

توزیع فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی در عفونتهای واژینال در شهر گرگان

دکتر سپیده بخشنده نصرت^{۱*}، دکتر کیومرث قاضی سعیدی^۲، صدیقه لیوانی^۳، تینا دادگر^۴، مسعود بازوری^۲، هانیه باقری^۳، ناصر بهنام پور^۴، دکتر عزت الله قائمی^۵

۱. استادیار گروه زنان، مرکز تحقیقات عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۲. استاد گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۳. کارشناس ارشد، گروه میکروبی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۴. مربی آمار زیستی، گروه بهداشت، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۵. دانشیار گروه میکروبی شناسی، مرکز تحقیقات عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۷/۲۲

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۱۹

خلاصه

مقدمه: مایکوپلازما هومینیس و اوره آپلازما اوره آلیتیکوم از باکتریهای فلور واژن هستند که در برخی از مطالعات بر نقش بیماریزایی آنها در ایجاد عفونتهای واژینال تأکید می شود. این مطالعه با هدف تعیین فراوانی و بررسی نقش مایکوپلاسماهای تناسلی در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شهر گرگان، واقع در شمال ایران انجام شد.

روش کار: این مطالعه با بررسی ترشحات واژینال ۲۳۵ زن که به علت عفونت واژینال در سال ۱۳۸۶ به بیمارستان دزیانی (مرکز مرجع زنان) شهر گرگان مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. تشخیص نوع عفونت بر مبنای روش آمس، مشاهدات بالینی و مطالعه لام میکروسکوپی انجام شد. تشخیص مایکوپلاسمها با کشت در محیط PLO براث و آگار و واکنش زنجیره پلیمرز، با پرایمرهای اختصاصی 16S rDNA گونه مایکوپلازما هومینیس و پرایمر ژن اوره آز اوره آپلازما اوره آلیتیکوم صورت گرفت. نتایج در نرم افزار SPSS (نسخه ۱۵) ثبت شده و با آزمونهای کای دو و تی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $p < 0.05$ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: در ترشحات ۳۰ نفر (۱۲/۸٪) از بیماران مورد بررسی مایکوپلازما شناسایی شد. فراوانی آن در افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی ۱۴/۳٪ و در افراد مبتلا به واژینیت ۱۱/۹٪ بود. در ۱۸ مورد (۷/۷٪) مایکوپلازما هومینیس و در ۱۸ مورد (۷/۷٪) اوره آپلازما اوره آلیتیکوم شناسایی شد که شش نفر (۲۰٪) از آنها به طور همزمان با مایکوپلازما هومینیس و اوره آلیتیکوم آلوده بودند. بیش از ۸۳٪ افرادی که در آنها مایکوپلازما شناسایی شد، pH ترشحات آنها از ۴/۵ بالاتر بود، همچنین میانگین سنی افراد آلوده به مایکوپلاسمها به طور معنی داری بیش از افراد غیر آلوده بود (۳۴/۲ سال در مقابل ۳۰/۹ سال). میانگین تعداد گلبول سفید و باکتریهای لاکتوفرم در افراد آلوده و غیر آلوده به مایکوپلازما، به ترتیب ۳/۲ در مقابل ۶/۵ و ۷/۴ در مقابل ۴۲/۱ مورد بوده است که این تفاوتها از نظر آماری معنی دار بود ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج نشان داد که فراوانی مایکوپلاسمهای ژنیتال در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شهر گرگان کمتر از حد انتظار است، ولی این مسئله به طور مستقیم به نوع عفونت واژینال بستگی ندارد. کم بودن تعداد گلبول سفید و لاکتوباسیل در لام ترشحات واژینال و pH بیش از ۴/۵ و سن بالاتر، احتمال وجود مایکوپلازما در ترشحات واژینال را افزایش می دهد.

کلمات کلیدی: مایکوپلازما هومینیس؛ عفونت واژینال؛ اوره آپلازما اوره آلیتیکوم

* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر سپیده بخشنده نصرت؛ مرکز تحقیقات بیماریهای عفونی؛ دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران،
تلفن: ۰۹۱۱۳۷۱۰۸۶۱؛ پست الکترونیک: sepidehbn@yahoo.com

مقدمه

فلور باکتریایی دستگاه تناسلی زنان بسیار متغیر بوده و مجموعه میکروبی آن حاوی گونه‌های بسیار متنوعی است. از آنجا که فلور واژن، سد مهمی علیه عفونت است، بررسی تغییرات این اجتماع میکروبی یک موضوع مهم برای مطالعه است. تعادل میکروبی واژن ممکن است با تغییرات فیزیولوژیک یا حضور میکروارگانیسمهای بیماریزا به هم بخورد (۱). واژینیت یکی از شایعترین مشکلات در زنان است که سبب مراجعه به پزشک می‌شود. عفونت واژینال اغلب به سه شکل "کاندیدیاز، تریکومونیا و واژینوز باکتریال" ایجاد می‌شود (۲). کاندیدیاز وولو-واژنی یکی از علل شایع ترشح واژینال است که حدود ۷۵٪ زنان را حداقل یک بار در طول دوره باروری آلوده می‌کند (۳). ۳۰-۱۵ درصد عفونتهای واژینال ناشی از این مخمر است. وولو واژینیت عودکننده کاندیدیایی نیز در حدود ۵٪ زنان بروز می‌کند (۴). تریکومونیا توسط یک انگل تک‌یاخته به نام *تریکوموناس واژینالیس*^۱ ایجاد می‌شود که از طریق آمیزش جنسی، براحتی انتقال می‌یابد. این بیماری نیز یکی از شایعترین علل واژینیت در جهان بوده و تخمین زده می‌شود حدود ۱۷۰ میلیون نفر در سال به آن مبتلا می‌شوند. این بیماری حدود ۳۵-۴٪ واژینیت‌ها در زنان علامتدار را به خود اختصاص می‌دهد (۵). واژینوز باکتریال که در گذشته به نام واژینیت غیراختصاصی نامیده می‌شد، وضعیتی از به هم خوردن تعادل میکروبی در واژن است که در آن لاکتوباسیلوس^۲، بویژه انواع مولد آب اکسیژنه کاهش یافته و بی‌هوازیهای مانند موبیلانکوس^۳ و پره وتلا^۴ و باکترئید^۵ و به همراه *گاردنرلا واژینالیس* در آن غالب می‌شوند (۶). این عارضه شایعترین فرم واژینیت محسوب می‌شود و فراوانی آن در جوامع مختلف از ۱۵ تا ۵۰ درصد متغیر است. این عفونت علاوه بر افزایش حجم ترشحات و بوی بد می‌تواند با عوارض متعددی همچون اندومتریوت و بیماری التهابی لگن و در دوران

بارداری با کوریوآمنیوتیت، زایمان زودرس و افزایش احتمال سقط همراه باشد (۴). برخی مطالعات نشان داده‌اند که در عفونتهای واژینال و بویژه واژینوز باکتریال، میکوپلاسمها افزایش می‌یابند و در بیماریزایی آن دخالت دارند. میکوپلاسمها شامل گروه بزرگی از میکروارگانیسمها هستند که بیشتر ساکن غشاهای مخاطی دستگاه تنفسی و تناسلی- ادراری هستند. سه گونه از این باکتریها به نامهای *مایکوپلازما هومینیس*^۶، *اوره‌آپلازما اوره‌آلیتییکوم*^۷ و *مایکوپلازما ژنیتالایوم*^۸ از سطوح مخاطی دستگاه تناسلی- ادراری جدا شده‌اند. میکوپلاسمها در عفونتهای ادراری-تناسلی و نیز ایجاد عوارض در نوزادان مسئول شناخته می‌شوند. عفونت با *اوره‌آپلازما اوره‌آلیتییکوم* در دوران بارداری را با کوریوآمنیوتیت و زایمان پیش از موعد و نیز عقیمی مرتبط می‌دانند، اگر چه هنوز در مورد نقش میکوپلاسمها در سبب‌زایی عفونتهای تناسلی- ادراری، اختلاف نظر وجود دارد (۷). حضور میکوپلاسمهای تناسلی در تعداد زیادی از زنان سالم، نقش بیماریزای این ارگانیسمها را پیچیده می‌کند، اما مطالعات مختلف نشان داده‌اند که استقرار آنها در دستگاه تناسلی می‌تواند با ایجاد شرایط پاتولوژیک همراه باشد (۸). این مطالعه با هدف تعیین توزیع فراوانی میکوپلاسمهای تناسلی نیز مقایسه آن در واژینیت‌های کاندیدیائی، تریکومونایی و باکتریایی در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شهر گرگان، شمال ایران، انجام شد.

روش کار

این مطالعه یک مطالعه مشاهده‌ای است که به روش مقطعی و با رویکرد توصیفی، در ۲۳۵ زن که به علت مشکلات واژینال در سال ۱۳۸۶ به درمانگاه زنان بیمارستان دزیانی (مرکز مرجع زنان) شهر گرگان مراجعه کردند، انجام شد. حجم نمونه براساس نتایج مطالعات مشابه، در سطح اطمینان ۰/۹۵ تعیین و بر این اساس تعداد کل نمونه مورد نیاز در این مطالعه، حداقل برابر ۱۸۰ در نظر گرفته شد که برای افزایش اطمینان، مطالعه

¹ *Trichomonas vaginalis*

² *Lactobacillus*

³ *Mobiluncus*

⁴ *Prevotella*

⁵ *Bacteroides*

⁶ *Mycoplasma hominis*

⁷ *Ureaplasma urealyticum*

⁸ *Mycoplasma genitalium*

روی ۲۳۵ نفر انجام شد. هیچ‌کدام از زنانی که در این مطالعه وارد شدند، حامله نبوده و در سه روز قبل از مراجعه آنتی‌بیوتیک استفاده نکرده بودند.

اقداماتی که برای هر بیمار انجام گرفت به این ترتیب بود: دهانه رحم با استفاده از اسپکولوم فیکس شده، با توجه به نوع ترشحات، تشخیص بالینی توسط متخصص صورت گرفته و همزمان با سوابهای سرپنبه‌ای استریل از ترشحات ناحیه فورنیکس خلفی، نمونه‌برداری انجام شد.

برای هر کدام از این بیماران پرسشنامه‌ای در مورد اطلاعات فردی تکمیل شد. یکی از سواب‌ها در محل نمونه‌گیری برای تعیین pH و تست آمین^۱ استفاده شده و بقیه سوابها در لوله آزمایش حاوی ۱ سی‌سی سرم فیزیولوژی قرار داده شده به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده پزشکی گلستان انتقال می‌یافت.

در آزمایشگاه، از یک سواب برای تهیه لام مرطوب و گرم استفاده می‌شد. یک سواب، تا زمان استخراج DNA و انجام آزمون PCR^۲ در فریزر -۷۰- درجه نگهداری شد. لام مرطوب با عدسی ۱۰ و ۴۰ میکروسکوپ نوری برای مشاهده تریکوموناس واژینالیس، سلول‌های راهنما^۳، سلول‌های میزبانی شامل شامل اپیتلیوم، گلبول سفید و قرمز و مشاهده سلول‌های مخمری و میسلیم کاذب و حقیقی (گونه‌های کاندیدا) بررسی می‌شد. واژینوز باکتریایی نیز با توجه به معیار امسل^۴ و پس از ارزیابی میکروسکوپی لام گرم، تشخیص داده می‌شد (۹).

استخراج DNA: استخراج DNA از نمونه‌های بالینی به روش کادیو و همکاران، با تغییر مختصری انجام شد. به این صورت که سواب را در حدود ۱ سی‌سی آب مقطر قرار داده و آن را چندین بار به دیواره و ته لوله زده تا محتویات سواب کاملاً در آب مقطر شسته شود. سپس سواب را دور انداخته، نمونه به دست آمده را ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و رسوب را مجدداً با آب مقطر شستشو داده و در ۵۰ میکرولیتر آب مقطر حل کردیم. مخلوط را به مدت ۱۰ دقیقه در گرم کننده

(هیتز) ۹۶ درجه قرار دادیم. وجود DNA در نمونه، با الکتروفورز آن بر ژل آگاروز ۱/۵٪ بررسی می‌شد (۸).

آزمون PCR: به منظور ردیابی ژنوم گونه مایکو پلاسما هومینیس و اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم در نمونه، به ترتیب از پرایمرهای اختصاصی tRNA ۱۶S و ژن اوره‌آز به شرحی که در جدول ۱ آمده است، استفاده شد. برای هر کدام از جفت پرایمرها، مخلوط اصلی^۵ PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر به صورت زیر تهیه شد:

۱۰ میکرولیتر از بافر PCR ده غلظتی (۱۰X)، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP^۶، ۲/۵ میلی‌مول منیزیم کلراید، ۱/۲۵ واحد از آنزیم تگ پلیمراز^۷، ۲۰ میکرومول از پرایمر رفت^۸ و ۲۰ پیکو مول از پرایمر برگشت^۹ و ۷ میکرولیتر از DNA مورد نظر (استخراج شده از ترشحات بیمار) و در نهایت با افزودن آب، حجم نهایی به ۵۰ میکرولیتر می‌رسید.

فرایند PCR در دستگاه ترمو سایکلر شامل یک مرحله ۹۴ درجه‌ای برای ۳ دقیقه، ۳۰ مرتبه با ۱ دقیقه در ۹۴ درجه، ۱ دقیقه در ۵۲ درجه و ۱ دقیقه در ۷۲ درجه و مرحله نهایی ۱۰ دقیقه‌ای در ۷۲ درجه بود (۸).

از سوشهای بالینی مایکوپلاسما هومینیس و اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم جدا شده از کشت ترشحات واژن، به‌عنوان کنترل مثبت و از سرم فیزیولوژی برای کنترل منفی استفاده شد. آشکار سازی محصول PCR با الکتروفورز بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ و سپس رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و مشاهده باندهای مورد نظر در مجاورت نور فرابنفش دستگاه ترانسیلومینیتور انجام گرفت.

کشت: یک سواب در محیط PPLO برات، حاوی آرژینین و دیگری در PPLO برات، حاوی اوره قرار داده می‌شد. بعد از حدود ۱ تا ۵ روز پس از تغییر رنگ از قرمز به ارغوانی، حدود ۰/۵ سی‌سی از محیط مایع را از فیلتر ۰/۴۵ میکرومتری عبور داده و روی محیط آگار مخصوص به خود، کشت مجدد می‌دادیم. کلونی‌ها بر روی محیط آرژینین آگار و اوره آگار، پس از ۷-۱ روز ظاهر می‌شدند. برای تأیید کلونی م. هومینیس و

⁵ Master mix

⁶ Deoxynucleotides

⁷ Taq polymerase

⁸ Forward

⁹ Reverse

¹ Whiff Test

² Polymerase Chain Reaction

³ Clue cells

⁴ Amsel

یافته‌ها با آزمون کای دو و تی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

اوره‌آلیتیکوم به ترتیب از رنگ آمیزی داینس و کلرید منگنز-اوره استفاده شد (۱۰). داده‌های بدست آمده در نرم افزار SPSS (نسخه ۱۵) وارد و ثبت شد. نتایج و

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی میکوپلاسمای ژینتال در نمونه ترشحات واژینال در زنان مبتلا به عفونت‌های واژینال شهر گرگان

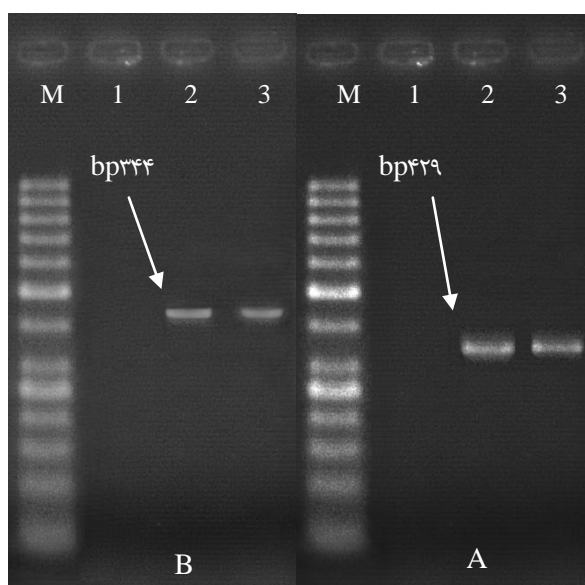
مرجع پرایمرها	اندازه آمپلیکون (bp)	توالی	ژن هدف	سویه باکتری
۷	۳۴۴	RNAH1-f: 5'- CAA TGG CTA ATG CCG GAT ACG C-3' RNAH2-r: 5'- GGT ACC GTC AGT CTG CAA T-3'	۱۶S rRNA	M. hominis
۷	۴۲۹	U4-f: 5'- ACG ACG TCC ATA AGC AAC T-3' U5-r: 5'- CAA TCT GCT CGT GAA GTA TTA C-3'	Urease	U. urealyticum

نتایج

این مطالعه بر روی ترشحات واژینال ۲۳۵ زن انجام شد که حداقل و حداکثر سن آنها ۱۷ و ۵۱ سال و میانگین سنشان $31/32 \pm 7$ بود. از این تعداد، تنها ۵ نفر مجرد (۲٪) و بقیه متأهل بودند. افراد به ۴ گروه سنی مختلف تقسیم شده به طوری که طبق آن، بیشتر مراجعین (۴۰/۸٪) در گروه سنی ۳۰-۳۹ سال قرار گرفتند. طبق یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی ۶۳ نفر (۲۶/۸٪)، واژینوز باکتریایی و ۱۴۳ نفر (۶۰/۹٪)، واژینیت داشتند. عفونت در ۲۹ نفر امکان دسته‌بندی در این دو گروه را نداشت که از آنها تحت عنوان سایر عوامل نام برده شده است.

در این مطالعه مایکوپلاسمای در ترشحات ۳۰ نفر (۱۲/۸٪) از کل بیماران مورد بررسی تشخیص داده شد که فراوانی آن در افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی، ۹ مورد (۱۴/۳٪) و در افراد مبتلا به واژینیت، ۱۷ مورد (۱۱/۹٪) بود که به ترتیب در واژینیت کاندیدایی، ۱۵ مورد (۱۲٪) و در افراد مبتلا به واژینیت تریکومونایی، ۲ مورد (۱۱/۱٪) بود. این رقم در کسانی که عفونت

شناخته شده واژینال نداشتند ۴ مورد (۱۳/۸٪) بود. فراوانی مایکوپلاسمای در این گروهها تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) (جدول ۲). از ۳۰ بیماری که در نمونه آنها مایکوپلاسمای شناسایی شد، ۱۳ مورد در کشت و بقیه در PCR مثبت بودند. در ۱۸ مورد (۷/۷٪) م. هومینیس و در ۱۸ مورد اوره‌آلیتیکوم شناسایی شد که شش نفر از آنها به طور همزمان با م. هومینیس و اوره‌آلیتیکوم آلوده بودند. توزیع فراوانی م. هومینیس و اوره‌آلیتیکوم در موارد واژینوز و واژینیت در جدول ۲ آمده است. نتایج بیانگر آن است که فراوانی اوره‌آلیتیکوم در موارد واژینیت کاندیدایی و فراوانی م. هومینیس در موارد واژینوز باکتریایی بیش از سایر موارد است. بیش از ۸۳٪ افرادی که در آنها مایکوپلاسمای شناسایی شد، pH ترشحات از ۴/۵ بالاتر بود که این رقم اختلاف معنی‌داری با افراد غیر آلوده به مایکوپلاسمای داشت ($p = 0.035$). این تفاوت در افرادی که آلوده به م. هومینیس بودند، به طور معنی‌داری بالاتر از افراد آلوده به اوره‌آلیتیکوم بود ($p < 0.05$) (جدول ۳).



شکل ۱- الکتروفورز نمونه‌های مایکوپلازما

A: الکتروفورز ژن urease ۴۲۹ bp مربوط به گونه *اوره‌پلازما* (M: مارکر، ۱: کنترل منفی، ۲: کنترل مثبت، ۳: نمونه بیمار)
 B: الکتروفورز ژن 16S rRNA ۳۴۴ bp مربوط به گونه *مایکوپلازما هومینیس* (M: مارکر، ۱: کنترل منفی، ۲: کنترل مثبت، ۳: نمونه بیمار)

جدول ۲- توزیع فراوانی مایکوپلازماها در موارد واژینیت و واژینوز باکتریایی، در نمونه ترشحات واژینال در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال شهر گرگان در سال ۱۳۸۶

نوع عفونت	مایکوپلازماها تعداد (درصد)	م. هومینیس تعداد (درصد)	اوره‌آلیتیکوم تعداد (درصد)
واژینیت	۲ ^(a) (۱۱/۱)	۲ (۱۱/۱)	۱ (۵/۶)
- کاندیدیایی	۱۵ ^(b) (۱۲)	۶ (۴/۸)	۱۲ (۹/۶)
واژینوز باکتریایی	۹ ^(c) (۱۴/۳)	۸ (۱۲/۷)	۳ (۴/۸)
سایر	۴ (۱۳/۸)	۲ (۶/۹)	۲ (۶/۹)
جمع	۳۰ ^(d) (۱۲/۸)	۱۸ (۷/۷)	۱۸ (۷/۷)

(a): در یک نفر آلودگی همزمان با م. هومینیس و *اوره‌آلیتیکوم*.
 (b): در سه نفر آلودگی همزمان با م. هومینیس و *اوره‌آلیتیکوم*.
 (c): در دو نفر آلودگی همزمان با م. هومینیس و *اوره‌آلیتیکوم*.
 (d): در شش نفر آلودگی همزمان با م. هومینیس و *اوره‌آلیتیکوم*.

هر میدان دید ($100\times$) در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت ولی سلول راهنما در افراد آلوده به میکوپلازما بیشتر بود.

میانگین تعداد لاکتوباسیل در کسانی که آلوده به مایکوپلازماهای تناسلی بودند به‌طور معنی‌داری ($p < 0/001$) کمتر از افرادی بود که فاقد آلودگی بودند (۷/۴ مورد در مقابل ۴۲/۱ مورد). وجود مایکوپلازماها در ترشحات واژن با هیچکدام از علائم بالینی شامل

میانگین سنی در افراد آلوده به مایکوپلازماها به‌طور معنی‌داری بیش از افراد غیر آلوده بود (۳۴/۲ سال در مقابل ۳۰/۹ سال) و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($p = 0/016$).

آنالیز یافته‌های آزمایشگاهی نشان داد که در افراد آلوده به مایکوپلازما، میانگین شمارش گلبول سفید از افراد غیرآلوده کمتر و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($p = 0/001$) ولی میانگین درصد تعداد سلول راهنما (در

سوزش، خارش، ترشح، تکرر ادرار، درد زیر شکم، پیشگیری از بارداری ارتباط معنی‌داری نداشت مشکلات همزمان رحم و سرویسیت و نیز روش ($p < 0.05$).

جدول ۳- میانگین برخی متغیرهای مورد بررسی در زنان مبتلا به عفونت‌های واژینال شهر گرگان در سال ۱۳۸۶ براساس آلودگی به م. هومینیس و ا. اوره‌آلیتیکوم

p value	مایکوپلازماها	p value	ا. اوره‌آلیتیکوم	p value	م. هومینیس
۰/۰۳۵	(/۶۵/۳) ۱۳۲	(/۸۳/۳) ۲۵	۱۴۳ (/۶۶/۸)	۰/۰۰۷	(/۹۴/۴) ۱۷
۰/۰۱۶	۳۰/۹	۳۴/۲	۳۱/۱	۰/۰۰۹	۳۱
۰/۰۰۱	۶/۵±۹/۱	۳/۲±۳/۹	۶/۳±۸/۹	۰/۰۰۱	۶/۳±۸/۹
>۰/۰۰۵	۴/۵±۱۱/۲	۶/۳±۹/۲	۴/۸±۱۱/۲	>۰/۰۰۵	۴/۴±۱۱
<۰/۰۰۱	۴۲/۱±۸۳/۴	۷/۴±۱۹/۷	۴۰±۸۱/۷	<۰/۰۰۱	۴۰/۸±۸۱/۸

بحث

در این مطالعه، مایکوپلازماها در ترشحات ۱۲/۸٪ (۳۰ نفر از ۲۳۵) از بیماران مورد بررسی تشخیص داده شد به طوری که فراوانی مایکوپلازما هومینیس ۷/۷٪ (۱۸ نفر از ۲۳۵) و اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم ۷/۷٪ (۱۸ نفر از ۲۳۵) است که در ۶ نفر از آنها آلودگی همزمان با م. هومینیس و ا. اوره‌آلیتیکوم مشاهده شد. مطالعاتی در داخل و خارج ایران انجام شده که نشان‌دهنده شیوع نسبتاً بالاتر این میکروارگانیسم‌ها است. در مطالعه موسویان از مجموع ۱۲۱ نمونه ژنیال مورد بررسی، جمعاً ۱۰۴ ایزوله مایکوپلازما جدا شد که ا. اوره‌آلیتیکوم ۴۴/۷٪ و م. هومینیس، ۴۱/۲٪ ایزوله‌ها را تشکیل می‌دادند (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط بادامی و همکارش با هدف بررسی فراوانی مایکوپلازما هومینیس و اوره‌آپلازما اوره‌آلیتیکوم در نمونه زنان نابارور و مقایسه آن با افراد گروه شاهد و بررسی نقش احتمالی این میکروارگانیسم‌ها در بروز ناباروری انجام شد، از ۲۵۰ فرد به عنوان گروه شاهد، نتایج بدست آمده به روش کشت بدین صورت بود که ۱۸ مورد (۷/۲٪) م. هومینیس و ۴۸ مورد (۱۹/۲٪) ا. اوره‌آلیتیکوم جدا شد (۱۱). نور امیر مظفری و همکاران از ۲۰۵ بیمار دارای عفونت دستگاه تناسلی مراجعه‌کننده به بیمارستانهای دانشگاه علوم پزشکی ایران، در سال ۱۳۸۶ با سواب‌های

اندوسرویکال نمونه‌گیری کرده و از کشت آن در ۶۴ مورد (۳۱/۸٪) اوره‌آپلازما و در ۱۶ (۷/۸٪) مورد مایکوپلازما هومینیس جدا کردند (۱۲). همین محققین در مطالعه دیگری بر روی ۲۱۰ بیمار مراجعه‌کننده به بیمارستان رسول اکرم در تهران و استفاده از دو روش کشت و PCR نشان دادند که میزان مایکوپلازماها در دو روش کشت و PCR بیش از ۵۷/۱٪ است (۱۳). در بررسی نجاریپایه و همکارش از ۳۱۲ نمونه زنان نابارور ۱۷٪ م. هومینیس مثبت شدند (۱۴). در ونزوئلا در زنان باردار شیوع ۱۰٪ برای م. هومینیس و ۲۶/۲۵٪ برای گونه‌های اوره‌آپلازما به دست آمد. در زنان غیرباردار این شیوع به ترتیب ۳۵/۳۸٪ و ۲۰٪ بود (۱۵). در مطالعه آلوار و همکاران روی ۱۵۳۴ زن با علائم عفونت‌های ژنیال در ۴۷،۱٪ میکوپلازما ایزوله شد و بر نقش این باکتری به عنوان عفونت ژنیال در زنان تأکید شده است (۱۶). در مطالعه دی بارتولومئو و همکاران در آرژانتین، درصد بالاتری از ا. اوره‌آلیتیکوم (۶۱/۴٪) و م. هومینیس (۱۶/۵٪) را یافتند (۱۷). کلیگ و همکاران در مطالعه‌ای در گینه نشان دادند که بخش عمده‌ای از زنان، ناقل میکوپلازما (۷۰٪) و اوره‌آپلازما (۷۸٪) هستند و در بیش از ۶۰٪ زنان مورد مطالعه، کلونیزاسیون با هر دو باکتری دیده شده است (۱۸).

در مطالعه‌ای که یاووزدمیر و همکاران در ترکیه انجام دادند، فراوانی ۱۱٪، هومینیس و ۳۴٪. اوره لیتیکوم مشاهده شد (۱۹).

مطالعات اندکی وجود دارد که در آن، فراوانی میکوپلاسماها مشابه مطالعه ماست. مثلاً در تبریز از ۱۳۹ نفر خانم مبتلا به سرویسیت با علامت و ۶۴ نفر خانم بدون علامت، ۱۳ مورد در محیط کشت جامد مثبت بودند (۶/۴٪) (۲۰). در مطالعه ما توزیع فراوانی میکوپلاسماها در افراد مبتلا به واژینوز باکتریایی تفاوت عمده‌ای با مبتلایان به واژینیت نداشت. به این ترتیب که در موارد واژینوز باکتریایی و واژینیت به ترتیب ۱۴/۳٪ و ۱۱/۹٪ برآورد شد. به‌طور جداگانه، م. هومینیس در افراد با واژینوز باکتریایی و ا. اوره‌آلیتیکوم در افراد دارای واژینیت کاندیدایی، بیشتر یافت شد. واژینوز باکتریایی عفونتی است که عمدتاً با به‌هم خوردن تعادل میکروبی واژن همراه است که با کاهش لاکتوباسیلها، سایر عوامل که با تعداد کم در محل حضور دارند تکثیر و گسترش می‌یابند. تقریباً بر نقش گاردنرلا و باکتریهای بی‌هوازی مثل موبیلونکوس و باکتریویدها تأکید و اتفاق نظر وجود دارد ولی در خصوص نقش میکوپلاسماها چنین توافقی نیست. به‌عنوان مثال در مطالعه آکیگوز و همکاران که همراهی احتمالی بین حضور م. هومینیس و ا. اوره‌آلیتیکوم را در نمونه‌های واژینال با پارامترهای میکروبی و بالینی بررسی کردند، از ۲۵۷۹ فرد مورد بررسی ۷/۵٪ م. هومینیس و ۲۳/۱۶٪ اوره‌آلیتیکوم یافت شد. این نویسندگان یک همراهی قوی میان م. هومینیس با واژینوز باکتریال و غیاب فلور نرمال یافتند و اینطور عنوان کرده‌اند که هر چند عامل سبب‌زای واژینوز باکتریال هنوز مشخص نشده اما م. هومینیس و ا. اوره‌آلیتیکوم به تنهایی یا با هم، همراهی معنی‌داری با واژینوز باکتریال و غیاب فلور نرمال واژن دارند (۲۱).

جورجی جوک و همکاران بیان می‌کنند که فراوانی بعضی از باکتری‌ها از جمله میکوپلاسماها (از نظر تعداد) در واژینوز باکتریال ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیش از افراد سالم می‌شود (۲۲). اما در نقطه مقابل در یک بررسی در میان افراد دارای واژینوز باکتریایی ۲۱/۴٪ افراد آلوده به م. هومینیس بودند. نویسندگان طی این

بررسی به این نتیجه رسیدند که واژینوز باکتریال به صورت مثبتی با جداسازی گاردنرلا واژینالیس همراه بوده اما در همراهی با م. هومینیس نیست (۲۳). در مطالعه حاضر نیز شیوع اوره‌آپلازما در موارد واژینیت کاندیدایی و شیوع م. هومینیس، در موارد واژینوز باکتریال بیش از سایر موارد است اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نیست.

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که وجود میکوپلاسما در ترشحات واژینال با بعضی از عوامل دارای ارتباط معنی‌داری است. از مهمترین آنها می‌توان کمبود تعداد گلبول سفید موجود در نمونه، $\text{pH} > 4.5$ و کاهش تعداد لاکتوباسیل در ترشحات را ذکر نمود. گلبول‌های سفید به‌عنوان عوامل ضد میکروبی، از رشد میکوپلاسماها جلوگیری می‌کنند؛ به همین دلیل کاهش آنها شرایط را برای استقرار و تکثیر این باکتری فراهم می‌نماید. لاکتوباسیل‌های واژینال با تولید آب اکسیژنه و نیز باکتریوسین‌ها مانع رشد باکتری‌ها از جمله میکوپلاسماها می‌شوند و از طرفی با تولید مواد اسیدی و کاهش pH محیط شرایط را برای رشد این باکتری‌ها نامساعد می‌نمایند. به همین دلیل کاهش تعداد لاکتوباسیل در ترشحات واژینال می‌تواند اثر افزایش‌دهنده بر استقرار و رشد میکوپلاسماها داشته باشد (۲۴). این یافته با نتایج تحقیق حاضر کاملاً مطابقت دارد یعنی فراوانی میکوپلاسما با کاهش تعداد لاکتوباسیل اثر معکوس دارد.

نشان داده شده که در موارد واژینیت کاندیدایی میزان بی‌هوازی‌ها در واژن کاهش می‌یابد و کم بودن آنها شرایط را برای استقرار و تکثیر میکوپلاسماها نامساعد می‌نماید (۱). همچنین مشخص شده که افزایش pH به همراه افزایش تعداد بی‌هوازی‌ها و کاهش لاکتوباسیل‌ها باعث افزایش نسبی تعداد میکوپلاسماها می‌شود. دمبا در سال ۲۰۰۵ نشان داد که فراوانی میکوپلاسما در نمونه واژن با تعداد لاکتوباسیلها ارتباط معکوس دارد (۲۳). این یافته‌ها نیز نشان دهنده این واقعیت است که کاهش یا غیاب لاکتوباسیل، سبب افزایش pH شده و شرایط را برای رشد میکوپلاسماها مساعدتر خواهد نمود (۲۴).

نتیجه گیری

فراوانی میکوپلازماهای ژنیتال در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شمال ایران کمتر از حد انتظار است، کم بودن تعداد گلوبول سفید و لاکتوباسیل در لام ترشحات واژینال و pH بیش از ۴/۵ احتمال وجود میکوپلازما در ترشحات واژینال را افزایش می دهد.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گلستان انجام شده است. بدین وسیله از همکاری سرکار خانم سلیمانزاده در بیمارستان دزیانی برای جمع آوری نمونه ها و آقای حمیدرضا پردلی برای کمک در کشت میکوپلازما تشکر و قدردانی می شود.

منابع

- 1- van Belkum A, van der Schee C, van der Meijden WI, Verbrugh HA, Sluiter HJ. A clinical study on the association of *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma hominis* infections in women attending a sexually transmitted disease (STD) outpatient clinic. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2001;32:27-32.
- 2- Dan M, Kaneti N, Levin D, Poch F, Samra Z. Vaginitis in a Gynecologic Practice in Israel: Causes and Risk Factors. *Isr Med Assoc J* 2003;5(9):629-32.
- 3- Mitchell H. ABC of sexually transmitted infections Vaginal discharge—causes, diagnosis, and treatment. *BMJ* 2004;328:1306-8.
- 4- Eckert LO. Acute Vulvovaginitis. *N Engl J Med* 2006;355:1244-52.
- 5- Simpson P, Higgins G, Qiao M, Waddell R, Kok T. Real-time PCRs for detection of *Trichomonas vaginalis* b-tubulin and 18S rRNA genes in female genital specimens. *J Med Microbiol* 2007;56:772-7.
- 6- Holzman C, Leventhal J. M, Qiu H, Jones NM, Wang J. Factors Linked to Bacterial Vaginosis in Nonpregnant Women. *The APHA*. 2001;91(10):1664-70.
- 7- Zdrodowska-Stefanow B, Kłosowska WM, Ostaszewska-Puchalska I, Bułhak-Koziół V, Kotowicz B. *Ureaplasma urealyticum* and *Mycoplasma hominis* infection in women with urogenital diseases. *Adv Med Sci* 2006;51:250-3.
- 8- Cadieux N, Lebel P, Brousseau R. Use of a triplex polymerase chain reaction for the detection and differentiation of *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma genitalium* in the presence of human DNA. *J. Gen. Microbiol* 1993,139:2431-2437.
- 9- Hellberg D, Nilsson S, Mårdh PA. The diagnosis of bacterial vaginosis and vaginal flora changes. *Arch Gynecol Obstet* 2001;265:11-5.
- 10- Mosavian M, Pourdeli HR. Survey of respiratory and urogenital infections due to *Mycoplasma* in the Hospitalized patients in Ahwas Imam Khomini hospital. *J Kerman Univ Med Sci* 2003;10(4):251-4.
- 11- 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
- 12- Amirmozafari N, Jeddi F, Masjedani F, Haghghi L. Prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in Genital Tract Infections. *J Iran Univ med sci* 2008;15(60-61):19-25
- 13- Amirmozafari N, Mirnejad R, Kazemi B, Sariri E, Bojari MR, Darkahi FD. Comparison of polymerase chain reaction and culture for detection of genital mycoplasma in clinical samples from patients with genital infections. *Saudi Med J* 2009;30(11):1401-5
- 14- Najar Pirayeh S, Al-Yasin A. Comparison of PCR with Culture for detection of *Mycoplasma hominis* in infertile women. *Kosar Medical Journal* 2005;37(3):183.
- 15- Castellano-González M, Ginestre-Pérez M, Perozo-Mena A, Alaña F, Fernández-Bravo M, Rincón-Villalobos G. Vaginal colonization by genital mycoplasmas in pregnant and non-pregnant women. *Invest Clin* 2007;48(4):419-29.
- 16- Avelar GS, Bertão SAS, Pádua RAF, Cardoso RF, Siqueira VLD. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma sp.* in genitourinary specimens and their association with symptoms of genital infection. *RBAC* 2007;39(4):295-8
- 17- Di Bartolomeo S, Rodriguez Fermepin M, Sauka DH, Alberto de Torres R. Prevalence of associated microorganisms in genital discharge, Argentina. *Rev Saude Publica* 2002;36(5):545-52.

- 18- Clegg A, Passey M, Yoannes M, Michael A. High Rates of Genital Mycoplasma Infection in the Highlands of Papua New Guinea Determined Both by Culture and by a Commercial Detection Kit. *J Clin. Microbiol* 1997;34(1):197-200.
- 19- Yavuzdemir S, Bengisun S, Güngör C, Ciftçioğlu N, Ozenci H, Vardar G. Prevalence of *G. vaginalis*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *T. vaginalis*, yeast, *N. gonorrhoeae* and other bacteria in women with vaginal discharge. *Mikrobiyol Bul* 1992;26(2):139-48.
- 20- Najafi Kia Y. The frequency of *Mycoplasma* in cervicitis in women referred to gynecology hospital of Tabriz in 1371-72. *Med J Tabriz univ medl sci* 2001;34(45):117-22.
- 21- Açikgöz ZC, Oztürk TurhanN, Gamberzade S, Ark E, Göçer S. Retrospective microbiologic evaluation of vaginal cultures. *Mikrobiyol Bul* 2002;36:23-9.
- 22-Georgijevic A, Cjukic-Ivancevic S, Bujko M. Bacterial vaginosis. Epidemiology and risk factors. *Srp Arh Celok Lek* 2000;128: 29-33
- 23- Demba E, Morison L, van der Loeff MS, Awasana AA, Gooding E, Bailey R, et al. Bacterial vaginosis, vaginal flora patterns and vaginal hygiene practices in patients presenting with vaginal discharge syndrome in The Gambia, West Africa. *BMC Infect Dis* 2005;5:12.
- 24- Cedillo-Ramírez L, Gil C, Zago I, Yáñez A, Giono S. Association of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* with Some Indicators of Nonspecific Vaginitis. *Rev Latinoam Microbiol* 2000;42:1-6.