

مقایسه معیارهای بالینی آمسل با روش استاندارد

رنگ آمیزی گرم در تشخیص واژینوز باکتریال

آسیه آزادپور مطلق^۱، ماهرخ دولتیان^{۲*}، ملیحه نصیری^۳، دکتر بهروز عزت پور^۴، یدالله صحرانورد^۵، حشمت شکیبا^۶

۱. کارشناس ارشد گروه مامایی و بهداشت باروری، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه مامایی و بهداشت باروری، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه آمار زیستی، دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.
۴. دکترای تخصصی انگل شناسی، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، لرستان، ایران.
۵. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۶. کارشناس علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۵/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۸/۰۷

خلاصه

مقدمه: واژینوز باکتریال، شایع ترین نوع واژینیت در زنان سنین باروری است که توسط معیارهای بالینی آمسل و یا سیستم نمره‌دهی میکروسکوپی ناجنت (رنگ آمیزی گرم)، تشخیص داده می‌شود. مطالعه حاضر با هدف مقایسه معیارهای بالینی آمسل با روش استاندارد رنگ آمیزی گرم در تشخیص واژینوز باکتریال انجام شد.

روش کار: این مطالعه تجربی به منظور مقایسه معیارهای بالینی آمسل با روش استاندارد رنگ آمیزی گرم در تشخیص واژینوز باکتریال در سال ۹۵-۱۳۹۴ بر روی ۱۰۰ زن متأهل مراجعه کننده به درمانگاه‌های زنان شهر خرم‌آباد انجام شد. سیستم نمره‌دهی ناجنت به عنوان روش تشخیصی استاندارد طلایی واژینوز باکتریال در نظر گرفته شد. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی معیارهای آمسل با سیستم نمره‌دهی ناجنت مقایسه گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میانگین سن، طول مدت ازدواج، سن اولین قاعدگی و اولین بارداری واحدهای پژوهش به ترتیب ۳۱/۹۶±۸/۹۳، ۱۸/۹۶±۳/۵۰، ۱۲/۹۹±۰/۸۵ و ۲۰/۰۳±۳/۸۴ سال بود. در ارزیابی ارزش تشخیصی سیستم نمره‌دهی ناجنت در مقایسه با معیارهای آمسل، معیارهای آمسل دارای حساسیت ۱۰۰٪، ویژگی ۴۶٪، ارزش اخباری مثبت ۹۲/۵٪ و ارزش اخباری منفی ۱۰۰٪ بود.

نتیجه گیری: معیارهای آمسل به اندازه سیستم امتیازدهی ناجنت در تشخیص این عفونت دقت ندارند و رنگ آمیزی گرم برای تشخیص صحیح واژینوز باکتریال نیاز است.

کلمات کلیدی: رنگ آمیزی گرم، سیستم نمره‌دهی ناجنت، معیار آمسل، واژینوز باکتریال

* نویسنده مسئول مکاتبات: ماهرخ دولتیان؛ دانشکده پرستاری و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱-۸۸۲۰۲۵۱۷؛ پست الکترونیک: mhdolatian@gmail.com

مقدمه

واژینیت، از جمله شایع‌ترین سندرم‌های بالینی ژنیکولوژیکی است که علت عفونی و غیرعفونی دارد. سه علت شایع واژینیت عفونی که حدود ۹۰٪ موارد واژینیت را در سنین باروری به خود اختصاص می‌دهند، کاندیدیاز، واژینوز باکتریایی و تریکومونیاژیس هستند (۱-۳).

واژینوز باکتریال یک تغییر در فلور نرمال واژن است که منجر به کاهش لاکتوباسیل‌های تولیدکننده هیدروژن پراکسیداز و رشد بیش از حد باکتری‌های بی‌هوازی می‌شود. واژینوز باکتریال، شایع‌ترین علت ترشحات غیرطبیعی واژن در زنان سنین باروری است (۱، ۷-۴). با وجود شیوع ۳۳-۴۷٪ این عفونت در دوران باروری و ۲۳-۲۸٪ بعد از یائسگی (۸)، در ۵۰٪ موارد بدون علامت است (۹). به‌طور کلی شیوع آن در جوامع مختلف با توجه به نژاد متفاوت است؛ به‌طوری‌که شایع‌ترین واژینیت در ایالات متحده آمریکا است (۱۰). بر اساس گزارش مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (CDC)^۱، شیوع واژینوز باکتریال با توجه به موقعیت جغرافیایی، وضعیت اجتماعی-اقتصادی و قومیت، از ۸ تا ۵۱٪ متفاوت است (۱۱، ۱۲). محدوده شیوع آن از ۵٪ زنانی که به‌طور مرتب جهت معاینه به درمانگاه مراجعه می‌کنند، نسبت به زنانی که جهت درمان عفونت‌های مقاربتی مراجعه می‌کنند (با شیوع ۳۰٪) متفاوت است (۱۳). اطلاعات آماری اندکی از مردم ایران در زمینه شیوع واژینوز باکتریال دسترس است (۱۴). شیوع این عفونت در زنجان ۱۶/۲٪ (۱۵)، در شهرستان یزد ۱۵/۶٪ (۱۴) و در زنان نابارور شهرستان قم ۷۰/۳۴٪ گزارش شده است (۱۶). عواملی مانند وضعیت اجتماعی، اقتصادی و بهداشتی ضعیف، فعالیت جنسی زود هنگام، شرکای جنسی متعدد، استرس روانی و عامل ژن - محیط زیست به‌عنوان عوامل خطر شناخته شده برای این عفونت در نظر گرفته شده‌اند (۱۳). عوارض آن شامل: بیماری‌های التهابی لگن، ناباروری، اندومتریوز، سلولیت کاف واژن، سندرم مجرای ادرار و افزایش استعداد ابتلاء به عفونت‌های جنسی از جمله HIV است

(۱۵). در زنان باردار عوارضی مانند زایمان زودرس، پارگی زودرس و خودبه‌خود پرده‌های جنینی، سقط جنین، کوریوآمنیونیت^۲، اندومتريت پس از زایمان و عفونت زخم پس از زایمان سزارین را به‌دنبال دارد (۱۷). اگرچه نیمی از زنان با واژینوز باکتریال ممکن است بدون علامت باشند، ولی علامت شایع آن، ترشحات واژینال بدبو به‌ویژه پس از مقاربت است. وقتی که مجرای تناسلی فوقانی درگیر می‌شود، باعث علائم کلاسیک عفونت التهابی لگن، خونریزی‌های ناشناخته و دردهای دوران قاعدگی که به‌تازگی شروع شده‌اند، می‌شود (۱۸). واژینوز باکتریال تقریباً همیشه بر مبنای علائم بالینی و به‌صورت سرپایی درمان می‌شود. عدم استفاده از روش‌های آزمایشگاهی، اندازه‌گیری pH ترشحات واژن و مطالعات میکروسکوپی مانند تهیه اسمیر مرطوب، اغلب منجر به تشخیص نادرست می‌شود. اخیراً، روش‌های تشخیصی برای تشخیص واژینوز باکتریال توسعه یافته‌اند که از آن جمله می‌توان به واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR)^۳، آزمون هیبریداسیون اسیدنوکلئیک و فعالیت پرولین آمینه پپتیداز که گران هستند (۱۹)، اشاره کرد. بنابراین، معیارهای بالینی آمسِل و روش میکروسکوپی ناجنت بر اساس رنگ‌آمیزی گرم باقی می‌ماند که گزینه‌های عملی‌تر، قابل انجام و مقرون به صرفه برای تشخیص واژینوز باکتریال، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه می‌باشند (۲۰). معیار بالینی آمسِل، شایع‌ترین روش تشخیص واژینوز باکتریال است. آمسِل و همکاران (۱۹۸۳)، معیارهای تشخیص بالینی واژینوز باکتریال را راه‌اندازی کردند که هنوز هم مورد استفاده است. تشخیص بالینی واژینوز باکتریال با حضور سه معیار از چهار معیار بالینی: ترشحات واژن به رنگ سفید مایل به خاکستری رقیق هموزن، pH ترشحات واژن (بیش از ۴/۵)، حضور سلول‌های کلیدی در اسمیر مرطوب سلول‌های اپی‌تلیال واژن، و متصاعد شدن بوی آمین یا ماهی از ترشحات واژن، پس از افزودن هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ مشخص می‌شود (۲۱).

² Chorio Amnionitis

³ Polymerase Chain Reaction

¹ Centers for Disease Control and Prevention

شهر خرم‌آباد مراجعه کردند، انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل: زنان غیر باردار ۴۹-۱۵ ساله، متأهل، غیرشیرده، غیر یائسه، شاکی از ترشحات واژن، دارای سیکل قاعدگی منظم، عدم ابتلاء به سایر واژینیت‌ها، عدم مصرف داروهای واژینال یا آنتی‌بیوتیک طی ۲ هفته گذشته، عدم شرکت در سایر مطالعات تحقیقی طی ۴ هفته گذشته، عدم وجود مشکلات و ناهنجاری‌های سرویکس، عدم ابتلاء به بیماری‌های مزمن طبی و تمایل به شرکت در پژوهش (با اخذ رضایت‌نامه کتبی آگاهانه) بود. همچنین معیارهای خروج از مطالعه شامل: باردار بودن، خونریزی واژینال، استفاده از دوش واژینال طی یک هفته گذشته، مقاربت طی ۴۸ ساعت گذشته، درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها طی ۲ هفته گذشته و استفاده از هر نوع داروی واژینال در عرض ۷ روز قبل بود. تشخیص واژینوز باکتریال در مطالعه حاضر بر حسب شکایات بیمار، مشاهدات پژوهشگر، معیارهای بالینی آمسل و میکروسکوپی ناجنت بود. با توجه به حساسیت‌های متفاوت معیار آمسل در مطالعات مختلف، حجم نمونه با توجه به فرمول برآورد حجم نمونه برای نسبت یک جامعه و با در نظر گرفتن فاصله اطمینان ۹۵٪ و حداکثر خطای ۵٪، $Z=1/96$ ، $d=0/09$ و $p=0/7$ و ۱۰۰ نفر محاسبه شد (۲۵).

در مطالعه حاضر ابزار گردآوری داده‌ها، پرسشنامه و وسایل لازم جهت نمونه‌گیری از ترشحات واژینال بود. پرسشنامه شماره ۱ شامل سؤالاتی در خصوص متغیرهای جمعیت‌شناسی، زمینه‌ای و مداخله‌ای و پرسشنامه شماره ۲ نیز شامل سؤالاتی مربوط به شکایت بیمار، معیارهای بالینی آمسل و معیار میکروسکوپی ناجنت بود. روش انجام کار بدین‌صورت بود که بیمار در وضعیت لیتوتومی قرار گرفت و با گذاشتن اسپکولوم یک‌بار مصرف (بدون استفاده از لوبریکانت) ابتدا چگونگی ترشحات و علائم با مشاهده مستقیم بررسی و در صورت مشاهده ترشحات واژینال یکنواخت، رقیق و خاکستری، بدون داشتن سرویسیت، به ترتیب با استفاده از یک سواپ پنبه‌ای استریل (با حرکت چرخشی و ملایم) از ترشحات دیواره‌های کناری واژن نمونه برداشته و با استفاده از نوار pH سنج ترشحات واژن را (با حرکت

علم فلور میکروبی طبیعی و غیرطبیعی واژن طی سال‌های گذشته تغییر کرده است و به‌منظور بالا بردن دقت تشخیص (۲۲)، نمره‌بندی ناجنت را بر اساس رنگ‌آمیزی گرم طراحی کردند. رنگ‌آمیزی گرم، روش استاندارد طلایی برای تشخیص واژینوز باکتریال است. این روش تشخیصی بر اساس سه شکل سلول باکتریایی است که شامل لاکتوباسیل^۱ (میل‌های گرم مثبت بزرگ)، گاردنرلا واژینالیس^۲ (گرم منفی کوچک) و میل‌های گرم متغیر و موبیلونکوس^۳ (گرم منفی خمیده) است. بر اساس فراوانی هر نوع از این اشکال میکروبی در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی (×۱۰۰) با افزودن یک قطره روغن ایمرسیون^۴، هر کدام از اشکال باکتری از ۴-۰ درجه‌بندی شده و امتیاز ۳-۰ نشانه میکروفلورای طبیعی واژن، نمره ۶-۴ میکروفلورای بینابینی و امتیاز مساوی یا بیشتر از ۷، معیار تشخیص واژینوز باکتریال است (۱، ۱۸).

سیستم امتیازدهی ناجنت برای اسمیرهای رنگ‌آمیزی شده به روش گرم دارای روایی و پایایی بالایی است. بیشتر پزشکان به علت وقت‌گیر و پرهزینه بودن رنگ‌آمیزی گرم ترجیح می‌دهند از معیارهای بالینی آمسل استفاده کنند (۱۸، ۲۱، ۲۳). با توجه به این حقیقت که آزمون ویف مثبت یا افزایش pH بیش از ۴/۵ که از معیارهای آمسل هستند، در مواردی غیر از واژینوز باکتریال نیز رخ خواهد و تشخیص نهایی واژینوز باکتریال با روش میکروسکوپی ناجنت است (۱، ۲۴)، مطالعه حاضر با هدف مقایسه معیارهای بالینی آمسل با روش استاندارد رنگ‌آمیزی گرم در تشخیص واژینوز باکتریال در زنان مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان شهر خرم‌آباد از سال ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۵ انجام شد.

روش کار

این مطالعه تجربی به‌منظور اعتبارسنجی آزمون‌های تشخیصی که از ترشحات واژینال شکایت داشتند و به درمانگاه‌های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی لرستان در

¹ Lactobacillus

² Gardnerrilla

³ Mobiluncus

⁴ Oil immersion

سلول‌های کلیدی در حداقل ۲۰٪ لام یا بیشتر (۲ عدد یا بیشتر) مشخصه واژینوزباکتریال بر اساس نمره‌بندی ناجنت بود. به دلیل بالا بردن صحت تشخیص واژینوز باکتریال که بر مبنای معیارهای بالینی آمسل و نمره‌بندی میکروسکوپی ناجنت بود و به‌منظور تشخیص افتراقی آن از تریکومونیاژیس و سرویسیت حاد یا دلایل فیزیولوژیک مثبت بودن آزمون ویف و pH بیشتر یا مساوی ۴/۵ (حضور اسپرم، گلبول‌های قرمز و گلبول‌های سفید چند هسته‌ای) روش استاندارد رنگ‌آمیزی گرم با نمره‌بندی بر اساس معیارهای میکروسکوپی ناجنت که دارای ویژگی بالایی است، جهت تشخیص افتراقی این عفونت در نظر گرفته شد. در عفونت تریکومونیاژیس به‌جای سلول‌های کلیدی در زیر میکروسکوپ، هم در گستره مرطوب با بزرگ‌نمایی (×۴۰) و هم در رنگ‌آمیزی گرم با بزرگ‌نمایی (×۱۰۰)، سلول‌های پلی‌مورفونوکلوئر (لوکوسیت‌های) به میزان زیادی مشاهده می‌شد که این نمونه‌ها از مطالعه حذف شدند. سیستم امتیازدهی از صفر به ۱۰، با نمرات بالاتر از ۷ به علامت تشخیص واژینوز باکتریایی بود. متخصص میکروبی‌شناسی از یافته‌های به‌دست آمده از معاینه لگنی و نتایج ارزیابی بالینی انجام شده توسط پژوهشگر اطلاعی نداشت. در این مطالعه درجه‌بندی ناجنت به‌عنوان استاندارد طلایی تشخیص واژینوز باکتریال (۱۸) در نظر گرفته شد (جدول ۱، ۲). تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) انجام شد. به‌منظور ارزیابی داده‌ها از روش‌های آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار و توزیع فراوانی) و برای تعیین حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی‌کننده مثبت و منفی کل معیار بالینی آمسل، فواصل اطمینان ۹۵٪ محاسبه شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

چرخشی (ملایم)، روی نوار pH سنج از یک سمت به سمت دیگر لام گسترده می‌شد. با تغییر رنگ ایجاد شده روی کاغذ pH سنج در مقایسه با نوار شاخص رنگی مدرج (با شماره‌گذاری ۱۴-۰) روی جعبه نوارها، میزان pH تعیین می‌شد. چنانچه pH ترشحات واژن بیش از ۴/۵ بود، سوپ دویم تهیه و یک قطره از محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪ روی آن چکانده و بوی تند ماهی‌گندیده (به دلیل آزاد کردن آمین‌های آروماتیک) که استشمام می‌شد، آزمون ویف مثبت در نظر گرفته می‌شد. سپس آزمون‌های میکروسکوپی در مرکز تحقیقات رازی دانشگاه علوم پزشکی خرم‌آباد به‌منظور بررسی ترشحات واژن از نظر عدم حضور تریکومونا، گلبول‌های سفید و قرمز یا اسپرم متحرک و پسودومیسیلیوم^۱ در آزمون مرطوب و در تأیید آن رنگ‌آمیزی گرم با نمره‌بندی ناجنت انجام شد (۲۵). روی لام یک قطره سرم فیزیولوژی اضافه و لامل ۱۸*۱۸ روی لام گذاشته و بلافاصله جهت رؤیت سلول‌های کلیدی (سلول‌های اپی‌تلیال با غشاء خورده شده و نامشخص در اثر حضور گاردنرلا واژینالیس) (۲۶)، پلی‌مورفونوکلوئر، گلبول قرمز، اسپرم، تریکومونیاژیس، میسیلیوم، یا کاندیدیازیس در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ×۴۰ شده رؤیت شد. اگر سه معیار از چهار معیار آمسل مثبت بود، تشخیص واژینوز باکتریال بر اساس معیارهای بالینی آمسل داده می‌شد و سوپ چهارم برای ادامه تشخیص میکروسکوپی واژینوز باکتریال تهیه و به همان روش، روی لام کشیده شد. کد بیمار، تاریخ نمونه‌گیری، واژینوز باکتریال بودن نمونه به اختصار با قلم الماسه روی لام نوشته و در دمای معمول اتاق خشک و سپس با استفاده از قسمت انتهایی شعله آبی‌رنگ چراغ الکلی فیکس شد. بلافاصله رنگ‌آمیزی لام بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده رنگ‌آمیزی گرم انجام شد. سپس یک قطره روغن ایمرسیون برای وضوح بهتر روی لام چکانده و زیر نور باز میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی هزار (×۱۰۰) رؤیت می‌شد. دیپلوکوک گرم منفی، کوکوباسیل‌های گرم منفی و باکتری‌های گرم متغیر فراوان (بیش از ۳۰ عدد در هر شاین)، موبیلونکوس (۳-۱ عدد در هر شاین) و یا حضور

¹ Pseudomycelia

جدول ۱- معیار نمره بندی ناجنت اصلاح شده برای رنگ آمیزی گرم ترشحات واژن

موبیلونکوس		گاردنرلا و باکترئیدها، باسیل کوتاه و کوکسی (گرم متغیر، گرم منفی)		لاکتوباسیل (باسیل گرم مثبت)	
تعداد باکتری	امتیاز	تعداد باکتری	امتیاز	تعداد باکتری	امتیاز
۰	۰	۰	۰	۴	۰
۰	۰	۱	۱	۳	۱
۱، ۲	۱	۲	۲	۲	۲
۰	۰	۳	۳	۱	۳
۳، ۴	۲	۴	۴	۰	۴

(نمره ۰-۳ = نرمال، ۴-۶ = متوسط، ۷-۱۰ = واژینوز باکتریال)

جدول ۲- روش تشخیص عفونت واژینوز باکتریال در مطالعه حاضر منطبق بر دستورالعمل ماهون، ۲۰۱۵

رنگ آمیزی گرم (تشخیص میکروسکوپی)	آزمون آمین (ویف)	آزمون مرطوب (wet)	pH	آزمون	نوع عفونت
سلول های اپی تلیوم تک هسته ای، لاکتوباسیل های گرم مثبت بنفش	منفی	سلول های اپی تلیوم سنگ فرشی، لاکتوباسیل ها، پلی مورفونوکلوتر (کمتر از ۵ عدد)	۴-۴/۵	ترشحات طبیعی	ترشحات طبیعی
سلول های اپی تلیوم بنفش، پلی مورفونوکلوتر (۱۰-۵ عدد)	مثبت	تریکوموناس شناور فعال، پلی مورفونوکلوتر (۱۰-۵ عدد)	≥۴/۵	تریکومونیاژیس واژینالیس	تریکومونیاژیس واژینالیس
(هیف) میسیلیوم، مخمر	منفی	(هیف) میسیلیوم، مخمر	≤۴/۵	مخمر و میسیلیوم کاذب	مخمر و میسیلیوم کاذب
حضور باکتری های (میله ای گرم منفی و گرم متغیر)، موبیلونکوس، گاردنرلا و سلول های کلیدی	مثبت	عدم حضور لاکتوباسیل ها و پلی مورفونوکلوترهای، حضور سلول های کلیدی (بیش از ۲۰٪)	≥۴/۵	واژینوز باکتریال	واژینوز باکتریال

یافته ها

۱۲/۹۹±۰/۸۵۸ سال و ۳/۸۴±۲۰/۰۳ سال بود. شغل اکثریت آن ها، خانه دار (۸۳٪) و دارای تحصیلات ابتدایی و راهنمایی (۴۶٪) بودند. روش پیشگیری یک چهارم شرکت کنندگان در مطالعه حاضر، دستگاه داخل رحمی بود (جدول ۳).

در مطالعه حاضر محدوده سنی واحدهای پژوهش ۴۹- ۱۵ سال، میانگین سن، طول مدت ازدواج، سن اولین قاعدگی و سن اولین بارداری آن ها به ترتیب ۳۱/۹۶±۸/۹۳ سال، ۳/۵۰±۱۸/۹۶ سال،

جدول ۳- مشخصات فردی - مامایی واحدهای پژوهش

تعداد (درصد)	متغیر
۳۱/۹۶±۸/۹۳	سن
۱۸/۹۶±۳/۵۰	طول مدت ازدواج
۱۲/۹۹±۰/۸۵۸	سن اولین قاعدگی
۲۰/۰۳±۳/۸۴	سن اولین بارداری
(۸۹) ۸۹	دارد
(۱۱) ۱۱	ندارد
(۴۶) ۴۶	راهنمایی و کمتر
(۹) ۹	دبیرستان
(۴۵) ۴۵	دانشگاهی
(۳۱) ۳۱	راهنمایی و کمتر
(۶۱) ۶۱	دبیرستان
(۸) ۸	دانشگاهی

۸۳ (۸۳)	خانه‌دار	شغل فرد
۴ (۴)	کارمند	
۱۳ (۱۳)	کارگر	
۳ (۳)	بیکار	شغل همسر
۲۶ (۲۶)	کارمند	
۷۱ (۷۱)	آزاد	
۱۱ (۱۱)	نولی‌پار	نوع زایمان
۷۱ (۷۱)	واژینال	
۱۳ (۱۳)	سزارین	
۵ (۵)	سزارین و واژینال	
۲۷ (۲۷)	کمتر از ۲ بار	تعداد مقاربت در هفته
۶۲ (۶۲)	۲-۳ بار	
۱۱ (۱۱)	۴ بار و بیشتر	
۲۱ (۲۱)	طبیعی	روش پیشگیری از بارداری
۴ (۴)	کاندوم	
۱۶ (۱۶)	قرص	
۲۵ (۲۵)	وسایل داخل رحمی	
۱۱ (۱۱)	لوله‌بندی	
۱۷ (۱۷)	هیچ روشی	

در ۱۰۰٪ واحدهای پژوهش، اسیدیته ترشحات واژن آن‌ها بالا (pH بیشتر یا مساوی ۴/۵) و آزمون آمین مثبت بود. حضور سلول‌های کلیدی (مساوی و بیشتر از ۲۰٪) در گستره مرطوب در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی (۴۰×)، ۶۱٪ بود. در مطالعه حاضر در مقایسه آزمون تشخیصی بالینی آمسل و آزمون تشخیصی میکروسکوپی ناجنت (استاندارد طلایی تشخیص واژینوزباکتریال)، میزان حساسیت ۱۰۰٪، ارزش اخباری منفی ۱۰۰٪، ارزش اخباری مثبت ۹۲/۵٪ و ویژگی ۴۶٪ (ویژگی پایین) تأیید شد (جدول ۴).

در مطالعه حاضر، تشخیص بالینی واژینوز باکتریال بر اساس شکایات بیمار، مشاهدات پژوهشگر، معیارهای بالینی آمسل و معیارهای میکروسکوپی ناجنت (به روش رنگ‌آمیزی گرم) بود. هیچ‌یک از واحدهای پژوهش قرمزی و التهاب واژن، ولو و یا سرویکس نداشتند. شایع‌ترین علل مراجعه بیماران مبتلا به واژینوز باکتریال، شکایت از افزایش ترشحات (۹۷٪) و بوی بد واژن (۹۲٪) بود. از نظر معاینه کننده، ۹۲ نفر (۹۲٪) از مشارکت‌کنندگان در این پژوهش دارای ترشح هموزن خاکستری و ۹۴ نفر (۹۴٪) آن‌ها بوی بد واژن را داشتند.

جدول ۴- مقایسه شاخص آمسل و نمره‌دهی ناجنت (شاخص مرجع) برای تشخیص واژینوز باکتریایی

تعداد کل	شاخص ناجنت (شاخص مرجع)		شاخص آمسل
	بهبودی (۰-۳)	عدم بهبودی (بیشتر از ۳)	
۸۷	۸۷	۰	۹۴
۹۴	۷	۸۷	۹۴
۶	۰	۶	۶
۱۰۰	۱۳	۸۷	۱۰۰

بحث

یا گرم متغیرهای عامل واژینوز فقط با رنگ آمیزی گرم قابل رؤیت هستند (۲۸).

برخلاف پژوهش حاضر، در مطالعه رفیق و همکاران (۲۰۱۵) حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی معیار بالینی آمسل به ترتیب ۸۶/۴، ۹۵/۲، ۸۵/۳ و ۹۵/۶٪ گزارش شد (۲۹). مداک و همکاران (۲۰۱۰) نیز حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی معیارهای آمسل را به ترتیب ۶۶/۷، ۹۴/۷، ۸۰ و ۹۰٪ گزارش کردند. حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی برای شکایت از ترشحات واژن ۷۵/۶، ۶۴/۸، ۴۱۳/۳ و ۸۹/۰۱٪ و حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری منفی و ارزش اخباری مثبت برای pH بیشتر یا مساوی ۴/۵ به ترتیب ۹۶/۳، ۵۵/۶، ۴۱/۶ و ۹۷/۹٪ بود. ولی سلول‌های کلیدی حساسیت ۱۰۰٪ و ویژگی ۷۶٪ داشتند (۲۰). همچنین در مطالعه محمدزاده و همکاران (۲۰۱۵) حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی معیارهای آمسل به ترتیب ۹۱، ۹۱، ۸۶ و ۹۴٪ محاسبه شد. حضور سلول‌های کلیدی ترشحات واژن به ترتیب در آزمون مرطوب دارای بیشترین حساسیت (۹۷/۶٪) و ویژگی (۸۵/۷٪) بود. شکایت از ترشحات واژینال، حساسیت ۸۶/۷٪ و ویژگی ۵۶/۵٪ داشت. pH ترشحات واژن کمترین ویژگی را داشت (۳۰). در مطالعه هملاتا و همکاران (۲۰۱۲)، ترشحات رقیق و هموزن واژن کمترین حساسیت (۲۷٪) را داشت (۳۱).

در مطالعه تاج و همکاران (۲۰۱۲) نیز که معیارهای آمسل و سایر روش‌های میکروبیولوژیکی را برای تشخیص واژینوز باکتریال مورد آزمایش قرار داده، نشان دادند که معیارهای آمسل برای تشخیص واژینوز باکتریال قابل قبول هستند (۳۲). شوکلا (۲۰۱۶)، حساسیت حضور سلول‌های کلیدی در مبتلایان به واژینوز باکتریال را ۸۵/۸۷٪ و ویژگی آن را ۱۰۰٪ گزارش کردند و دریافتند که حضور سلول‌های کلیدی (در روش رنگ آمیزی گرم) بیشترین میزان ویژگی و آزمون آمین مثبت با بیشترین میزان حساسیت، بالاترین میزان دقت را در کنار هم برای تشخیص واژینوز باکتریال دارند (۳۳). pH محیط واژن در واژینیت کاندیدیایی

در مطالعه حاضر، تشخیص بالینی واژینوز باکتریال بر اساس شکایات بیمار، مشاهدات پژوهشگر، معیارهای بالینی آمسل و معیارهای میکروسکوپی ناجنت (به روش رنگ آمیزی گرم) انجام شد. شاخص شکایت بیمار از ترشحات واژن، کمترین میزان حساسیت را در بین سایر شخص‌ها (۷۹/۳٪) برخوردار بود و ویژگی پایینی (۳۸/۵٪) نیز داشت. از بین معیارهای آمسل، ویژگی ترشحات هموزن خاکستری رنگ واژن و pH بیشتر یا مساوی (۵۳/۸٪) بود، ولی هر دو معیار حساسیت بالایی (۹۳/۴٪) داشتند. به طور کلی حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و ارزش اخباری منفی معیارهای آمسل به ترتیب ۱۰۰٪، ۴۶٪، ۹۲/۵٪ و ۱۰۰٪ محاسبه شد. همچنین، در میان معیارهای آمسل، آزمون ویف دارای بیشترین ویژگی (۹۲/۳٪) و حساسیت (۹۴/۳٪) بود. حضور سلول‌های کلیدی در نمونه مرطوب با بزرگ‌نمایی (۴۰×)، حساسیت ۱۰۰٪ ولی ویژگی پایینی (۲۳/۱٪) داشت. علی‌رغم اینکه سلول‌های کلیدی مارکر تشخیصی واژینوز باکتریال هستند، تاکنون بیش از ۲۵۰ گونه باکتری در واژن شناسایی شده است (۲۷). باکتری‌های دیگر مانند اکتینومایسس^۱، آئروکوکوس^۲، آن-آئروکوکوس^۳، اتوپوبیوم^۴، کمپیلوباکتر^۵، سیتروباکتر، کورینه باکتریوم، انتروباکتر، اشیشیا، گاردنرلا، هموفیلوس، موبیلونکوس، پپتواسترپتوکوکوس، پرووتلا، پورفیروموناس، سالمونلا، شیگلا، استافیلوکوک، استرپتوکوک، اوره‌آپلازما و بسیاری از گونه‌های لاکتوباسیل را می‌توان در فلور میکروبی طبیعی یا غیرطبیعی واژن پیدا کرد که زمانی واژینوز باکتریال محسوب می‌شوند که تعداد آنها به میزان قابل توجهی بیشتر از لاکتوباسیل‌های هوازی باشند و سلول‌های کلیدی (گاردنرلاهایی که به جدار سلول‌های اپی‌تلیال چسبیدند و جدار آنها را تخریب کرده‌اند) در ۲۰٪ موارد واژینوز باکتریال قابل مشاهده هستند. سایر گرم منفی‌ها

¹ Actinomyces

² Aerococcus

³ Anaerococcus

⁴ Atopobium

⁵ Campeliobacter

امتیازدهی ناچنت حساسیت بیشتری در تشخیص واژینوز باکتریال دارد و معیارهای آمسل را بدون استفاده از روش رنگ‌آمیزی گرم را گمراه کننده دانستند (۳۹). علاوه بر این، در مطالعه حاضر هیچ‌یک از واحدهای پژوهش مبتلا به واژینوز باکتریال، خارش، سوزش، تحریک واژن و ولو نداشتند. ولی شکایت بیماران از بوی بد واژن، با حساسیت ۹/۹۸٪ و کمترین میزان ویژگی (۷/۷٪) را داشتند. باکتری‌های مرتبط با واژینوز باکتریال آزیم‌های موکولیتیک^۸ تولید می‌کنند که عبور باکتری‌های بی‌هوازی را از موکوس سرویکس به دستگاه تناسلی فوقانی راحت‌تر می‌کند. در نتیجه، تولید آزیم‌های پروتئولیتیک، منجر به بوی بد و تند متیل آمین می‌شود (۴۰، ۴۱). بوی بد از ویژگی‌های اصلی واژینوز باکتریال و ناشی از متابولیسم یا سوخت‌وساز پلی‌آمین باکتری‌ها است که توسط ترشحات واژن تبخیر می‌شوند (۲۶، ۳۴، ۴۲). ترشحات، اغلب پس از مقاربت بودارتر و آشکارتر می‌شوند. واژینوز باکتریال به‌تنهایی سوزش ادرار، مقاربت دردناک، خارش، سوزش، یا التهاب واژن (قرمزی، ادم) ایجاد نمی‌کند. حضور این علائم نشان می‌دهد واژینیت مخلوط (علائم مربوط به دو پاتوژن) وجود دارد. واژینوز باکتریال علت واحد ندارد، ولی اینکه پاتوژن‌های بی‌هوازی جایگزین پاتوژن‌های هوازی می‌شوند مشخص است؛ و گاهی باعث تحریک یا سوزش واژن می‌شود که به‌طور قابل‌توجهی خفیف‌تر از تریکومونیازیس یا کاندیدیاز است، اما خارش غیرمعمول است (۱، ۴۳). واژینوز باکتریال در ۷۵-۵۰٪ موارد بدون علامت است (۱۸، ۴۴، ۴۵). بنابراین، همان‌گونه که ذکر شد، تنها در ۲۰٪ موارد، در صورت عدم وجود ترشحات خاکستری هموزن واژن، افزایش pH محیط واژن و آزمون آمین مثبت در کنار معیار سوم آمسل یعنی حضور سلول‌های کلیدی زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی (۴۰×)، منجر به تشخیص واژینوز باکتریال خواهد شد، زیرا در سایر عفونت‌ها مانند تریکومونیازیس نیز افزایش pH محیط واژن یا مثبت شدن آزمون آمین وجود دارد. همچنین شرط داشتن واژینوز باکتریال لزوماً حضور سلول‌های کلیدی در آزمون مرطوب نیست و به‌عبارت

به‌طور معمول تغییر نمی‌کند، درحالی‌که در واژینوز باکتریایی و تریکومونیازیس، pH افزایش دارد. با افزایش pH واژن، تعادل میکروب‌های طبیعی واژن مختل شده و منجر به ایجاد ترشحات غیرطبیعی، شیری متمایل به خاکستری، همگن، نازک و چسبیده به دیواره واژن، با بوی ناخوشایند و متمایز (شبيه به ماهی گندیده) می‌شود (۳۴).

pH بیشتر یا مساوی ۴/۵ ترشحات واژن باعث افزایش رشد بیش از حد گونه‌های مختلف باکتری‌ها از جمله؛ گاردنرلا واژینالیس^۱، مایکوپلاسماهومینیس^۲، اوره-آپلاسم^۳ و بی‌هوازی‌هایی مانند پرووتلا^۴، پورفیروموناس^۵، پپتواسترپتوکوکوس^۶ و موبیلونکوس^۷ در محیط قلیایی واژن می‌شود. بنابراین، تعیین pH به تمایز بین علل عفونی خاص کمک می‌کند. علل غیرعفونی که در آن pH افزایش می‌یابد، ممکن است به دلیل وجود خون قاعدگی، مایع منی (اگر اخیراً مقاربت داشته است)، موکوس سرویکس و یا مایع آمینوتیک در هنگام بارداری با پرده‌های پاره شده باشد (۷، ۳۵)، درحالی‌که در مطالعه حاضر به رعایت شرایط ورود به مطالعه، علل غیرعفونی افزایش pH حذف شدند، بنابراین استفاده از آزمون pH به همراه سایر روش‌های تشخیصی دقت آزمون pH را بالا می‌برد (۳۶).

در مطالعه حاضر، معیارهای آمسل با ویژگی پایین (۴۶٪) و حساسیت بالا (۱۰۰٪) نشان می‌دهند که معیارهای آمسل نمی‌تواند به‌خوبی سیستم نمره‌دهی ناچنت، در تشخیص واژینوز باکتریال به‌کار رود. همسو با مطالعه حاضر، مازولی و همکاران (۱۹۹۰) حساسیت معیار میکروسکوپی ناچنت (روش رنگ‌آمیزی گرم) را بیش از ۹۵٪ گزارش کردند (۳۷). در مطالعه بگوم و همکاران (۲۰۱۰)، معیار میکروسکوپی ناچنت حساسیت ۹۳/۷۵٪ و ویژگی ۹۹/۱۰٪ داشت (۳۸). رنجری و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه خود گزارش کردند که سیستم

¹ Gardnerella vaginalis

² Mycoplasmahominis

³ Ureaplasma

⁴ Prevotella

⁵ Porphyromonas

⁶ Peptostreptococcus

⁷ Mobiluncus

⁸ Mucolytic

عوارض واژینوز باکتریال و سایر عفونت‌های واژینال، تشخیص دقیق و ارزشمند است. به نظر می‌رسد که به منظور ارتقاء دانش متخصصین زنان و مامایی، روش‌های نوین تشخیصی جایگزین روش‌های سنتی مشاهده‌ای شود.

نتیجه‌گیری

معیارهای آمسل در تشخیص واژینوز باکتریال مفید هستند، اما به‌تنهایی می‌توانند همراه کننده باشند. تشخیص صحیح واژینوز باکتریال با روش رنگ‌آمیزی گرم است. بنابراین، با توجه به بدون علامت بودن این عفونت در نیمی از موارد و به‌منظور تفکیک از سایر عفونت‌ها (تریکومونیاژیس)، موارد فیزیولوژیک افزایش pH یا آزمون مثبت آمین (در طی مقاربت اخیر) و همچنین برای کاهش عود مکرر به علت عدم تشخیص صحیح، استفاده از روش میکروسکوپی ناچنت منطقی به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مامایی مصوب جلسه شورای پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با تأیید کمیته اخلاق با شماره مجوز (IR.SBMU.IASB.REC) می‌باشد. بدین‌وسیله از همکاری و مساعدت معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پرستاری مامایی و تمام زنان شرکت‌کننده در این مطالعه، تشکر و قدردانی می‌شود.

دیگر افزایش pH محیط واژن و آزمون آمین مثبت در عفونت تریکومونیاژیس نیز افزایش دارد. با مثبت بودن دو معیار از معیارهای چهارگانه آمسل باید رنگ‌آمیزی گرم انجام شود؛ به‌عبارت دیگر، در رنگ‌آمیزی گرم، نمره کل ناچنت در تشخیص واژینوز باکتریال برابر با نمره حاصل از حضور لاکتوباسیل‌های گرم مثبت، گاردنرلا واژینالیس، انواع باکتری‌های میله‌ای و خمیده گرم منفی و گرم متغیر است (۱، ۱۸).

روش تشخیصی میکروسکوپی گرم از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار است و با توجه به اینکه بیش از نیمی از موارد واژینوز باکتریال بدون علامت بالینی است و با معیارهای آمسل به‌تنهایی قابل تشخیص نیست، با استفاده از هر دو معیار بالینی و میکروسکوپی تشخیص دقیق‌تر منجر به درمان صحیح می‌شود.

در این مطالعه از آنجایی که pH ترشحات واژن در تشخیص واژینوز باکتریال از ویژگی پایینی برخوردار بود، کمک‌چندانی به ارزیابی عفونت نکرد و بنابراین در تعیین اتیولوژی صحیح واژینوز باکتریال آزمایشات میکروسکوپی گرم توصیه می‌شود، زیرا لام مرطوب کمک مؤثری در تشخیص حرکت تریکوموناس دارد، ولی مشاهده کاندیدا، میسیلیوم، سلول کلیدی، لاکتوباسیلی‌های گرم مثبت و منفی گلبول‌های سفید صرفاً با رنگ‌آمیزی گرم ترشحات مقدور است و در رنگ‌آمیزی گرم، یک سنجش کمی از تعداد گلبول‌های سفید، سلولی کلیدی، لاکتوباسیل‌ها، گاردنرلا و موبیلونکوس در اختیار ما قرار می‌دهد که در ارزیابی شدت عفونت بسیار مؤثر است. تشخیص با روش مذکور دشوار، وقت‌گیر و پرهزینه نیست و با توجه به اهمیت و

منابع

1. Mahon CR, Lehman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 5th ed. New York: Elsevier Health Sciences; 2015.
2. Alizadeh M, Kolecka A, Boekhout T, Zarrinfar H, Ghanbari Nahzag MA, Badiie P, et al. Identification of Candida species isolated from vulvovaginitis using matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Curr Med Mycol* 2017; 3(4):21-5.
3. Khorsand I, Nehzag G, Ali M, Zarrinfar H, Fata A, Naseri A, et al. Frequency of variety of Candida species in women with Candida vaginitis referred to clinical centers of Mashhad, Iran. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2015; 18(168):15-22. (Persian).
4. Sobel JD. Bacterial vaginosis. *Ann Rev Med* 2000; 51(1):349-56.
5. Cherpes TL, Meyn LA, Krohn MA, Lurie JG, Hillier SL. Association between acquisition of herpes simplex virus type 2 in women and bacterial vaginosis. *Clin Infect Dis* 2003; 37(3):319-25.

6. Donders G. Diagnosis and management of bacterial vaginosis and other types of abnormal vaginal bacterial flora: a review. *Obstet Gynecol Surv* 2010; 65(7):462-73.
7. Powell AM, Nyirjesy P. New perspectives on the normal vagina and noninfectious causes of discharge. *Clin Obstet Gynecol* 2015; 58(3):453-63.
8. Hoffmann JN, You HM, Hedberg EC, Jordan JA, McClintock MK. Prevalence of bacterial vaginosis and *Candida* among postmenopausal women in the United States. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 2014; 69(Suppl 2):S205-14.
9. Mendling W, Martius J, Hoyme U. S1-guideline on bacterial vaginosis in gynecology and obstetrics: long version-AWMF guideline, registration no. 015/028, July 2013 Langfassung-AWMF-Register Nr. 015/028, Juli 2013. *Geburtshilfe Frauenheilkd* 2014; 74(1):51-4.
10. Berek JS, Novak E. *Berek and Novak's gynecology*. 15th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2012.
11. Hacer H, Bayrak R, Yenidunya S. To determine of the prevalence of Bacterial Vaginosis, *Candida* sp, mixed infections (Bacterial Vaginosis + *Candida* sp), *Trichomonas Vaginalis*, *Actinomyces* sp in Turkish women from Ankara, Turkey. *Ginekol Pol* 2012; 83(10):744-8.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Atlanta: Diseases Characterized by Vaginal Discharge; 2010.
13. Li XD, Tong F, Zhang XJ, Pan WJ, Chen ML, Wang CC, et al. Incidence and risk factors of bacterial vaginosis among pregnant women: a prospective study in Maanshan city, Anhui Province, China. *J Obstet Gynaecol Res* 2015; 41(8):1214-22.
14. Bafghi AF, Hoseizadeh A, Jouzsheri MN, Mohseni P. Frequency and etiology of vaginitis in women referred to health centers in Yazd city. *Int J Curr Microbiol App Sci* 2015; 4(8):561-71.
15. Bahram A, Hamid B, Zohre T. Prevalence of bacterial vaginosis and impact of genital hygiene practices in non-pregnant women in Zanjan, Iran. *Oman Med J* 2009; 24(4):288-93.
16. Ghiasi M, Fazaeli H, Kalhor N, Sheykh-Hasan M, Tabatabaei-Qomi R. Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women of Qom city. *Iran J Microbiol* 2014; 6(6):404-8.
17. Schwiertz A, Knauf M, Pohl U, Hackel B, Mueller H. Effectiveness and tolerability of a synbiotic vaginal suppository for the treatment of bacterial vaginosis. *Gynecol Obstet (Sunnyvale)* 2015; 5(275):2161-932.
18. Bacterial vaginosis 2015. UpToDate. Available at: URL: www.uptodate.com; 2015.
19. Verstraelen H, Verhelst R. Bacterial vaginosis: an update on diagnosis and treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2009; 7(9):1109-24.
20. Modak T, Arora P, Agnes C, Ray R, Goswami S, Ghosh P, et al. Diagnosis of bacterial vaginosis in cases of abnormal vaginal discharge: comparison of clinical and microbiological criteria. *J Infect Dev Ctries* 2010; 5(5):353-60.
21. 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.
22. Nugent RP, Krohn MA, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* 1991; 29(2):297-301.
23. Sobel JD, Barbieri RL, Barss VA. Bacterial vaginosis. UpToDate. Available at: URL: www.uptodate.com; 2011.
24. Donders GG, Guaschino S, Peters K, Tacchi R, Lauro V; VARIANT 1 Study Group. A multicenter, double-blind, randomized, placebo-controlled study of rifaximin for the treatment of bacterial vaginosis. *Int J Gynaecol Obstet* 2013; 120(2):131-6.
25. Damke SS, Fule RP, Tankhiwale NS. Utility of pH and whiff test for screening of abnormal vaginal discharge among women of reproductive age in rural area. *Int J Curr Res Rev* 2016; 8(10):33-6.
26. Turovskiy Y, Sutyak Noll K, Chikindas ML. The aetiology of bacterial vaginosis. *J Appl Microbiol* 2011; 110(5):1105-28.
27. Li XD, Tong F, Zhang XJ, Pan WJ, Chen ML, Wang CC, et al. Incidence and risk factors of bacterial vaginosis among pregnant women: a prospective study in Maanshan city, Anhui Province, China. *J Obstet Gynaecol Res* 2015; 41(8):1214-22.
28. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UM, Zhong X, et al. Temporal dynamics of the human vaginal microbiota. *Sci Transl Med* 2012; 4(132):132-52.
29. Rafiq S, Nauman N, Tariq A, Jalali S. Diagnosis of bacterial vaginosis in females with vaginal discharge using amsel's clinical criteria and nugent scoring. *J Rawalpindi Med Coll* 2015; 19(3):230-4.
30. Mohammadzadeh F, Dolatian M, Jorjani M, Alavi Majd H. Diagnostic value of Amsel's clinical criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *Glob J Health Sci* 2015; 7(3):8-14.
31. Hemalatha R, Ramalaxmi BA, Swetha GK, Rao DM, Charyulu S, Kumar D. Nutritional status, bacterial vaginosis and cervical colonization in women living in an urban slum in India. *Int J Nutr Metab* 2012; 4(5):77-82.
32. Taj Y, Nasir D, Kahkashan N, Anjum A. Sensitivity and specificity of rapid clinical diagnostic test for bacterial vaginosis and its analytical value. *J Dow Univ Health Sci* 2012; 6(3):91-4.
33. Shukla S. To study the role of bacterial vaginosis as a risk factor for preterm labour. *Int J Sci Res* 2016; 5(6):151-2.
34. Aldunate M, Tyssen D, Johnson A, Zakir T, Sonza S, Moench T, et al. Vaginal concentrations of lactic acid potentially inactivate HIV. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(9):2015-25.
35. Zhou R, Zeng Z. Composition and method for modulating and maintaining vaginal bacterial flora and vaginal acidity. *Patents* 2013; 19:549-86.

36. Ajayi VD, Sadauki HM, Randawa A. Bacterial vaginosis is a common vaginal infection among first-time antenatal clinic attendees: evidence from a tertiary health facility in North-West Nigeria. *J Prev Inf Cntrl* 2016; 2:2.
37. Mazzulli T, Simor A, Low DE. Reproducibility of interpretation of Gram-stained vaginal smears for the diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 1990; 28(7):1506-8.
38. Begum N, Muazzam N, Shamsuzzaman SM, Chowdhury A, Rashid A, Islam D. Diagnosis of bacterial vaginosis by acridine orange staining and its comparison to conventional methods and association of gardnerella vaginalis with bacterial vaginosis. *Bangladesh J Med Microbiol* 2010; 4(1):37-42.
39. Rangari AA, Singh P, Sharma VK. Comparison of the amsel's composite clinical criteria and nugent's criteria for diagnosis of bacterial vaginosis:-a step towards preventing mis-diagnosis. *J Adv Res Biol Sci* 2013; 5(1):37-44.
40. DeCherney A, Nathan L, Goodwin TM, Laufer N. *Current diagnosis and treatment obstetrics and gynecology*. 11th ed. New York: McGraw-Hill Medical; 2013.
41. Laghi L, Picone G, Cruciani F, Brigidi P, Calanni F, Donders G, et al. Rifaximin modulates the vaginal microbiome and metabolome in women affected by bacterial vaginosis. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(6):3411-20.
42. Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol* 2009; 2(1):28-37.
43. Tille P. *Bailey & Scott's diagnostic microbiology*. 13th ed. New York: Elsevier Health Sciences; 2013.
44. Mendling W, Caserini M, Palmieri R. O02. 1 a randomised, controlled study to assess the efficacy and safety of nifuratel vaginal tablets on bacterial vaginosis. *Sex Transm Infect* 2013; 89(Suppl 1):A28.
45. Lambert JA, John S, Sobel JD, Akins RA. Longitudinal analysis of vaginal microbiome dynamics in women with recurrent bacterial vaginosis: recognition of the conversion process. *PLoS One* 2013; 8(12):e82599.