

بررسی شیوع گاردنرلا واژینالیس در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیرباکتریایی مراجعه کننده به کلینیک زنان بیمارستان امام حسین (ع) در بهار و تابستان ۱۳۹۵

سحر هنرمند جهرمی^{۱*}، مریم عیدی^۲، امید حسینی^۳، الهام بوالحسنی^۴، زهرا سادات حسینی^۵

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۰۸/۲۰ تاریخ پذیرش ۱۳۹۶/۱۰/۰۸

چکیده

پیش زمینه و هدف: واژینوز باکتریایی یک خطر جدی برای زنان به ویژه زنان باردار می باشد، زیرا آن ها را در معرض مشکلات متعددی قرار می دهد. شایع ترین علت ایجاد کننده ی واژینوز باکتریایی، انواع میکروارگانسیم های بی هوازی از جمله گاردنرلا واژینالیس است. هدف از انجام این تحقیق بررسی شیوع گاردنرلا واژینالیس در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی مراجعه کننده به کلینیک زنان بیمارستان امام حسین (ع) بود.

مواد و روش کار: مطالعه روی نمونه های واژینال ۵۰۰ زن مراجعه کننده به کلینیک زنان بیمارستان امام حسین (ع) تهران انجام گرفت. بیماران مبتلا به واژینوز وارد مطالعه شدند و داده های دموگرافیک بیماران مطالعه شد. بر اساس معیارهای آملسل واژینوزها به گروه های واژینوز باکتریایی و غیرباکتریایی تقسیم شدند. به منظور شناسایی جدایه های گاردنرلا واژینالیس، ترشحات در محیط کشت اختصاصی کلمبیا آگار خون دار و تحت شرایط بی هوازی کشت داده شده و پس از رنگ آمیزی گرم، تست های بیوشیمیایی انجام شد. جهت تعیین هویت جدایه ها از روش مولکولی PCR استفاده شد. آنالیز داده ها توسط نرم افزار آماری SPSS و آزمون مربع کای (χ^2) انجام شد.

یافته ها: از ۵۰۰ بیمار، ۲۲۰ بیمار مبتلا به واژینوز تشخیص داده شدند که ۵۶/۸۱ درصد واژینوز باکتریایی و ۴۳ درصد واژینوز غیر باکتریایی داشتند. شیوع گاردنرلا واژینالیس ۲۱/۸ درصد بود که به ترتیب ۶۰/۴ درصد و ۳۹/۵ درصد شیوع آن، در بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی بود. ارتباط معنی داری بین گروه های سنی و روش پیش گیری از بارداری به وسیله IUD با واژینوز باکتریایی مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری: میزان بالایی از فراوانی گاردنرلا واژینالیس در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی تأیید کننده اهمیت نقش باکتری در بروز واژینوز باکتریایی است. شناسایی عوامل پاتوژن عامل عفونت های واژینال باکتریایی با استفاده از روش های صحیح مبتنی بر کشت جهت اتخاذ روش صحیح درمانی در جوامع مختلف ضروری است.

کلیدواژه ها: شیوع، واژینوز باکتریایی، واژینوز غیر باکتریایی، گاردنرلا واژینالیس

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره اول، ص ۴۹-۳۹، فروردین ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: ورامین، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا، دانشکده علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی، تلفن: ۰۹۱۲۴۳۶۴۲۵۷

Email: sahar_hj2@yahoo.com

مقدمه

تریکومونازیس مسئول ۹۰ درصد موارد واژینیت عفونی هستند (۱). مطالعات نشان داده که واژینوز باکتریایی (BV) عامل ۴۰-۵۰ درصد از عفونت های دستگاه تناسلی است (۲). عوامل ایجاد کننده ترشح غیراختصاصی دستگاه تناسلی یا واژینوز باکتریایی

واژینیت یک اصطلاح پزشکی برای التهاب و یا عفونت واژن بوده و یکی از بیماری های شایع در میان بیش از یک سوم زنان در سراسر جهان می باشد (۱، ۲). واژینوز باکتریایی، کاندیدیازیس و

^۱ استادیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا، ورامین، ایران (نویسنده مسئول)

^۲ استاد گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پیشوا، ورامین، ایران

^۳ کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

^۴ دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا، ورامین، ایران

^۵ استاد گروه زنان و مامایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

جهدت کمک به تشخیص بالینی واژینوز باکتریال آماده نمی‌شود، لذا، اکثر پزشکان تمایل به استفاده از معیارهای بالینی ساده ولی درعین حال دقیق مانند آمسل به جای استفاده از این روش دارند (۱۳). وجود حداقل ۳ معیار از ۴ معیار pH واژینال بیشتر از ۴/۵، وجود سلول‌های کلیدی (clue cell) در گستره مرطوب، آزاد شدن بوی آمین با اضافه کردن هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به یک قطره از ترشحات واژن و وجود ترشح واژینال رقیق و یکنواخت، تشخیص واژینوز را قطعی می‌کند (۱۴). گاردنرلا واژینالیس تنها گونه جنس گاردنرلا است که اگرچه میزان جداسازی این ارگانسیم از بیماران مبتلا به واژینوز باکتریال با توجه به تنوع در انتخاب مواد، روش‌ها و معیارهای تشخیصی از ۶ تا ۹۴ درصد متغیر است، ولی علت اصلی التهاب باکتریایی ناحیه مهبل شناخته شده است (۱۵). مطالعات قبلی نشان داده که اگرچه گاردنرلا واژینالیس با شرایط بالینی مختلف ارتباط دارد ولی در نمونه‌های واژینال افراد سالم هرچند کم‌تر از نمونه‌های واژینوز باکتریایی نیز حضور دارد (۱۶). هدف از این تحقیق بررسی میزان شیوع عفونت واژینوز گاردنرلایی در زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیرباکتریایی مراجعه‌کننده به کلینیک زنان و مامایی بیمارستان امام حسین (ع) تهران بود.

مواد و روش کار

در این مطالعه توصیفی مقطعی، ۵۰۰ زن مراجعه‌کننده به مرکز درمانی زنان و زایمان بیمارستان امام حسین تهران از اسفند ۱۳۹۴ لغایت مرداد ۱۳۹۵ مورد بررسی قرار گرفتند. با کسب رضایت‌نامه از بیماران و تهیه پرسشنامه‌های حاوی مشخصات بیمار مانند سن، دلیل مراجعه، علائم، سابقه استفاده از آنتی‌بیوتیک یا پمادهای واژینال، سوابق بیماران جمع‌آوری شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل وجود ترشحات و علائم بالینی مثبت در شرح حال بیمار (ترشحات غیرطبیعی واژن، خارش واژن و سوزش ادرار)، زنان در سنین باروری، عدم استفاده از کرم داخلی و دوش واژینال در سه روز قبل از مراجعه، عدم خونریزی واضح واژینال و فقدان بارداری پرخطر هستند.

نمونه‌برداری و تشخیص واژینوز باکتریایی:

از قسمت تحتانی دستگاه تناسلی زنان مراجعه‌کننده، نمونه‌برداری با ۳ سواب به عمل آمد. سواب‌ها برای انجام تست آمین، مشاهده میکروسکوپی و کشت استفاده شدند. به‌منظور تشخیص واژینوز باکتریال از ۴ معیار تشخیصی امسل استفاده شد که شامل

متفاوت هستند، ولی شایع‌ترین علت ایجادکننده آن انواع میکروارگانسیم‌های بی‌هوازی می‌باشد. فلور نرمال واژن عمدتاً از میکروارگانسیم‌های بی‌هوازی اختیاری مانند لاکتوباسیل‌ها تشکیل شده است (۳، ۴). میکروبیولوژی واژن توسط فاکتورهای تعیین می‌شود که بر روی قدرت باکتری‌ها برای زنده ماندن تأثیر می‌گذارد. این فاکتورها شامل PH واژن، وجود اسیدلاکتیک تولیدشده توسط لاکتوباسیل‌ها و عوامل هورمونی مثل استروژن است که سلول‌های اپیتلیال واژن را پر از گلیکوژن می‌سازد که توسط لاکتوباسیل‌ها به اسیدلاکتیک تبدیل می‌شود (۵). هر عاملی بر روی این دو جزء اصلی تأثیر بگذارد می‌تواند زمینه را برای عفونت واژینال و واژینوز باکتریایی مهیا سازد. در واژینوز باکتریایی تعداد باکتری‌ها به 10^{11} - 10^9 cfu/mL رسیده و لاکتوباسیل‌های هوازی آن کاهش یافته و باکتری‌های بی‌هوازی مانند گاردنرلا واژینالیس، آتوپوبیوم واژینا^۱، باکتروئیدیس^۲ و مایکوپلاسما هومینیس^۳ افزایش می‌یابند (۶). چندین فاکتور می‌تواند ترکیب فلور واژن را تغییر بدهد که شامل سن بیمار، میزان فعالیت جنسی، شرایط هورمونی بدن و وضعیت بهداشت هستند. عدم درمان مناسب واژینوز باکتریایی می‌تواند عوارض جدی از قبیل بیماری‌های التهابی لگن، نازایی، درد مزمن لگن، زایمان زودرس، عفونت‌های رحم، عفونت مایع آمینیوتیک و اندومتریت و خطر ابتلا به HIV را در زنان مبتلا به دنبال داشته باشد (۷-۱۰). بنابراین، تشخیص زودرس واژینیت‌ها و درمان آن‌ها، اهمیت بسیاری دارد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که واژینوز باکتریایی می‌تواند سبب عفونت‌های ادراری شود (۱۱). تشخیص عامل واژینیت‌ها، از طریق بررسی شکایات بیماران، معاینه بالینی و روش‌های آزمایشگاهی امکان‌پذیر است. اما بر اساس اعلام سازمان جهانی بهداشت، در کشورهای درحال توسعه انجام این آزمایش‌ها به سهولت امکان‌پذیر نیست. به‌علاوه، محدودیت در دسترسی به خدمات پزشکی، پایین بودن سطح آگاهی و موانع فرهنگی از علل تأخیر درمان این بیماری محسوب می‌شوند. از بین روش‌های تشخیصی بالینی معیار آمسل^۴ و سیستم درجه‌بندی ناجنت^۵ روش‌هایی هستند که بیشتر مورد استفاده قرار می‌گیرند. معیار ناجنت به دلیل حساسیت بالا به‌عنوان استاندارد طلایی تشخیص واژینوز باکتریال در نظر گرفته می‌شود (۱۲)، بااین حال این روش وقت‌گیر و پرهزینه بوده و تفسیر نتایج آن نیاز به امکانات و متخصصین آزمایشگاهی دارد و در اغلب موارد نیز نتایج آن به‌موقع

⁴ Amsel

⁵ Nugent

¹ Atopobium vaginae

² Bacteroides

³ Mycoplasma hominis,

polymerase (شرکت سینا کلون)، ۱۰ پیکومول از هر یک از پرایمرها و ۲۰ نانوگرم DNA باکتریایی انجام گرفت. برنامه دمایی و زمانی PCR شامل مرحله واسرشت اولیه ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، مرحله واسرشت ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، مرحله اتصال ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۵۵ ثانیه، مرحله بسط ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه در ۳۰ سیکل و مرحله بسط نهایی ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه بود. جهت بررسی محصولات PCR نمونه‌ها بر روی ژل آگارز ۱ در صد انتقال داده شده و بعد از رنگ‌آمیزی در دستگاه ژل داک مورد بررسی قرار گرفت.

آنالیز آماری:

به منظور بررسی شیوع واژینوز باکتریایی و بررسی شرایط دموگرافی بیماران و فراوانی سویه‌های گاردنرلا واژینالیس جدا شده از بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۹ و آزمون مربع کای استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

از ۵۰۰ زن مشکوک به ابتلا به انواع واژینیت‌ها که با شکایت ترشحات و علائم بالینی مثبت به بخش زنان در بیمارستان امام حسین (ع) مراجعه کردند و مورد معاینه بالینی قرار گرفتند، بر اساس معیارهای تشخیصی بالینی برای جداسازی مبتلایان به واژینوز شامل وجود ترشحات فراوان، بوی بد ترشحات، احساس سوزش و دیسپارونی، ۲۲۰ بیمار (۴۴ درصد) شناسایی و انتخاب شدند.

واژینیت باکتریایی از واژینیت غیر باکتریایی بر اساس معیار امسل تفکیک داده شد. سویه‌هایی که از ۴ مورد ۳ مورد از خصوصیات را داشتند و به‌ویژه واجد سلول‌های کلیدی بودند به‌عنوان واژینوز باکتریایی شناسایی شدند (شکل ۱).

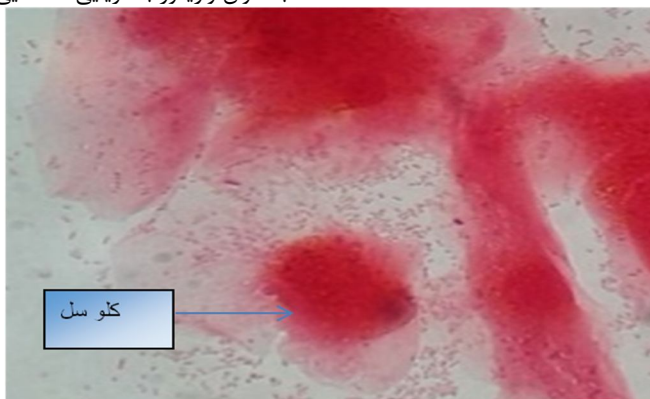
بررسی ترشح واژینال، رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده مستقیم لام حاوی سلول‌های کلیدی، انجام تست ویف (Whiff) با افزون هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به یک قطره از ترشحات واژن و استنشام بوی آمین و اندازه‌گیری pH ترشحات واژینال بودند (۱۴).

کشت و جداسازی گاردنرلا واژینالیس:

یکی از سوآب‌ها روی محیط کشت کلمبیا آگار (شرکت کیولب/کانادا) حاوی ۵ درصد خون گوسفند همراه با ۲ میلی‌گرم جنتامیسین، ۵ میلی‌گرم نالیدیکسیک اسید و ۱ میلی‌گرم آمفوتریسین B (شرکت مرک/آلمان) کشت داده شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴-۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد در یک جار بی‌هواری شمع دار (۱۰-۵/CO₂) گرمخانه گذاری شدند. از کلونی‌های ریز سرسجاقی سفید و خاکستری پلیت‌ها برداشت شده و جهت شناسایی باکتری گاردنرلا واژینالیس از تست‌های تشخیصی شامل اکسیداز، کاتالاز، حرکت، اندول، متیل رد، هیدرولیز هیپورات (شرکت پادتن طب/ایران)، احیای نیترات، تخمیر کربوهیدرات‌ها و تست اوره آز استفاده شد (۱۷).

شناسایی مولکولی جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس:

به منظور استخراج DNA همه جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس از کیت استخراج DNA باکتری گرم منفی شرکت سینا ژن استفاده شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج شده مورد بررسی قرار گرفت. به جهت تعیین هویت جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس از پرایمر اختصاصی *16S rRNA* با توالی‌های رفت 5'GCT CTT GGA ' و برگشتی AAC GGG TGG TA3' 5'CCC AAC ATC ' طراحی شده در این تحقیق استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱X بافر PCR (۱۰×) (شرکت سینا کلون)، ۲ میلی‌مولار MgCl₂، ۰/۳ میلی‌مولار dNTP (شرکت سینا کلون)، ۱/۵ واحد آنزیم TagDNA



شکل (۱): تصویر میکروسکوپ نوری از تجمع باکتری‌های کوکوباسیل در اطراف سلول اپیتلیال واژینال (کلوسل یا سلول کلیدی). رنگ‌آمیزی گرم، بزرگنمایی ۴۰۰×

یافته‌های مربوط به اطلاعات دموگرافیک کلی بیماران:

اطلاعات کلی بیماران شامل سن بیمار، پاریته یا بروز سقط در بیماران و وضعیت تأهل در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول (۱): اطلاعات دموگرافیک کلی در ۲۲۰ بیمار مبتلا به واژینوز

مشخصه بیمار	تعداد (درصد)
سن (سال)	
۱۵-۲۰	۱۵(۶/۸)
۲۱-۲۵	۳۱(۱۴)
۲۶-۳۰	۴۵(۲۰/۴)
۳۱-۳۵	۶۶(۳۰)
۳۶-۴۰	۲۲(۱۰)
۴۱-۴۵	۲۹(۱۳/۱)
۴۶ به بالا (سن یائسگی)	۱۲(۵/۴)
پاریته	۱۸(۸/۱)
متأهل	۱۹۱(۸۶/۸)
مجرد	۲۹(۱۳/۱)

یافته‌های مربوط به سن بیمار:

بیماران مبتلا به واژینیت بر اساس سن به گروه‌های ۱۵-۲۰، ۲۱-۲۵، ۲۶-۳۰، ۳۱-۳۵، ۳۶-۴۰، ۴۱-۴۵ و ۴۶ و سن یائسگی تقسیم شدند. نتایج نشان داد که ابتلا به واژینیت باکتریایی در سنین ۲۱ تا ۳۵ افزایش می‌یابد. در سن ۴۶ سالگی تا یائسگی برای هر دو نوع واژینیت باکتریایی و غیر باکتریایی میزان ابتلای کم‌تری مشاهده شد. داده‌های به‌دست‌آمده در آزمون کای اسکور نشان داد که میزان آزمون برابر ۲۱/۹۳ و سطح معنی‌دار برابر ۰،۰۰۱ می‌باشد. بنابراین رابطه‌ی معنی‌داری بین گروه‌های سنی و امکان ابتلا به واژینیت باکتریایی وجود دارد (جدول ۲).

یافته‌های مربوط به تحصیلات و شرایط شغلی بیماران:

در سطح تحصیلات متوسطه بیشترین میزان ابتلا به هر دو نوع واژینیت مشاهده شد (جدول ۱). با توجه به داده‌های آماری حاصل ارتباط معنی‌دار بین افزایش سطح تحصیلات در سطح لیسانس و بالاتر برای بیماران مبتلا به واژینیت غیر باکتریایی و کاهش میزان ابتلا وجود دارد ($P < 0.001$) (جدول ۲).

یافته‌های مربوط به وضعیت تأهل بیمار:

در رابطه‌ی بین وضعیت تأهل و ابتلا به واژینیت‌ها میزان به‌دست‌آمده از آزمون کای اسکور برابر با ۵،۷۸۶ و سطح معنی‌دار برابر ۰،۱۲۲ ($p > 0.05$) می‌باشد. بنابراین رابطه معنی‌دار بین وضعیت تأهل و ابتلا به واژینیت‌ها وجود ندارد. بین فعالیت جنسی اخیر افراد مجرد با وقوع هر دو نوع واژینوز نیز ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). (جدول ۲).

یافته‌های مربوط به وضعیت بارداری:

بیشترین فراوانی بیماران مبتلا به هر دو نوع واژینیت در بین زنان با زایمان یک مورد و بیشتر مشاهده شد. باین‌حال ارتباط معنی‌داری بین ابتلا به واژینیت‌ها و وضعیت بارداری بیمار مشاهده نشد ($p > 0.05$). بین تعداد موارد زایمان زنان و وقوع واژینوز نیز ارتباط معنی‌داری گزارش نشد ($p > 0.05$) (جدول ۲).

یافته‌های مربوط به روش‌های پیشگیری از بارداری:

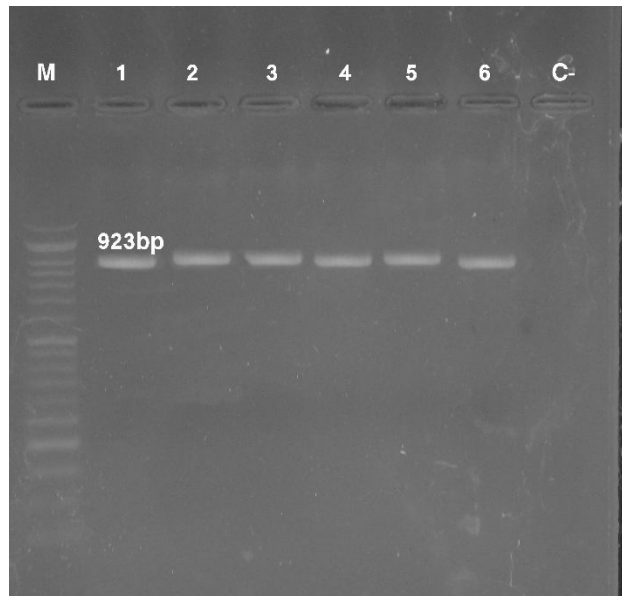
در بین روش‌های مورد ارزیابی بیشترین ابتلا بین افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی استفاده از IUD بود و ارتباط معنی‌داری بین روش پیشگیری از بارداری و گروه مبتلا به واژینوز باکتریایی مشاهده شد ($P < 0.001$) (جدول ۲).

جدول (۲): داده‌های دموگرافیک بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی مراجعه‌کننده به بخش زنان بیمارستان امام حسین (ع)

P Value	تعداد (درصد) افراد مبتلا به		مشخصه بیمار
	تعداد افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی (۱۲۵ نفر)	تعداد افراد مبتلا به واژینوز غیرباکتریایی (۹۵ نفر)	
	سن بیمار		
	۳(۲/۴)	۱۲(۱۲/۶)	۱۵-۲۰
	۱۶(۱۲/۸)	۱۵(۶/۸)	۲۱-۲۵
	۳۰(۲۴)	۱۵(۶/۸)	۲۶-۳۰
P < ۰/۰۰۱	۴۸(۳۸/۴)	۱۸(۱۸/۹)	۳۱-۳۵
	۱۰(۸)	۱۲(۱۲/۶)	۳۶-۴۰
	۱۴(۱۱/۲)	۱۵(۶/۸)	۴۱-۴۵
	۴(۳/۲)	۸(۸/۴)	۴۶ به بالا (سن یائسگی)
	سطح تحصیلات بیمار		
	۱۸(۱۴/۴)	۱۴(۱۴/۷)	بی‌سواد
P < ۰/۰۰۱	۳۰(۲۴)	۱۹(۲۰)	راهنمایی
	۵۰(۴۰)	۵۸(۶۱)	متوسطه- دیپلم
	۲۷(۲۱/۶)	۴(۴/۲)	تحصیلات دانشگاهی
	وضعیت تأهل بیمار		
	۱۰۶(۸۴/۸)	۸۵(۸۹/۴)	متأهل
P > ۰/۰۵	۱۹(۱۵/۲)	۱۰(۱۰/۵۲)	مجرد
	۸(۶/۴)	۴(۴/۲)	فعالیت جنسی افراد مجرد
	۱۱(۸/۸)	۶(۶/۳)	عدم فعالیت جنسی افراد مجرد
	روش‌های پیشگیری از بارداری		
	۲۳(۱۸/۴)	۱۳(۱۳/۶)	استفاده از کاندوم
P < ۰/۰۰۱	۷۰(۵۶)	۳۰(۳۱/۵)	استفاده از IUD
	۱۲(۹/۶)	۴۲(۴۴/۲)	روش هورمونی
	۲۰(۱۶)	۱۰(۱۰/۵)	روش طبیعی
	وضعیت بارداری		
	۱۵(۱۲)	۱۸(۱۸/۹)	غیر باردار
P > ۰/۰۵	۸(۶/۴)	۱۰(۱۰/۵)	باردار
	۱۰۲(۸۱/۶)	۶۷(۷۰/۵)	زایمان
	تعداد زایمان		
	۳۱(۲۴/۸)	۱۸(۱۸/۹)	یک زایمان
P > ۰/۰۵	۵۷(۴۵/۶)	۳۶(۳۷/۸۹)	دو زایمان
	۱۴(۱۱/۲)	۱۳(۱۳/۶)	سه زایمان و بیشتر
	نوع زایمان		
P > ۰/۰۵	۵۲(۴۱/۶)	۴۰(۴۲/۱)	طبیعی
	۵۰(۴۰)	۲۷(۲۸/۴)	سزارین

پس از تکثیر ژن *16S rRNA* برای همه جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس، محصول PCR به صورت باندهایی به اندازه ۹۲۳ جفت باز برای مشاهده شد (شکل ۲).

نتایج شناسایی مولکولی جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس:



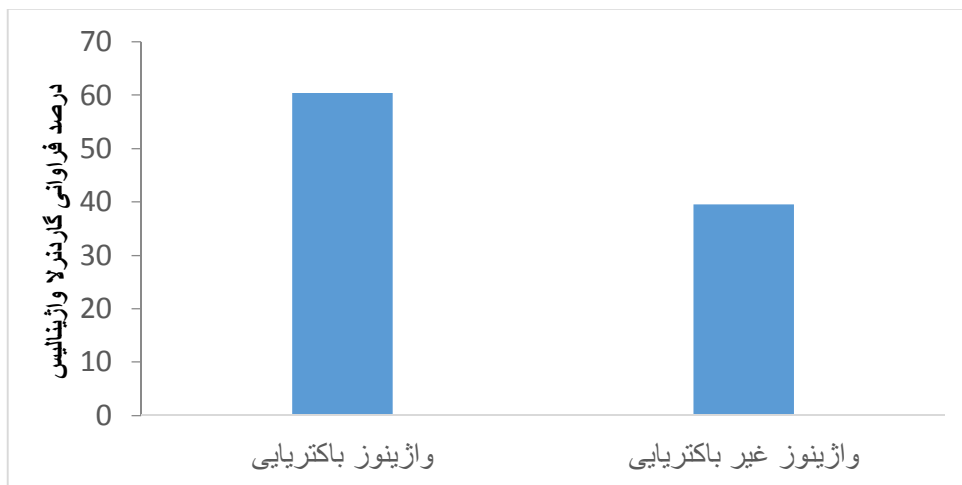
شکل (۲): تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR ژن 16S rRNA جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس. چاهک M سایز مارکر ۵۰ جفت بازی، چاهک‌های شماره ۱-۶ باند مربوط به ژن 16S rRNA، چاهک شماره ۷ نمونه کنترل منفی

تعیین فراوانی جدایه‌های گاردنرلا واژینالیس جدا شده از

بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی:

نتایج نشان داد از بین ۲۲۰ نمونه واژینوز مورد مطالعه پس از رنگ‌آمیزی گرم و انجام تست‌های بیوشیمیایی تشخیصی، ۴۸ (۱/۸) ۲۹ درصد) نمونه واجد گاردنرلا واژینالیس تشخیص داده شدند. ۲۹ (۶۰/۴) درصد) باکتری گاردنرلا واژینالیس از نمونه بیماران مبتلا به

واژینوز باکتریایی و ۱۹ (۳۹/۵) درصد) باکتری گاردنرلا واژینالیس از نمونه بیماران مبتلا به واژینوز غیرباکتریایی جدا سازی شدند. اختلاف معنی‌داری بین میزان شیوع گاردنرلا واژینالیس در بیماران مبتلا به واژینیت باکتری‌ای و غیر باکتریایی مشاهده نشد ($p > 0.05$) نمودار ۱.



نمودار (۱): درصد فراوانی گاردنرلا واژینالیس در نمونه‌های بیماران مبتلا به واژینیت باکتریایی و غیر باکتریایی

بحث و نتیجه‌گیری

واژینوز باکتریایی شایع‌ترین عامل عفونت واژینال زنان در سنین باروری است که سبب علائم مختلفی مانند ترشحات هموزن و بوی

بد واژن، رشد بیش از حد باکتری‌های بی‌هوازی، افزایش تولید آمین، و پیدا شدن سلول‌های کلیدی می‌شود (۱۸). ۴۰-۵۰ درصد در صد زنان با ترشحات واژینال به واژینوز باکتریایی مبتلا هستند و شیوع

آن در حاملگی بر اساس روش‌های تشخیصی به کار گرفته شده شامل معیارهای امسل و ناجنت از ۱۲ تا ۵۵ درصد متغیر است و شیوع آن بر اساس نوع جمعیت مورد مطالعه متفاوت است (۱۹). در این تحقیق، ابتدا به مطالعه فاکتورهای دموگرافیک، باروری و رفتاری زنان مبتلا به واژینوز مراجعه‌کننده به کلینیک زنان و مامایی بیمارستان امام حسین (ع) تهران پرداخته شد. نتایج نشان داد رابطه‌ی معنی‌داری بین گروه سنی مورد مطالعه باروری و امکان ابتلا به واژینوز باکتریایی وجود داشت. اما در گروه سنی ۴۶-۴۱ سال و گروه سنی ۴۶ تا یائسگی کاهش ابتلا به هر دو نوع واژینوز مشاهده شد که دلیل آن کاهش ارتباط جنسی و روند رو به کاهش هورمون‌های جنسی در زنان می‌باشد که سبب تغییر محیط میکروبی واژن می‌شود. در بررسی سنی مبتلایان به واژینوز باکتریایی در درمانگاه زنان بیمارستان امیرالمؤمنین شهر اهواز که توسط گودزی و همکاران در سال ۱۳۹۳ انجام شد میانگین سن افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی ۳۱/۳ سال بود و ۶۸/۳ درصد آن‌ها فعالیت جنسی خود را در سنین کم‌تر از ۲۰ سال شروع کرده بودند (۲۱). در بررسی دانش، نگرش و عملکرد زنان مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی، درمانی شهر کرمان در مورد پیشگیری از عفونت‌های شایع دستگاه تناسلی در سال ۱۳۸۲ که توسط فرخزادپان و همکاران انجام شد بیشترین میانگین نمره دانش در گروه سنی ۳۵-۲۶ سال، تحصیلات فوق‌دیپلم و بالاتر، تحصیلات همسر فوق‌دیپلم و بالاتر و اشتغال دیده شد (۲۲). شاید بتوان گفت با ارتقاء سطح تحصیلات، انگیزه و تمایل افراد جهت استفاده از منابع آموزشی متعدد و مشارکت در برنامه آموزشی و استفاده از تجارب گذشته افزایش می‌یابد (۲۰). طی مطالعه حاضر نیز رابطه‌ی معنی‌داری بین افزایش تحصیلات و کاهش ابتلا به واژینوزها دیده شد. باین‌حال با توجه به اینکه اغلب مراجعه‌کنندگان در وضعیت متوسط و پایین‌تر اقتصادی بودند، نیاز به مطالعات گسترده‌تر در گروه‌های اجتماعی مختلف برای بررسی دقیق رابطه‌ی ابتلا به بیماری و سطح تحصیلات وجود دارد.

Baeten و همکاران در سال ۲۰۰۱ به‌منظور بررسی رابطه بین مصرف داروهای هورمونی ضدبارداری و خطر عفونت‌های ناشی از آمیزش جنسی، مطالعه آینده‌نگری بر روی ۹۴۸ زن باردار در سیاتل آمریکا انجام دادند. در افرادی که از قرص‌های ضدبارداری خوراکی استفاده می‌کردند، در مقایسه با افرادی که از هیچ روش ضدبارداری استفاده نمی‌کردند، خطر کلامیدیا و کاندیدیازیس افزایش و خطر واژینوز باکتریایی کاهش معنی‌داری را نشان داد. به همین ترتیب استفاده از دیومدروکسی پروژسترون استات نیز خطر واژینوز باکتریایی را به‌طور معنی‌داری کاهش داد و استفاده از کاندوم نیز با کاهش خطر عفونت‌های آمیزشی همراه بود (۲۱). استفاده از

کاندوم به‌عنوان یک روش محافظتی برای عفونت‌های واژینال مطرح است و IUD ریسک عفونت‌های دستگاه تناسلی و ترشحات واژینال را زیاد می‌کند. در مطالعه حاضر نیز بیشترین تعداد مبتلایان به واژینوزهای باکتریایی و غیرباکتریایی مربوط به استفاده‌کنندگان از روش IUD بود که با مکانیسم عمل این وسیله که ایجاد التهاب در رحم است، هم‌خوانی دارد. طبق داده‌های آماری ارتباط معنی‌داری بین استفاده از IUD و ابتلا به واژینوز غیر باکتریایی مشاهده نشد اما بین ابتلا به واژینوز باکتریایی و استفاده از IUD ارتباط معنی‌داری مشاهده شد. در مطالعه حاضر بر اساس معیار امسل شیوع عفونت واژینوز باکتریایی بین زنان مورد مطالعه ۵۶/۸۱ درصد بود. در سال ۲۰۰۷ شیوع واژینوز باکتریایی در ایالت متحده آمریکا ۲۹/۲ درصد گزارش شد (۲۲). Smith و همکاران سال ۲۰۰۵ فراوانی واژینوز باکتریایی را بین زنان بومی استرالیا بیش از ۳۳ درصد و بین زنان آفریقایی-آمریکایی بیش از ۵۰ درصد گزارش کرد (۲۳). سال ۲۰۱۷، Machado و همکاران شیوع واژینوز باکتریایی را بین زنان باردار پرتغالی ۳/۸ درصد گزارش دادند (۲۴). طی مطالعه Farajzadeh و Hemmati بر روی بیماران درمانگاه زنان طالقانی تهران، شیوع واژینوز باکتریایی بالا و ۶۵/۷ درصد گزارش شد (۲۵). سال ۲۰۰۳ Parhizgar و همکاران شیوع این بیماری را در سندج ۲۷ درصد گزارش دادند (۲۶) و در مطالعه Ganjooie و همکاران در سال ۲۰۰۴ شیوع واژینوز باکتریایی در کرمان ۳۷/۷ درصد گزارش شد (۲۷). صالحیان و همکاران در سال ۱۳۸۷ گزارش دادند از بین ۲۰۰ بیمار مورد مطالعه ۱۴ بیمار مبتلا به واژینوز باکتریایی بودند (۲۸). ضیایی هزار جریبی و همکاران در سال ۱۳۹۱، میزان واژینوز باکتریایی را بین زنان مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های امام خمینی و بوعلی سینای شهرستان ساری ۴۶/۱ درصد گزارش دادند (۲۹). در مطالعه حاضر میزان شیوع گاردنرلا واژینالیس در نمونه واژینال زنان مبتلا به واژینوز باکتریایی و غیر باکتریایی بررسی شد. نتایج، حضور ۶۰/۴۲۹ درصد گاردنرلا واژینالیس را در نمونه‌های واژینوز باکتریایی و ۳۹/۵۱۹ درصد را در نمونه‌های واژینیت غیرباکتریایی نشان داد. باین‌حال اختلاف معنی‌داری بین میزان شیوع گاردنرلا واژینالیس در بیماران مبتلا به واژینیت باکتریایی و غیر باکتریایی مشاهده نشد. طی مطالعه Janulaitiene در سال ۲۰۱۷، از ۱۱۹ نمونه واژینال زنان، ۲۹ نمونه مربوط به واژینیت باکتریایی بود و شیوع گاردنرلا واژینالیس در آن‌ها ۱۰۰ درصد گزارش شد. ۵۳ نمونه مربوط به واژینیت غیر باکتریایی گزارش شد که از بین آن‌ها ۱/۸ درصد امکان حضور باکتریهای بی‌هواری مانند گاردنرلا را داشت و از بین نمونه‌های سالم، ۸۶/۶ درصد گاردنرلا واژینالیس تشخیص داده شد (۳۰) در پژوهش فرج زاده شیخ و همکاران سال ۱۳۷۷ نشان داده شد که کشت ۸۲ درصد از نمونه

واژینیت می‌تواند به درک نقش بهتر پاتوژن باکتری کمک کند. شناسایی عوامل پاتوژن ایجاد کننده عفونت‌های واژینال باکتریایی و استفاده از روش‌های صحیح مبتنی بر کشت برای جداسازی باکتری‌های عامل این نوع واژینیت جهت به کار گیری روش‌های صحیح درمانی در جوامع مختلف امری ضروری است. از طرفی بررسی فاکتورهای خطر ابتلا به این بیماری‌ها نیز برای جلوگیری و پیشگیری از ابتلا به عفونت‌های واژینال به‌ویژه در بین زنان توصیه می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از همکاری بخش زنان و مامائی بیمارستان امام حسین (ع) که در قسمت نمونه‌گیری، باری گر این پژوهش بودند و نیز از کلیه زنان مراجعه‌کننده به این مرکز درمانی که در تحقیق حاضر مشارکت داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارند.

واژینال افراد مبتلا به واژینیت باکتریایی از نظر گاردنرلا واژینالیس مثبت است (۲۵). در مطالعه صالحیان و همکاران از ۲۰۰ نمونه واژینال زنان ۱۴ نمونه واژینیت باکتریایی تشخیص داده شد که همه نمونه‌ها واجد گاردنرلا بودند (۲۸). در مطالعه Machado و همکاران از بین همه نمونه‌های گرفته شده از انواع واژینیت زنان، ۱۳۹ (۶۷/۴۸ درصد) نمونه دارای گاردنرلا واژینالیس بودند (۲۴). کاظم زاده و همکاران نیز ۸۸ درصد گاردنرلا واژینالیس را در بین نمونه‌های واژینوز باکتریایی تشخیص دادند (۳۱). نتایج مطالعه حاضر شیوع واژینیت باکتریایی و میزان بالای از شیوع گاردنرلا واژینالیس را در زنان مبتلا به واژینیت باکتریایی نشان داد و تأییدکننده این مطلب است که گاردنرلا واژینالیس از عوامل باکتریایی مهم در بروز BV است. حضور این باکتری در نمونه‌های واژینیت غیر باکتریایی نیز به دلیل اینکه جزئی از فلور میکروبی واژن محسوب می‌شود، حائز اهمیت است. باین‌حال تعیین خصوصیات فنوتیپی و ژنوتیپی گاردنرلا واژینالیس جدا شده از هر دو نوع

References

- Adad SJ, Lima RVd, Sawan ZTE, Silva MLG, Souza MAHd, Saldanha JC, et al. Frequency of *Trichomonas vaginalis*, *Candida* sp and *Gardnerella vaginalis* in cervical-vaginal smears in four different decades. *Sao Paulo Med J* 2001;119(6): 200-5.
- Mylonas I, Friese K. Genital discharge in women. *MMW Fortschr Med* 2007;149(35-36): 42-6; quiz 7.
- Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Sandhofer MJ, Fidesser M, Krondorfer I, et al. Characterisation of the vaginal *Lactobacillus* microbiota associated with preterm delivery. *Sci Rep* 2014;4:5136..
- Beckmann, Chen, ling, F, smith, R, et al. *obstetrics and gynecology*. 5, editor 2006.
- Terraf M, Tomás J, Nader-Macias M, Silva C. Screening of biofilm formation by beneficial vaginal lactobacilli and influence of culture media components. *J Appl Microbiol* 2012;113(6): 1517-29.
- Danielsson D, Teigen PK, Moi H. The genital econiche: focus on microbiota and bacterial vaginosis. *Ann N Y Acad Sci* 2011;1230(1): 48-58.
- Novak E. *Berek & Novak's gynecology*: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
- Holzman C, Leventhal JM, Qiu H, Jones NM, Wang J, Group BS. Factors linked to bacterial vaginosis in nonpregnant women. *Am J Public Health* 2001;91(10): 1664-70.
- Patterson JL, Stull-Lane A, Girerd PH, Jefferson KK. Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology* 2010;156(2): 392-9.
- Georgijević A, Cjukić-Ivancević S, Bujko M. [Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors]. *Srp Arh Celok Lek* 2000;128(1-2):29-33.
- Hay PE. Bacterial vaginosis and miscarriage. *Curr Opin Infect Dis* 2004;17(1):41-4.
- Schwebke JR, Hillier SL, Sobel JD, McGregor JA, Sweet RL. Validity of the vaginal gram stain for the

- diagnosis of bacterial vaginosis. *Obst Gynecol* 1996;88(4): 573-6.
13. Bradshaw C, Morton A, Garland S, Horvath L, Kuzevska I, Fairley C. Evaluation of a point-of-care test, BVBlue, and clinical and laboratory criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2005;43(3): 1304-8.
 14. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis: diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* 1983;74(1): 14-22.
 15. Baruah FK, Sharma A, Das C, Hazarika NK, Hussain JH. Role of *Gardnerella vaginalis* as an etiological agent of bacterial vaginosis. *Iran J Microbiol* 2014;6(6): 409.
 16. Zozaya-Hinchliffe M, Lillis R, Martin DH, Ferris MJ. Quantitative PCR assessments of bacterial species in women with and without bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2010;48(5): 1812-9.
 17. Okwoli RN, Adinma JB-D, Nnaeze C. Laboratory diagnosis of *Gardnerella vaginalis* vaginosis. *West Afr J Med* 2002;21(3): 244-7.
 18. Turovskiy Y, Noll KS, Chikindas ML. The etiology of bacterial vaginosis. *J Appl Microbiol* 2011; 110(5): 1105-1128.
 19. Martinez RC, Franceschini SA, Patta MC, Quintana SM, Gomes BC, De Martinis EC, et al. Improved cure of bacterial vaginosis with single dose of tinidazole (2 g), *Lactobacillus rhamnosus* GR-1, and *Lactobacillus reuteri* RC-14: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Canadian J Microbiol* 2009;55(2): 133-8.
 20. Stanhope M, Lancaster J. Community health nursing: Process and practice for promoting health. Mosby Year Book; 1992.
 21. Baeten JM, Nyange PM, Richardson BA, Lavreys L, Chohan B, Martin HL, et al. Hormonal contraception and risk of sexually transmitted disease acquisition: results from a prospective study. *Am J Obstet Gynecol* 2001;185(2): 380-5.
 22. Koumans EH, Sternberg M, Bruce C, McQuillan G, Kendrick J, Sutton M, et al. The prevalence of bacterial vaginosis in the United States, 2001-2004; associations with symptoms, sexual behaviors, and reproductive health. *Sex Transm Diseases* 2007;34(11): 864-9.
 23. Smith K, Tabrizi S, Fethers K, Knox J, Pearce C, Garland S. Comparison of conventional testing to polymerase chain reaction in detection of *Trichomonas vaginalis* in indigenous women living in remote areas. *Int J STD AIDS* 2005;16(12): 811-5.
 24. Machado D, Castro J, Martinez-de-Oliveira J, Nogueira-Silva C, Cerca N. Prevalence of bacterial vaginosis in Portuguese pregnant women and vaginal colonization by *Gardnerella vaginalis*. *Peer J* 2017;5: e3750.
 25. Farajzadeh S, Hemmati A. measurement Prevalence *Gardnerella vaginalis* and sensitivity to antibiotics in patients with vaginal discharge admitted to the Clinic of Obstetrics and Gynecology, Taleghani Hospital Tehran. *J Kerman Univ Med Sci* 1999;5(2): 92-8.
 26. Parhizgar A. Prevalence of symptomatic vaginal infections and their association with contraceptive methods in women's health center in Sanandaj. *J Kurdistan Univ Med Sci* 2003;1: 20-1.
 27. Ganjooie A, Shahabi M. Epidemiology and predisposing factor for bacterial vaginosis in patients with gynecologic in shahid bahonar hospital kerman university of medical science in 2003. *J Kerman Univ Med Sci* 2004;10(4): 200-10.
 28. Salehian M, Mozaffari NA, Foroohash TH. Antibiotic resistance to metronidazole and

- clindamycin of Gardnerella vaginalis among patients with bacterial vaginosis. J Infectious Diseases and Tropical Med 1387;13(42). (Persian)
29. Hezarjaribi HZ, Dalimi A, Ghasemi M, Ghafari R, Esmaeili S, Armat S, Jivad F. Prevalence of Common Sexually Transmitted Diseases among Women Referring for Pap Smear in Sari, Iran. Mazandran Univ Med Sci 2013; 23(Supple 1): 19-24. (Persian)
30. Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisauskiene A, Marcinkute A, et al. Prevalence and distribution of Gardnerella vaginalis subgroups in women with and without bacterial vaginosis. BMC Infectious Diseases 2017;17(1): 394.
31. Kazemzadeh M, Kashanian M, Sedaghat M. Investigation and comparison of pathogenic and bacterial risk factors of bacterial vaginosis. J Midwifery Infer Iran 1389;13(4): 9-14. (Persian)

THE PREVALENCE OF *GARDNERELLA VAGINALIS* IN PATIENTS WITH BACTERIAL AND NON-BACTERIAL VAGINOSIS ATTENDING TO GYNECOLOGY CLINIC OF IMAM HOSSEIN HOSPITAL, SPRING AND SUMMER 2016

Sahar Honarmand Jahromy^{1*}, Maryam Eidi², Omid Hosseini³, Elham Bolhasani⁴, Zahra Sadat Husseini⁵

Received: 12 Nov, 2017; Accepted: 29 Dec, 2017

Abstract

Background & Aims: Developing bacterial vaginosis is of high prevalence especially in pregnant women. The most common causes of bacterial vaginosis are anaerobic microorganisms such as *Gardnerella vaginalis*. The aim of this study was to determine the prevalence of *Gardnerella vaginalis* isolated in women with bacterial and non-bacterial vaginosis.

Materials & Methods: The study was conducted on 500 women attending to Gynecology Clinic of Imam Hossein Hospital. Demographic data of patients were studied. Based on Amsel criteria, vaginosis was divided into bacterial and non-bacterial vaginosis groups. For diagnosis of *Gardnerella vaginalis* isolates, the secretion was cultured in specific Colombia-Agar- medium under anaerobic conditions and after gram staining, biochemical tests were performed. Molecular PCR method was used to identify isolates. Data analysis was performed using SPSS software.

Results: Among 220 patients with vaginosis, 56.81% had bacterial and 43% had non bacterial vaginosis. The prevalence of *Gardnerella vaginalis* was 21.8%. From these, 60.4% and 39.5% were from patients with bacterial and non-bacterial vaginosis, respectively. There was a significant relationship between age group and contraceptive method by IUD with bacterial vaginitis.

Conclusion: The High incidence of *Gardnerella vaginalis* in women with bacterial vaginosis confirms the important role of bacteria in the occurrence of bacterial vaginosis. It is necessary for identification of pathogenic agents responsible for bacterial vaginal infections using culture-based methods to recommend the correct medical treatment in different societies.

Keywords: Prevalence, Bacterial vaginosis, Non-bacterial vaginosis, *Gardnerella vaginalis*

Address: Department of Microbiology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

Tel: +989124364257

Email: sahar_hj2@yahoo.com

SOURCE: URMIA MED J 2018; 29(1): 49 ISSN: 1027-3727

¹ Assistant Professor, Department of Microbiology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran (Corresponding Author)

² Professor, Department of Biology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

³ MSc in Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ MSc Student, Department of Microbiology, School of Biological Science, Varamin-Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

⁵ Professor, Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran