‌های غربالگری انتخابی در زنان نازا موجود است از اینرو غربالگری *کلامیدیا تراکوماتیس* جزو بررسی‌های روتین نازایی نمی باشد. هدف از این مطالعه غربالگری *کلامیدیا تراکوماتیس* به روش PCR در زنان مراجعه کننده با شکایت ناباروری در شهرستان رشت می‌باشد.

روش کار

این مطالعه توصیفی- تحلیلی روی ۱۳۵ زن نابارور ۴۰-۲۰ ساله مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا (س) و مطب‌های خصوصی زنان شهرستان رشت طی پاییز و زمستان سال ۱۳۹۱ انجام شد. حجم نمونه با اطمینان ۹۵٪ و در نظر گرفتن حد اشتباه برآورد ۷/۵٪ تعیین شد [۸].

معیار ورود به مطالعه عدم مصرف آنتی بیوتیک طی یک ماه قبل از نمونه گیری بود. معیارهای خروج از مطالعه عبارت از عدم همکاری بیمار و یا اشکال در مراحل نمونه گیری یا انجام PCR بود. ناباروری عبارتند از عدم حاملگی حداقل به مدت یک سال بدون استفاده از هیچگونه روش جلوگیری از بارداری. در صورت عدم وجود سابقهٔ بارداری قبلی، نازایی اولیه و در صورت وجود سابقهٔ بارداری، ثانویه اطلاق می‌گردد. انسداد لولهٔ فالوپ براساس سالپنگوگرافی یا لاپاراسکوپی تأیید شد. ابزار تحقیق پرسشنامه و پرونده پزشکی بیمار و نمونه مورد استفاده نمونه آندوسرویکس بود. در چک لیست اطلاعاتی مانند سن، مدت ازدواج، مدت ناباروری، سابقه بارداری، سابقه نازائی در افراد درجه یک خانواده درج گردید. سپس برگه هیستروسالپنگوگرافی یا لاپاراسکوپی بیمار بررسی شد و هرگونه انسداد و چسبندگی به صورت یکطرفه یا دو طرفه، کامل یا نسبی، مثبت در نظر گرفته شد. پس از مصاحبه و توضیح مراحل نمونه گیری و اهداف مطالعه، رضایت نامه کتبی توسط افرادی که تمایل به شرکت در تحقیق داشتند، تکمیل گردید. سپس دستیار زنان، بیمار را در وضعیت لیتوتومی قرار داد و پس از گذاشتن اسپیکلوم استریل، از آندوسرویکس به وسیله سوآپ استریل نمونه‌برداری کرد. نمونه در یک میلی لیتر محیط ترانسپورت (PBS) قرار داده شد و نمونه‌ها بلافاصله به یخچال منتقل و سریعاً به آزمایشگاه دکتر منتظری منتقل شدند و با روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند و گزارش حاصل به همراه اطلاعات موجود در چک لیست‌ها آنالیز آماری شدند. جدا سازی DNA *کلامیدیا تراکوماتیس* از نمونه آندوسرویکس با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناژن) ساخت ایران انجام شد. DNAهای جدا شده تا زمان انجام PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. قبل از انجام هر PCR، غلظت و کیفیتDNA استخراج شده به لحاظ خوردشدگی و اندازه قطعاتDNA تخلیص شده، مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین کیفیت DNA به دست آمده می‌توان از دو طریق اندازه گیری OD۵ و یا الکتروفورز بر روی ژل آگاروز عمل کرد.

با استفاده از آزمایش PCR به وسیله کیت DNATechnology ساخت آمریکا، تکثیر قطعه کوچکی از ناحیه MOMP حفاظت شده ژنوم *کلامیدیاتراکوماتیس* انجام شد. کیفیت DNA، با تکثیر ژن بتاگلوبین و استفاده از پرایمرهای اختصاصی MOMP بررسی شد (جدول۱). دمای اتصال برای ژن

www.SID.ir

Archive of SID

MOMP، ۵۷/۵ درجه سانتیگراد بود. سپس ۵ میکرولیتر از DNA استخراج شده به مخلوط واکنش اضافه شد. البته در یکی از این میکروتیوب‌ها به جای الگو، ۵ میکرولیتر آب ریخته که به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. بعد از آن میکروتیوب‌های حاوی الگو و میکروتیوب کنترل منفی در دستگاه ترموسایکلر PCR با برنامهٔ UNI1400 قرار داده شد. مرحلهٔ PCR برای یافتن ژن مورد نظر با استفاده از پرایمر اختصاصی، مواد و غلظت‌های بهینه شده برای PCR طبق جداول ۲ و ۳ صورت گرفت.

جدول ۱ پرایمر برای شناسایی ژن MOMP

	Sequence (5´->3´)	Length	start	stop	Tm	GC%	Self-complementarity	Self3´ complementarity
F	CGGCTACTATGGG GACTTCG	20	186	205	59.69	60.00	2	0
R	CCGCTAGTTGCTCC CAATGT	20	428	409	60.39	55.00	1	0
Product size	243							

مناطق حفاظت شدهٔ باکتری *کلامیدیا تراکوماتیس* با اطلاعات موجود در بانک ژنی مشخص شد و با استفاده از نرم افزارهای بیوانفورماتیک مثل Gene Runner، پرایمرهای مورد نیاز برای تکثیر و شناسایی اختصاصی ناحیهٔ تکثیرشدهٔ باکتری طراحی شد. مراحل سیکل PCR در جدول ٤ نشان داده شده است. جهت ظاهرسازی نتایج PCR، الکتروفورز در ژل آگاروز ۲/۵٪ و سپس رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بوسیله تابش نور UV جهت بررسی قطعات تکثیر یافته بکار می‌رود.

روش تجزیه و تحلیل داده ها

داده‌ها پس از جمع آوری، کدگذاری و وارد نرم‌افزاری آماری SPSS-16 شدند و سپس با استفاده از روش‌های آمار تحلیلی شامل آزمون تی و مربع کای آنالیز شده و با روش‌های آمار توصیفی در قالب جدول و نمودار تنظیم شدند. در تمامی آزمون‌های ذکر شده سطح معنی داری ۰/۰۵ و فاصله اعتماد ۹۵٪ قرار داده شد.

جدول ۲. مواد و غلظت های بهینه شدهPCR

مواد	غلظت (µl)
Master mix	۷
DNA	۲
Primer forward	۱
Primer reverse0	۱
D.W	١٤
Total	۲۵

جدول ۳. مراحل سیکل PCR

مراحل		زمان	درجه حرارت °C
مرحله اول	واسرشت شدن اولیه	۵ دقیقه	۹۵
	واسرشت شدن ثانویه	۵۰ ثانیه	۹٤
	اتصال پرایمرها به الگو	٤۰ ثانیه	۵۷٫۵
مرحله دوم: ۳۵ دور			
	تکثیر اولیه	۵۰ ثانیه	۷۲
مرحله سوم	تکثیر نهایی	۵ دقیقه	۷۲

www.SID.ir

Archive of SID

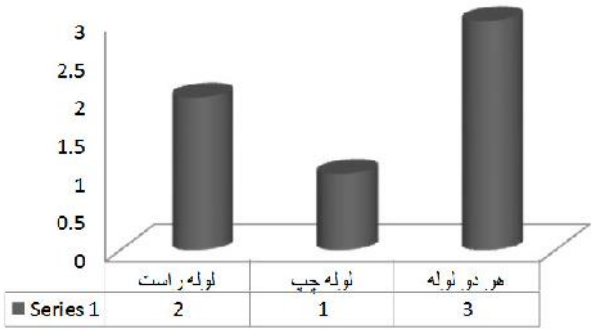
یافته ها

میانگین سنی افراد مطالعه ۵/۶۲±۳۱/۵۰ سال بود. مدت زمان ازدواج بیماران ٤/۵۵±۶/۳۳ سال بود. ۳۵ نفر از بیماران سابقه نازائی در خویشاوندان خود داشتند که از این میان ۱۰ نفر (۷/٤۰٪) در فامیل درجه یک، ۱۱ نفر (۸/۱۵٪) در فامیل درجه دو و ۱٤ نفر (۱۰/۳۷٪) در فامیل همسر نازائی داشتند (جدول٤).

جدول ٤. اطلاعات دموگرافیک و مشخصات نازائی و ارتباط بین متغیرها با وضعیت ابتلا به *کلامیدیاتراکوماتیس*

متغیر	-	کل تعداد (٪)	PCR(+) تعداد (٪)	PCR(-) تعداد (٪)	P-Value
سن (سال) n=۱۳۵	۲۰ -۲۵	۲۹(٪۲۱/٤۸)	۹(٪۳۱)	۲۰(٪۶۹)	۰/۲۸۰
	۲۶-۳۰	۲۶(٪۱۹/۲۶)	۳(٪۱۱/۵)	۲۳(٪۸۸/۵)	
	۳۱-۳۵	۳۷(٪۲۷/٤۱)	۷(٪۱۸/۹)	۳۰(٪۸۱/۱)	
	۳۶-٤۰	٤۳(٪۳۱/۸۵)	۷(٪۱۶/۳)	۳۶(٪۸۳/۷)	
شغل n=۱۳۵	خانه دار	۱۲٤(٪۹۱/۸۵)	۲۳(٪۱۸/۵)	۱۰۱(٪۸۱/۵)	۰/۱۷۸
	آزاد	۶(٪٤/٤۵)	۲(٪۳۳/۳)	٤(٪۶۶/۷)	
	کارمند	۳(٪۲/۲۲)	۱(٪۳۳/۳)	۲(٪۶۶/۷)	
	کشاورز	۲(٪۱/٤۸)	۰(٪۰)	۲(٪۱۰۰)	
نوع نازائی n=۱۳۵	اولیه	۱۱۳(٪۸۳/۷۰)	۲۳(٪۲۰/٤)	۹۰(٪۷۹/۶)	۰/٤۶۵
	ثانویه	۲۲(٪۱۶/۳۰)	۳(٪۱۳/۶)	۱۹(٪۸۶/٤)	
سابقهٔ نازائی در خویشاوندان درجهٔ یک n=۱۳۵	دارد	۱۰(٪۷/٤۱)	۰(٪)	۱۰(٪۱۰۰)	۰/۱۰۸
	ندارد	۱۲۵(٪۹۲/۵۹)	۲۶(٪۲۰/۸)	۹۹(٪۷۹/۲)	
انسداد در HSG n=۵۰	دارد	۹(٪۱۸)	۲(٪۲۲/۲)	۷(٪۷۷/۸)	۰/٤۳۲
	ندارد	٤۱(٪۸۲)	۵(٪۱۲/۲۰)	۳۶(٪۸۷/۸۰)	
انسداد در لاپاراسکوپی n=۲۸	دارد	۶(٪۲۱/٤۳)	۲(٪۳۳/۳)	٤(٪۶۶/۷)	۰/۱۹۱
	ندارد	۲۲(٪۷۸/۵۷)	۲(٪۹۵/۱)	۲۰(٪۹۰/۹)	

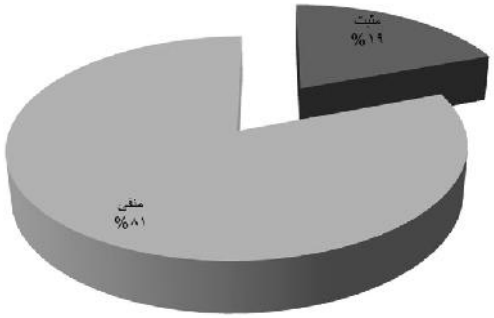
از میان ۲۸ نفری که لاپاراسکوپی شده بودند در ۲۲ نفر (٪۷۸/۵۷) هر دو لوله باز بودند، ۱ نفر (٪۳/۵۷) انسداد لولهٔ چپ، ۲ نفر (٪۷/۱٤) انسداد لولهٔ راست و ۳ نفر (٪۱۰/۷۲) انسداد هر دو لوله را داشتند (نمودار ۱). با در نظرگرفتن فاصله اطمینان ۹۵٪ و سطح معناداری ۰/۰۵، گزارش حاصل از PCR بیماران نشان داد که تنها ۲۶ بیمار (٪۱۹/۳) PCR مثبت داشتند (٪۲۵/۶ -٪۱۲/٤): ۹۵٪ CI) (نمودار ۲) (شکل ۱).



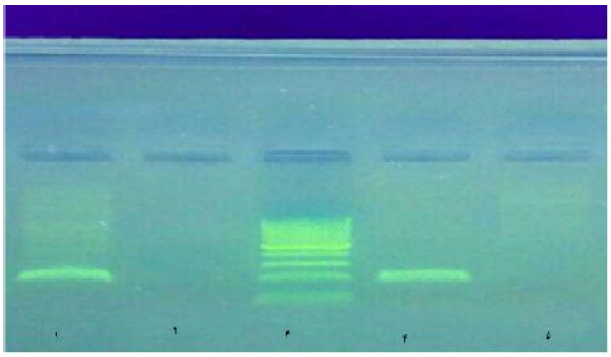
نمودار ۱. فراوانی بیماران با سابقه مثبت لاپاروسکوپی

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۲. فراوانی نسبی بیماران به تفکیک جواب PCR



شکل ۱. تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR باکتری *کلامیدیا تراکوماتیس* (۱. کنترل مثبت ۲. کنترل منفی ۳. DNA Ladder ٤. نمونه مثبت ۵. نمونه منفی)

بحث

عفونت ژنیتال *کلامیدیا تراکوماتیس* به دلیل شیوع بالا و ایجاد عوارض شدید درازمدت شامل نازایی، یکی از نگرانی‌های جدی سلامت عمومی و نیز اقتصادی-اجتماعی می‌باشد [۶]. اثرات مخرب این عفونت در باروری زنان بیش از مردان می‌باشد [۷]. تشخیص زودرس و دقیق عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* نیاز به تکنیک‌های آزمایشگاهی با حساسیت و ویژگی بالا دارد [۶].

کلامیدیا تراکوماتیس توسط آزمایشات روتین از نمونه‌های اندوسرویکال در آزمایشگاههای مراکز بهداشتی شهرستان رشت ارزیابی نمی گردد و بررسی آن نیازمند real time PCR با پروب هیبریدیزاسیون از طریق شناسایی کیفی و کمی *کلامیدیا تراکوماتیس* می‌باشد. این مطالعه با هدف تعیین شیوع *کلامیدیاتراکوماتیس* در سیستم تناسلی زنان دارای مشکل نازائی طرح ریزی شده بود. مطالعهٔ حاضر نشان داد که آلودگی به *کلامیدیاتراکوماتیس* جداشده از سوآب اندوسرویکال در زنان نازا با روش PCR ۱۹/۳درصد بود که این نشاندهنده شیوع بالای این عفونت در جمعیت زنان نازای مراجعه کننده در مطالعه حاضر بود. این موضوع بر نیاز به برنامه‌های غربالگری *کلامیدیاتراکوماتیس* تأکید می‌کند، زیرا *کلامیدیاتراکوماتیس* یکی از پاتوژن‌های شایع و شناخته شده ایجاد نازائی در زنان می‌باشد.

رشد آهسته این ارگانیسم سبب برانگیختن واکنش‌های سریع نمی شود و با توجه به فقدان پاسخ التهابی حاد، اغلب این بیماری ناشناخته باقی می‌ماند که باعث تأخیر در درمان و حتی عدم درمان و در نتیجه صدمهٔ بافتی شدید و عوارض می‌شود [۹]. اغلب زنان مبتلا به *کلامیدیاتراکوماتیس* بدون علامت هستند و حدود ۹۰-۷۰ درصد زنان می‌توانند برای ماه‌ها بدون علامت باقی بمانند [۱۰].

مطالعات قبلی نشان داده اند که شیوع *کلامیدیاتراکوماتیس* در نقاط مختلف دنیا متفاوت است. به طور مثال این میزان در امارات متحده عربی ۲/۶ درصد [۱۱]، در قطر ۵/۳ درصد [۱۲] و در ایران ۲۲-۸/۶ درصد [۱۳-۱۵] گزارش شده است.

شیوع این عفونت در بسیاری از مطالعات در زنان نازا افزایش می‌یابد. به عنوان مثال شیوع آن در زنان نازا در غنا ۲/٤ درصد [۱۶]، اردن ۳/۹ درصد [۱۷]، انگلستان ۱۰/٤ درصد [۱۸]، عربستان سعودی ۱۵ درصد [۱۹]، ایران ۱۵/۳ درصد [۷]، استرالیا ۱۵/۹ درصد [۲۰]، نیجریه ۲۰/۵ درصد [۲۱]، مصر ٤۰ درصد [۲۲] و هند ۷۰ درصد [۲۳] گزارش شده است.

میزان شیوع *کلامیدیا تراکوماتیس* در مطالعهٔ حاضر قابل مقایسه با مطالعهٔ افراخته [۲٤] می‌باشد و میزان آن بالاتر از سایر مطالعات موجود در کشور است. تفاوت شیوع در مطالعهٔ حاضر نسبت به سایر مطالعات

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند به دلیل تفاوت در جمعیت مورد مطالعه، روش کار (حساسیت و اختصاصیت برخی از تست‌ها کمتر از روش PCR است) و یا تفاوت در نوع محیط ترانسپورت برای کلامیدیا باشد.

در مطالعهٔ حاضر وجود عفونت *کلامیدیاتراکوماتیس* با سن، نوع باروری و سابقهٔ فامیلی نازائی ارتباط معنی‌دار نداشت. در مطالعهٔ هاشمی و همکاران [۲۵] روی ۱۲۳ زن مبتلا به سرویسیت با استفاده از تست PCR-EIA، ۱۷ درصد عفونت *کلامیدیاتراکوماتیس* مشاهده شد که بیشترین موارد عفونت در گروه سنی ۴۰-۳۱ سال بود. در مطالعهٔ چمنی تبریزی و همکاران [۲۶] شیوع *کلامیدیاتراکوماتیس* با روش PCR-RFLD ۱۲/۳ درصد و بیشترین فراوانی در گروه ۳۰ سال بود.

محدودیت پژوهش

از محدودیت‌های پژوهش احتمال مصرف آنتی‌بیوتیک توسط بیمار بود.

نتیجه گیری

این مطالعه نشان دهندهٔ احتمال فراوانی بالای *کلامیدیا تراکوماتیس* ژنیتال در زنان نابارور شهرستان رشت بود. فراوانی مشاهده شده در پژوهش حاضر اهمیت برنامه‌های غربالگری در این شهرستان را تأیید می‌نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از کلیه بیماران شرکت کننده در مطالعه و همکاران بیمارستان الزهرا (س) رشت که نهایت همکاری را با محققین داشتند کمال تشکر را دارند.

این پژوهش، برگرفته از پایان نامهٔ رزیدنتی دکتر شروین تبریزیان نمین با شماره ثبت ۶۹۰ و کد اخلاق شماره ۱۹۱۰۰۵۱۵۱۱ در دانشگاه علوم پزشکی گیلان می باشد.

References

1- Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of sequelae after *Chlamydia trachomatis* genital infection in women. J Infect Dis . 2010 Jun;201(Supplement_2):S134-S55.

2- Batteiger BE, Tu W, Ofner S, Van Der Pol B, Stothard DR, Orr DP, et al. Repeated *Chlamydia trachomatis* genital infections in adolescent women. J Infect Dis . 2010 Jan;201(1):42-51.

3- de Lima Freitas NS, Borborema-Santos CM, das Neves DBS, De Oliveira CMC, Ferreira JRD, Astolfi-Filho S .High prevalence detection of *Chlamydia trachomatis* by polymerase chain reaction in endocervical samples of infertile women attending university hospital in Manaus-Amazonas, Brazil. Gynecol Obstet Invest. 2011 Nov;72(4):220-6.

4- French CE ,Hughes G, Nicholson A, Yung M, Ross JD, Williams T, et al. Estimation of the rate of pelvic inflammatory disease diagnoses: trends in England, 2000–2008. Sex Transm Dis. 2011 Mar ;38(3):158-62.

5- Bonneau C, Chanelles O, Sifer C, Poncelet C. Use of laparoscopy in unexplained infertility. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2012 Jul;163(1):57-61.

6- Dhawan B, Rawre J, Ghosh A, Malhotra N, Ahmed MM, Sreenivas V, et al. Diagnostic efficacy of a real time-PCR assay for *Chlamydia trachomatis* infection in infertile women in north India. Indian J. Med. Res. 2014 Aug;140(2):252.

7- Marashi SMA, Moulana Z, Fooladi AAI, Karim MM. Comparison of genital *Chlamydia trachomatis* infection incidence between women with infertility and healthy women in Iran using PCR and immunofluorescence methods. Jundishapur J Microbiol. 2014 Apr;7(4):e9450..

8- Jenab A, Golbang N, Golbang P, Chamani-Tabriz L, Roghanian R. Diagnostic value of PCR and ELISA for *Chlamydia trachomatis* in a group of asymptomatic and symptomatic women in Isfahan, Iran. Int J Fertil Steril. 2009 Feb-Mar;2(4): 193-198.

9- Jones HW, Rock JA. The Lind's operative gynecology. 11th ed. Philadelphia: Lippincott; 2015: 633.

www.SID.ir

Archive of SID

10- Awwad ZM, Al-Amarat AA, Shehabi AA. Prevalence of genital *chlamydia*l infection in symptomatic and asymptomatic Jordanian patients. Int J Infect Dis. 2003 Sep;7(3):206-9.
11- Ghazal-Aswad S, Badrinath P, Osman N, Abdul-Khaliq S, Mc Ilvenny S, Sidky I. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection among women in a Middle Eastern community. BMC women's health. 2004 Jun;4(1):3.
12- Al-Thani A, Abdul-Rahim H, Alabsi E, Bsaisu HN, Haddad P, Mumtaz GR, et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in the general population of women in Qatar. Sex Transm Infect. 2013 Nov;89(Suppl 3):iii57-iii60.
13- Rashidi BH, Chamani-Tabriz L, Haghollahi F, Jeddi-Tehrani M, Naghizadeh MM, Shariat M, et al. Effects of *Chlamydia trachomatis* infection on fertility; a case-control study. J Reprod Infertil. 2013 Apr-Jun; 14(2): 67–72.
14- Safdari H, Safdari A, Tahaghoghi S, Yari A, Ghazvini K. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* among women with genital infection in northeast of Iran in 2013. IJOGI. 2015 May;18(147):1-6. [Full text in Persian]
15- Rashidi BH, Tabriz LC, Haghollahi F, Ramezanzadeh F, Shariat M, Foroushani AR, et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in fertile and infertile women; a molecular and serological study. J Reprod Infertil. 2009 Apr-Jun;10(1): 32-41. [Full text in Persian]
16- Siemer J, Theile O, Larbi Y, Fasching PA, Danso K, 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 Feb;78(2):323-7.
17- Al Ramahi M, Mahafzah A, Saleh S, Fram K. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in infertile women at a university hospital in Jordan. East Mediterr Health J. 2008 Sep-Oct;14(5):1148-54.
18- Hjelholt A, Christiansen G, Johannesson TG, Ingerslev HJ, Birkelund S. Tubal factor infertility is associated with antibodies against *Chlamydia trachomatis* heat shock protein 60 (HSP60) but not human HSP60. Hum Reprod. 2011Aug;26(8):2069-76.
19- Kamel RM. Screening for *Chlamydia trachomatis* infection among infertile women in Saudi Arabia. Int J Womens Health. 2013 Jun; 5: 277–284.
20- 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 Sep-Dec;12(3-4):135-45.
21- Morhason-Bello IO, Ojengbede O, Oladokun A, Adedokun B, Ajayi A, Adeyanju A, et al. The prevalence and outcome of asymptomatic *chlamydia*l infection screening among infertile women attending gynecological clinic in ibadan, South west Nigeria. Ann Med Health Sci Res. 2014 Mar;4(2):253-7.
22- Abdella RM, Abdelmoaty HI, Elsherif RH, Sayed AM, Sherif NA, Gouda HM, et al. Screening for *Chlamydia trachomatis* in Egyptian women with unexplained infertility, comparing real-time PCR techniques to standard serology tests: case control study. BMC women's health. 2015 Jun;15(1):45.
23- Sharma M, Sethi S, Daftari S, Malhotra S. Evidence of Chlamydial infection in infertile women with fallopian tube obstruction. Indian J. Pathol. Microbiol. 2003 Oct;46(4):680-3.
24- Afrakhteh M, Beyhaghi H, Moradi A, Hosseini SJ, Mahdavi A, Giti S, et al. Sexually transmitted infections in Tehran. J Family Reprod Health. 2008 Sep;2(3):123-8.
25- Hashemi FB, Pourakbari B, Yazdi JZ. Frequency of *Chlamydia trachomatis* in women with cervicitis in Tehran, Iran. Infect Dis Obstet Gynecol. 2007: doi:10.1155/2007/67014.
26- Chamani Tl, Jedi Tm, Zeraati H, Asgari S, Tarahomi M, Moeini 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): 485-491. [Full text in Persian]

www.SID.ir