

İNFERİL HASTALARDA ENDOSERVİKAL CHLAMYDİA PCR SONUÇLARI

Ercan YILMAZ*, Ahmet ERDEM*, Aydan BİRİL*, Güldam BOZDAYI**,
Banu BİNGÖL***, Bora DOĞAN****, Nuray BOZKURT*

* Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

** Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara

*** İstanbul Bilim Üniversitesi Metropolitan Florance Nigthingale Hastanesi

**** Ankara Numune Hastanesi Mikrobiyoloji Bölümü

ÖZET

Amaç: Tubal faktör etyopatogenezinde sorumlu tutulan *C. Trachomatis* sıklığının Türk infertil popülasyonunda endoservikal sürüntüden PCR yöntemi ile değerlendirilmesi.

Gereç ve Yöntem: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine infertilite tanısı ile başvuran 61 hastada histerosalpingografi (HSG) işlemi sırasında alınan endoservikal örnekte *C. Trachomatis* PCR pozitifliği ile hastaların HSG sonuçları karşılaştırıldı.

Bulgular: Hastaların 27'si (% 44) primer ve 34'ü (% 56) sekonder infertildi. Primer infertil hasta grubunda 5 hastada (%18), sekonder infertil hasta grubunda ise 8 hastada (% 23) endoservikal *C. Trachomatis* PCR pozitif olarak saptandı. HSG'de tubal faktör saptanan 16 hastadan 3'ünde (% 18.7), tubal patoloji olmayan 45 hastadan ise 10'unda (% 22.2) *C. Trachomatis* PCR yöntemi ile pozitif sonuç alındı. Proksimal ve distal tubal obstrüksiyonu olan hastalar ayrı olarak değerlendirildiğinde ise, distal tubal obstrüksiyon saptanan 9 hastadan 3'ünde (% 33.3) *C. Trachomatis* PCR pozitif olarak saptanırken, proksimal obstrüksiyon saptanan 7 hastanın tamamında *C. Trachomatis* PCR negatif olarak saptandı. Yalnızca distal tubal hasarı olan hastalar dikkate alındığı zaman sensitivite % 33.3, spesifite, %77.7, pozitif prediktif değer, %23, negatif prediktif değer, %85.3 olarak saptandı.

Sonuçlar: İnfertil hastalarda *C. Trachomatis* PCR sonuçlarının distal tubal hastalığı saptamada sensitivitesi düşük ancak spesifitesi ve pozitif prediktif değeri yüksektir.

Anahtar kelimeler: histerosalpingografi, İnfertilite, *C. Trachomatis*, tubal faktör

Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, 2008; Cilt: 5 Sayı: 1 Sayfa: 51- 6

SUMMARY

Endocervical chlamydia PCR results in infertile patients

Aim: Our aim was to evaluate the frequency of *C. Trachomatis* - a microorganism held responsible in the etiopathogenesis of tubal infertility factor- in the Turkish infertile population, using the PCR procedure on endocervical smear samples.

Materials and Methods: In 61 patients presenting with infertility to Gazi University Faculty of Medicine, Obstetrics and Gynecology Department, samples were taken prior to the Hysterosalpingography (HSG) procedure. These samples were then checked for *C. Trachomatis* via PCR and positive test results were later compared with HSG outcomes.

Results: 27 (44%) of the patients were primary infertile and 34 (56%) were classed as being secondary infertile. 5 patients (18%) in the primary infertile group, and 8 patients (23%) in the secondary infertile group tested PCR positive for *C. trachomatis* in their

Yazışma adresi: Uzm. Dr. Ercan Yılmaz. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Beşevler, 06500, Ankara
Tel.: (0312) 202 59 29

e-posta:ercanyilmazgyn@yahoo.com

Alındığı tarih: 05.10.2007, revizyon sonrası alınma: 16.01.2008, kabul tarihi: 21.01.2008

endocervical samples. Out of the 16 patients with a tubal infertility factor evident with HSG, 3 patients (18.7%) tested positive for *C. Trachomatis*, and out of the 45 patients showing no tubal pathology 10 patients (22.2%) were positive for *C. Trachomatis*. When patients with proximal and distal tubal obstruction were individually evaluated; of the 9 patients with distal tubal obstruction, 3 (33.3%) patients had a positive PCR result for *C. Trachomatis* and all of the 7 patients with proximal tubal obstruction tested PCR negative for *C. trachomatis*. When patients with a distal tubal pathology were evaluated alone, this test showed a sensitivity of 33.3%, a specificity of 77.7%, a positive predictive value of 23% and a negative predictive value of 85.3%. **Results:** The evaluation of *C. trachomatis* with PCR in infertile patients showed low sensitivity but high specificity and positive predictive value in finding distal tubal pathologies

Key words: *C. Trachomatis*, hysterosaphingography, infertility, tubal factor

Journal of Turkish Society of Obstetric and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2008; Vol: 5 Issue: 1 Pages: 51- 6

GİRİŞ

K. Trachomatis, tüm dünyada en yaygın seksüel geçişli bakteriyel enfeksiyon ajanı olarak bilinir⁽¹⁾. K. Trachomatis enfeksiyonu, bayanlarda alt genital sistemde servisit ve üretrite neden olur iken, üst genital sistemde ise endometrit ve salpinjite neden olur⁽²⁾. K Trachomatis gelişmiş ülkelerde tubal infertilitenin en sık sebebidir⁽³⁾ ve tubal faktör, tüm infertil populasyon göz önüne alınırsa gelişmiş ülkelerde %10-30 oranında⁽⁴⁾, gelişmekte olan ülkelerde ise % 80'e varan oranlarda infertiliteye neden olduğu bilinmektedir⁽⁵⁾.

K. Trachomatis, genellikle kolumnar epiteli istila eder, tuba uterinaların ampullar segmentlerinde yoğun olarak intrasellüler formda kalır. Böylece, çoğunlukla distal tubal hasara neden olarak infertiliteye yol açar⁽⁶⁾. Tubal hasar infertilitenin en yaygın nedenidir ve tanıda laparoskopi veya histerosalpingografi yöntemleri uygulanabilir⁽⁷⁾. Laparoskopi, tubal patoloji tanısında altın standart olarak kabul edilir⁽⁷⁾. İnfertilite tanısı ile yapılan diagnostik laparoskopi de eksplorasyonda, fimbrial yapışıklık, tubal oklüzyon, pelvik adezyonlar izlenebilir. Hücre içinde yerleşim gösterdiği için K. Trachomatis'in dokudan izolasyonu oldukça güçtür. En uygun ve kesin sonuç veren yöntem doku kültürlerinde K. Trachomatis suşlarının üretilmesidir. Doku kültürleri, DNA amplifikasyon teknikleri ile karşılaştırıldığı zaman K. Trachomatis izolasyonu açısından sensitivitesinin daha düşük olduğu anlaşılmıştır⁽⁹⁾. DNA amplifikasyon teknikleri içinde, sensitivite ve spesifitesi yüksek olan Polymerase Chain Reaction (PCR) yöntemi en yaygın tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır⁽⁹⁾. C. Trachomatis Amplicor Polymerase Chain Reaction (APCR), Enzyme Immuno Assay (ELISA), C. Trachomatis Antibody Titre (CAT) gibi yöntemlerle de tespit edilebilir. Ancak, sensitivitesi

en yüksek olan yöntem PCR'dır⁽¹⁰⁾.

Biz bu çalışmada tubal faktör etyopatogenezinde sorumlu tutulan K. Trachomatis sıklığının Türk infertil populasyonunda endoservikal sürütüden PCR yöntemi ile değerlendirilmesi ve sonuçların HSG bulgularıyla karşılaştırılarak K. Trachomatis PCR sonuçlarının tubal faktörü öngörmedeki duyarlılığını saptamayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine infertilite tanısı ile başvuran 61 hastadan histerosalpingografi (HSG) işlemi sırasında alınan endoservikal örnekte K. Trachomatis PCR pozitifliği ile hastaların HSG sonuçları karşılaştırıldı. Hastaların 27'si (% 44) primer ve 34'ü (% 56) sekonder infertildi. Hastalardan K. Trachomatis identifikasyonu için sırasıyla şu işlemler uygulandı.

Örnekler: Steril aspiratör ile yıkanan douglasdan alınan sitolojik yıkama materyali steril fosfat tampon solüsyonu (PBS [pH 8.0]) içerisine aktararak mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırılmıştır. Ve çalışma zamanına kadar -20C de depolanmıştır.

DNA elde edilmesi: Fenol- kloroform- izoamilalkol ile DNA saflaştırılması yapıp ardından 3M sodyum asetat içeren saf etanol eklenerek -20C'de bir gece bekletilerek çöktürme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA hemen çoğaltılmayacaksa -20C'ye kaldırılmıştır.

DNA'nın çoğaltılması: Bu çalışmada Klamidya'ya özgül primerleri içeren çoğaltma karışımı (amplifikasyon miski) kullanılarak 2 türlü PCR yapılarak klamidya DNA'ları elde edilmiştir. Çoğaltılan ürünler etidyum bromid içeren %1.5'lük agaroz jelde yürütülmüş ve sonra UV transiluminatör altında

klamidya için 250 bp uzunluğunda C. Trachomatis'e ait band aranmıştır.

Kullanılan primerler;

1. tur primerleri

Primer 1F 5' GGGATTCCTGTAACAACAAG 3'

Primer 1R 5' TCCTCAGAAGTTTATGCACT 3'

2. tur primerleri

Primer 2F 5' GTGTTCTTATTGTTCTGGGG 3'

Primer 2R 5' TGACGGAGTACAAACGCCTAG 3'

Hasta sonuçlarının değerlendirilmesinde istatistiksel analiz için The Statistical Program for Social Sciences (SPSS, version 11.5; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı.

BULGULAR

Kliniğimize infertilite nedeni ile başvuran 61 hastadan HSG işlemi öncesinde endoservikal smear örnekleri alındı. Bu örneklerden PCR yöntemi ile K. Trahomatis identifiye edilmeye çalışıldı. Hastaların 27'si (% 44) primer ve 34'ü (% 56) sekonder infertildi. Primer infertil hasta grubundan, 5 hastada (%18), sekonder infertil hasta grubundan ise 8 hastada (% 23) endoservikal K. Trahomatis PCR pozitif olarak saptanırken iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p<0.05$). HSG'de tubal faktör saptanan 16 hastadan 3'ünde (% 18.7), tubal patoloji olmayan 45 hastadan ise 10'unda (% 22.2) klamidya PCR yöntemi ile pozitif sonuç alındı; gruplar arasında fark saptanmadı.

K. Trahomatis PCR'nin HSG'de tubal faktörü önceden bildirmede sensitivitesi % 19, spesifitesi %78, pozitif prediktif değer, % 23, negatif prediktif değer ise, % 73 olarak saptandı. Proksimal ve distal tubal obstrüksiyonu olan hastalar ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise, distal tubal obstrüksiyon saptanan 9 hastadan 3'ünde (% 33.3) K. Trahomatis PCR pozitif olarak saptanırken, proksimal obstrüksiyon saptanan 7 hastanın tamamında K. Trahomatis PCR negatif olarak saptandı (Tablo I). Yalnızca distal tubal hasarı olan hastalar dikkate alındığı zaman sensitivite % 33.3, spesifite %77.7, pozitif prediktif değer, %23, negatif prediktif değer, %85.3 olarak saptadık.

Tablo I: Tubal patoloji saptanan hastalarda K. Trahomatis PCR sonuçları

	HSG		
	Tubal faktor yok	En az bir tüpte distal obstrüksiyon	En az bir tüp proksimal obstrüksiyon
Klamidya Negatif (PCR)			
Hasta Sayısı:	35	6	7
%:	77.8	66.7	100
Klamidya Pozitif (PCR)			
Hasta Sayısı:	10	3	0
%:	22.2	33.3	0
Total			
Hasta Sayısı:	45	9	7
%:	100	100	100

TARTIŞMA

Pelvik inflamatuvar hastalık (PID) tubal kaynaklı infertilitenin en önemli nedenidir.

En önemli PID etkenleri olarak C. Trahomatis, N. Gonorrhoeae, yada her ikisinin neden olduğu hastalıklar sayılabilir⁽⁶⁾. Literatürde yapılan çalışmalar, K. Trahomatisin eradikasyonu ile pelvik inflamatuvar hastalıkların yarısından fazlasının önlenildiğini göstermiştir⁽¹¹⁾. PID önemli bir klinik sorundur ve tubal faktör bağımlı infertilitenin ve ektopik gebeliğin en önemli nedenlerindedir⁽¹¹⁾. Westrom'un yaptığı klinik çalışmalar; reproduktif hayatı boyunca bir kez PID atağı geçiren hastada tubal faktöre bağlı infertilite gelişme insidansının %10, iki kez PID atağı geçirmesi durumunda tubal infertilite gelişme insidansının %20, üç kez PID atağı geçirmesi durumunda bu oranın %40 ve üzerinde olduğunu göstermiştir⁽¹⁰⁾. Tubal patolojiye bağlı infertilite tanısı alan hastaların çoğu asemptomatiktir ve PID tanısı konamayabilir. Özellikle K. Trahomatis'e bağlı PID olgularının çoğu asemptomatik ve subklinikdir. Seroepidemiolojik çalışmalar K. Trahomatis enfeksiyonu geçiren veya asemptomatik taşıyıcı olan hastalarda, K. Trahomatis antikolları ile tubal patoloji arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermiştir⁽⁶⁾.

Hayatında bir kez yada daha fazla PID atağı geçiren (özellikle K. Trahomatis kaynaklı) kadınlar, normal popülasyona göre daha fazla tubal kaynaklı infertilite tanısı almaktadırlar. Leng ve ark. tubal infertilite nedeni ile laparoskopi yapılan hastaların büyük bir kısmında, distal fallopian tüplerinden alınan biopsilerden invitro ortamlarda çeşitli Klamidya serotipleri üretmeyi başarmışlardır⁽¹²⁾. K. Trahomatis, distal ampullar

segmentte yoğun olarak bulunur ve kolumnar epiteli invaze ederek hücre içinde uzun yıllar asemptomatik olarak kalabilir. Bilinmeyen bir nedenle ki bu çoğunlukla uterin enstrumentasyon (HSG, Laparoskopi, IUD ...) sonucu gerçekleşir, bakteri reaktif olarak immüno patolojik mekanizmalarla tubal hasara neden olur. Tubaperitoneal patoloji tanısında laparoskopi ve HSG kullanılır. Laparoskopi en iyi tanı aracı olsada, günümüzde HSG en yaygın kullanılan ve en pratik olan tanı yöntemidir (6).

K. Trahomatis enfeksiyonuna bağlı tubal infertilitesi olan hastalarda HSG bulgularının tubal hasarı değerlendirmedeki sensitivite ve spesifitesi düşüktür. Özellikle K. Trahomatis enfeksiyon sonrası gelişen tubal hasar derecesi ile K. Trahomatis antikorlarının (KAT) titresi arasında daha yüksek oranda pozitif korelasyon saptanmıştır(6).

Yıldız ve ark. 469 bayan hastanın kanlarında K. Trahomatis Ig G düzeylerini enzim immünassay (EIA) yöntemi ile araştırmış. 35 hastanın kan örneğinde K. Trahomatis Ig G antikor düzeyleri pozitif olarak saptanmıştır (%7.46). En yüksek oran infertil hasta grubunda saptanmıştır (%11.17)(12).

Kelver ve ark. 114 infertil hasta grubunda KAT ile laparoskopik bulguları karşılaştırmışlar. 74 hasta da (%65) pozitif titre bulunmuş, bu hastaların 57'sinde (%77), tubal obstrüksiyon, 3 hastada kornual obstrüksiyon ve 10 hasta da peritubal adezyon saptanmıştır(13).

Sarov ve ark. 80 infertil hasta grubunda K. Trahomatis antikor titreleri ile bu hastaların HSG'leri arasında korelasyon kurmuşlardır. HSG' de patoloji saptanan 50 hasta da pozitif K. Trahomatis antikor titreleri elde edilmiş. Diğer 30 hastanın HSG filmlerinde patoloji saptanmamış ve antikor titreleri normal seviyelerde olduğu izlenmiştir(14).

K. Trahomatis enfeksiyonunu saptamada bir çok tekniğin birbirine göre alternatifi olsa da, son birkaç yılda Klamidya DNA hibridizasyon tekniği (özellikle PCR) artmış sensitivite ve spesifitesi ile ön plana çıkmaktadır (9). PCR yöntemi semptomatik ve asemptomatik hastalarda K. Trahomatis enfeksiyon riskini farklı derecelerde tespit edebilmektedir(15).

Literatürde yapılan çalışmalar incelendiği zaman PCR tekniğinin diğer tekniklere göre K. Trahomatis tanısında belirgin olarak yüksek sensitivite ve spesifitesinin olduğu görülmektedir. Wiesenfeld ve ark.'nın yaptığı çalışmada PCR tekniğinin sensitivitesi %43, spesifitesi ise %100 olarak bulunmuştur(16). Skulnick ve ark.'nın 993 hasta

üzerinde yaptıkları diğer bir çalışmada PCR tekniğinin sensitivitesi %61, spesifitesi ise %100 olarak bildirilmiştir(17). Domeika ve ark.'nın yaptığı diğer bir çalışmada 184 hasta değerlendirilmiş ve PCR tekniğinin sensitivitesi %85, spesifitesi %100 olarak bulunmuştur (18).

K. Trahomatis, endoservikte hasta asemptomatik iken kolonize olabilir. Herhangi bir uterin intrumantasyon yolu ile (HSG, Laparoskopi, RIA takılması esnasında, gibi) assendan yolla üst genital sisteme yayılabilir. Böyle bir durumda endoservikal PCR örnekleme negatif sonuç verse de, hasta K. Trahomatis açısından asemptomatik taşıyıcı olabilir(6).

Rota ve ark. 40 infertil ve 20 fertil olmak üzere 60 hasta popülasyonunda endoservikal hücre kültürlerinde Direct Fluorescence Assay (DFA) ile K. Trahomatis varlığını araştırmışlar. 6 asemptomatik infertil hasta da (% 15) pozitif sonuç elde etmişlerdir(19).

Tan ve ark. 1182 asemptomatik bayanın endoservikal smear örneğinde PCR yöntemi ile C. Trahomatis araştırılmış, 48 hasta da (%4.1) K. Trahomatis pozitif olarak saptanmışlardır(20).

George ve ark. 63 erkek, 80 kadın olmak üzere 143 hastada idrar ve endoservikal smear örneklerinde K. Trahomatisi izole etmeye çalışmışlar. PCR yöntemi ile 24 erkek hastanın (%38.1) idrar örneğinde, 22 bayan hastanın (%27.5) endoservikal örneğinde K. Trahomatis bakterisini pozitif olarak tespit etmişlerdir(21).

Levidiotou ve ark. 16.834 kadın, 1035 erkek hastadan idrar ve endoservikal smear örneklerinde PCR yöntemi ile K. Trahomatis DNA'sı izole edilmeye çalışılmış, 8000 semptomatik kadından 329'unda (%4.1), 8834 asemptomatik kadından 259'unda (%2.9) PCR ile pozitif sonuçlar alınmış. Semptomatik 1000 erkek hastadan 116'sında (%11.6) PCR ile pozitif sonuçlar alınırken, asemptomatik 35 hastanın tamamında idrar örneklerinde negatif sonuçlar alınmıştır(15).

Robertson ve ark. HSG' de tubal patolojisi olan 48 infertil hasta ve bilateral tubaları normal olan 77 infertil hastada ELİSA yöntemi ile K. Trahomatis antijenlerini araştırmışlar. Sonuç olarak, tubal patoloji saptanan grupta olan hastaların %73'ün de K. Trahomatis antijeni pozitif olarak bulunmuştur(22).

Valentine ve ark. 1119 infertil hastaya laparoskopi uygulamışlar, aynı zamanda bu hastaların tümünde serolojik olarak K. Trahomatis antikorunu araştırmışlardır. Laparoskopik olarak tubal hasar saptanan hastalarda belirgin olarak K. Trahomatis antikor düzeyini yüksek titrelerde bulmuşlardır(7).

Tubal patoloji ve K. Trachomatis antijen arasında ki ilişkiyi açıklamaya çalışan Lucisano ve ark. yaptığı bir başka çalışma da ise, infertilite tanısı alan 105 hastaya laparoskopi yapılmış, aynı zamanda alınan doku biopsilerinden hücre kültürlerinde K. Trachomatis suşları izole edilmeye çalışılmış. Sonuç olarak; tubal infertilitesi olan 42 hastadan 13'ünde (%30.9) K. Trachomatis antijenine saptanmıştır^(23,24). K. Trachomatis ve tubal hasar arasındaki ilişkiyi KAT titre düzeyleri ile değerlendiren ve 1119 hastanın dahil edildiği bir çalışmada; laparoskopide herhangi bir patoloji saptanamayan hastaların serum KAT titresi 1:64'ün altında (negatif sonuç) olduğu görülmüşken, ciddi tubal hasar saptanan olgularda bu değer 1:4096 (pozitif sonuç) olduğu saptanmıştır⁽²⁵⁾.

Sonuç olarak, literatürde yapılan çalışmalar Klamidya Trachomatis ile tubal patoloji arasında ki ilişkiyi ortaya çıkarmaktadır. K. Trachomatis hücre içinde çoğalan bir bakteri olduğu için izolasyonu diğer enfeksiyon ajanlarına göre daha zor ve zahmetlidir. K. Trachomatis antikorlarını tanımlama için EIA, ELISA, MIF gibi yöntemler, etken patojeni izole etmek için hücre kültürleri kullanılsa da, son zamanlarda sensitivitesi ve spesifitesi en yüksek olan ve K. Trachomatis DNA yapısını ortaya çıkarıp sero tiplendirmesini sağlayan PCR yöntemi, diğer yöntemlerin yerini almıştır. Biz bu çalışmada, HSG de distal tubal patoloji saptanan Türk infertil hasta popülasyonunda endoservikal K. Trachomatis varlığını PCR yöntemi araştırdık. Aldığımız sonuçlarla infertil hastalarda C. Trachomatis PCR sonuçlarının distal tubal hastalığı saptamada sensitivitesi düşük ancak spesifitesi ve pozitif prediktif değerinin yüksek olduğu sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

1. Gates W, Wasserheit JN. Genital chlamydia infections: Epidemiology and reproductive sequelae. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 1771.
2. Dong ZW, Li Y, Zhang LY, Liu RM. Detection of Chlamydia trachomatis intrauterin infection using polymerase chain reaction on chorionic villi. *Int J Gynecol Obstet* 1998; 61: 29- 32.
3. Judson FN. Epidemiology and control of nongonococcal urethritis and genital Chlamydia infections: a review. *Sex Transm Dis* 1981; 8: 117- 26.
4. Hull MGR, Glazener CM, Kelly NJ et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *British Med J* 1985; 7: 717- 25.
5. World Health Organization. Infections, pregnancies, and infertility: perspectives on prevention. *Fertil and Steril* 1987; 47: 964- 8.
6. Jolande A. Land, Johannes L. H. Evers. Chlamydia infection and subfertility. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology*. 2002 Vol. 16, No. 6, pp. 901- 12,
7. Valentine AA et al. Tubal damage in infertile women: prediction using chlamydia serology. *Human Reprod*. 2003; 18: 1841- 7.
8. Skulnick M. et al, Use of the polymerase chain reaction for the detection of Chlamydia trachomatis from endocervical and urine specimens in an asymptomatic low-prevalence population of women. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 1994 Dec; 20(4): 195- 201.
9. Black CM. Current methods of laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. *Clinical Microbiology Reviews*. 1997; 10: 160- 84.
10. Weström L. Incidens, prevalence, trends acute pelvic inflammatory disease and its consequences in industrialized countries. *Am J of Obstet and Gynecol* 1980; 138: 880- 92.
11. Honey E, Templeton A. Prevention of pelvic inflammatory disease by the control of C. Trachomatis infection. *Int J Gynecol Obstet*. 2002; 78: 257- 61.
12. Yıldız A, Guner H, Rota S, Gürsoy R, Erdem A. Use of the polymerase chain reaction for the detection of Chlamydia trachomatis from endocervical and urine specimens in an asymptomatic low-prevalence population of women. *Gynecol Obstet Invest*. 1990; 29(4): 282- 4.
13. Kelder ME, Nagamani M. Chlamydial serology in women with tubal infertility. *Int J Fertil*. 1989; 34: 42- 5.
14. Sarov et al. Specific IgG and IgA antibodies to Chlamydia trachomatis in infertile women. *Int J Fertil*. 1986; 31: 193- 7.
15. Levidiotu S et al. Chlamydia trachomatis infections in Greece: first prevalence study using nucleic acid amplification tests. *Eur J Microbiol Infect Dis*. 2005; 24: 207- 13.
16. Wiesenfeld, H. C., M. Uhrin, B. W. Dixon, and R. L. Sweet. Diagnosis of male Chlamydia trachomatis urethritis by polymerase chain reaction. *Sex Transm Dis*, 1994; 21: 268- 71.
17. Skulnick, M., R. Chua, A. E. Simor, D. E. Low, H. E. Khosid, S. Fraser, E. Lyons, E. A. Legere, and D. A. Kitching. Use of the polymerase chain reaction for the detection of Chlamydia trachomatis from endocervical and urine specimens in an asymptomatic low-prevalence population of women. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1994; 20: 195- 201.
18. Domeika, M., M. Bassiri, and P.-A. Mårdh. 1994. Diagnosis of genital Chlamydia trachomatis infections in asymptomatic

- males by testing urine by PCR. *J Clin Microbiol* 1994, 32: 2350- 2.
19. Rota S, Yildiz A, Kuştimur S, Akbaş E, Günay A, Güner H. Sample adequacy in detecting *Chlamydia trachomatis*. *Int J Gynecol Obstet.* 1995; 51: 225- 8.
 20. Tan HH, Chan R. Use of polymerase chain reaction on pooled cervical swabs to detect *Chlamydia trachomatis* infections in female workers in Singapore. *Singapore Med J.* 2005; 46: 215-8.
 21. George JE et al. Evaluation of Diagnostic Efficacy of PSR Methods for *Chlamydia trachomatis* Infections in Genital Urine Specimens of Symptomatic Men and Women in India. *Jpn J Infect Dis.* 2003; 56: 88- 92.
 22. Leng Z, Moore DE, Mueller BA. Characterization of ciliary activity in distal Fallopian tube biopsies of women with obstructivetubal infertility. *Human Reprod.* 1998; 13: 3121-7.
 23. Robertson JN, Ward ME, Conway D, Caul EO. Chlamydial and gonococcal antibodies in sera of infertile womwn with tubal obstruction. *J Clin Pathol.* 1987; 40: 377- 83.
 24. Lucisano A, Morandotti G, Marana R, Leone F, Branca G. Chlamydial genital infections and laparoscopic findings in infertil women. *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 645- 9.
 25. Akande AV, Hunt LP, Cahill JD, et al. Tubal damage in infertile women: prediction using chlamydia serology. *Hum Reprod* 2003; 18: 9: 1841- 7.