

# استفاده از روش PCR برای تشخیص باکتریال واژینوزیس

## در زنان مشکوک به واژینوز در استان گیلان

اسماعیل روح‌بخش<sup>۱</sup>، دکتر علی مجتهدی<sup>۲</sup>، دکتر رمضانعلی خاوری‌نژاد<sup>۳</sup>،

دکتر نور امیرمظفری<sup>۴\*</sup>

۱. دانشجوی Ph.D. گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران.
۲. دانشیار گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران.
۳. استاد گروه بیولوژی، دانشکده علوم، دانشگاه علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران.
۴. استاد گروه میکروبی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۰۷

### خلاصه

**مقدمه:** واژینوز باکتریایی، شایع‌ترین عفونت دستگاه تناسلی تحتانی در زنان سنین باروری است. عامل ایجادکننده آن، اغلب باکتری گاردنرلا واژینالیس است که در همیاری با سایر باکتری‌های بی‌هوازی مانند اتوپوبیوم واژینه، موبیلنکوس کورتسی و مگاسفرا نوع یک، در ایجاد این عارضه دخالت دارند. مطالعه حاضر با هدف معیارهای سنجش مولکولی (PCR) در شناسایی و تشخیص واژینوز باکتریال در زنان انجام شد.

**روش کار:** این مطالعه توصیفی از شهریور سال ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ بر روی ۱۰۰ زن مراجعه کننده به درمانگاه زنان و زایمان بیمارستان الزهراء و مطب‌های خصوصی شهر رشت انجام شد. این افراد از لحاظ واژینوز باکتریال مورد معاینه و آزمایش قرار گرفتند. حضور گاردنرلا واژینالیس با استفاده از ۵ روش مختلف آزمایشگاهی بر اساس معیارهای آملسل و مولکولی شامل: تعیین مشخصات ظاهری، تعیین pH، آزمایش ویف و مشاهده Clue cell در اسمیر مستقیم و انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی بر روی DNA استخراج شده از نمونه‌های واژینال مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) و آزمون کای اسکوئر انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ زن مشکوک به عفونت واژن که مورد معاینه قرار گرفتند با استفاده از روش آملسل، در ۳۱ نفر (۳۱٪) عفونت واژینوزیس تأیید گردید. با استفاده از روش مولکولی PCR در این زنان مبتلا به واژینوزیس (روش آملسل)، باکتری گاردنرلا واژینوزیس در ۱۴ نفر (۴۵٪) و اتوپوبیوم واژینه در ۱۰ نفر (۳۲٪) تأیید گردید.

**نتیجه‌گیری:** با استفاده از روش PCR مشخص شد گاردنرلا واژینالیس و اتوپوبیوم واژینه در زنان ۱۸-۳۵ ساله مبتلا به واژینوز باکتریایی نقش بالایی دارد و بیان‌کننده نقش این دو باکتری در ایجاد بیماری واژینوز باکتریال است.

**کلمات کلیدی:** اتوپوبیوم واژینه، گاردنرلا واژینالیس، واژینوز باکتریال، PCR

\* نویسنده مسئول مکاتبات: دکتر نور امیرمظفری؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱-۸۶۷۰۱؛ پست الکترونیک:

amirmozafari@yahoo.com

## مقدمه

واژینوز باکتریایی یک عارضه جدی برای زنان به‌ویژه زنان باردار محسوب می‌شود و نوعی تغییر در میکروبیوتای واژن است که با کاهش باکتری‌های مولد پراکسید هیدروژن و رشد بیش از اندازه باکتری‌های بی‌هوازی همراه است و علت اصلی این عارضه به‌طور کلی در زنان شناخته نشده است. میکروب‌شناسی این بیماری پیچیده بوده و شامل میکروب‌هایی مانند گاردنرلا واژینالیس و اتوپوبیوم واژینه به‌همراه باکتری‌های بی‌هوازی دیگر مانند گونه‌های موبیلنکوس<sup>۱</sup>، پیتواستریپتوکوکوس و مایکوپلاسما هومنیس می‌باشد. بروز واژینیت در زنان باردار از ۵۰-۴۰٪ متفاوت بوده و شیوع آن در تهران در سال ۱۳۷۹ حدود ۲۳/۳٪ گزارش شده است. به‌طور طبیعی واژن دارای میزان بیشتری از باکتری‌های مفید و تعداد اندکی از باکتری‌های زیان‌آور می‌باشد (۳-۱). عودهای مکرر به‌علت تشکیل بیوفیلم گاردنرالواژینالیس در واژن مشاهده شده است (۸-۴). واژینوز باکتریال به‌طور شایع در زنانی مشاهده شده که از نظر جنسی فعال هستند، اما کاملاً مشخص نشده که این عفونت از طریق جنسی منتقل می‌شود، زیرا درمان شریک جنسی مذکر در پیشگیری از عود مؤثر نبوده است. علی‌رغم درمان‌های موجود، میزان بروز واژینوز باکتریال راجعه در طی ۷ روز ۳۰-۱۵٪ و ۱۲-۳ ماه پس از درمان، ۱۰۰-۴۱٪ گزارش شده است.

معیارهای شناسایی واژینوز باکتریال بر اساس ناگنت<sup>۲</sup>، تست‌های تشخیصی آمسل<sup>۲</sup> و جستجوی مولکولی به‌خصوص باکتری‌هایی مانند گاردنرلا واژینالیس و اتوپوبیوم واژینه می‌باشد. افزایش ترشحات واژن همراه با بویی ناخوشایند، نشانه این بیماری است. این ترشحات در برخی زنان، بویی شبیه به بوی ماهی گندیده پیدا می‌کند (۷-۴). ناگنت و همکاران (۱۹۹۱) بر اساس روش امتیازدهی در اسمیرهای تهیه شده از واژن، از روش رنگ‌آمیزی گرم برای شناسایی باکتریال واژینوزیس استفاده نمودند. کشت، کمک خیلی زیادی به تشخیص واژینوز باکتریایی نمی‌کند، زیرا در افراد سالم

نیز ممکن است بی‌هوازی‌هایی مانند گاردنرلا واژینالیس و اتوپوبیوم واژینه از ترشحات واژن به‌دست آید. هرچند بررسی اسمیرها با روش ناگنت، وقت‌گیر بوده و نیاز به پرسنل مجرب دارد (۷، ۸)، اما مشاهده لام توسط افراد مختلف، نتایج تکرارپذیر داشته و امتیازاتی که به یک لام داده می‌شود، به هم نزدیک است، لذا امروزه روش ناگنت به‌عنوان روش استاندارد طلایی تشخیص باکتریال واژینوزیس به‌کار می‌رود (تقسیم‌بندی ناگنت) (۴).

همچنین باید توجه داشت که بیشتر روش‌های کنونی تشخیص باکتریال واژینوزیس نیاز به تجربه در کار با میکروسکوپ و همچنین فرد مجرب در تعیین امتیازدهی ناگنت دارند. باید توجه داشت که بسیاری از زنان، به مراکز درمانی که توانایی و وسایل مناسب برای استفاده از این تست‌های تشخیصی را داشته باشند، دسترسی ندارند (۱۱). در کشور ما روش‌های متعارف تشخیص باکتری‌ها بر پایه تشخیص بیوشیمیایی هستند که محدودیت‌های فراوانی دارند. این محدودیت‌ها شامل ضرورت انجام چندین مرحله آزمایش، نیاز به وسایل خاص و مواد گران‌قیمت، نیاز به مهارت و دقت بالای فرد آزمایش‌کننده و زمان طولانی لازم برای انجام برخی آزمایشات تشخیصی و در نهایت ابهام‌آمیز بودن پاسخ برخی آزمایش‌ها می‌باشند (۱۶-۱۲).

روش‌های مولکولار ژنتیکی که برای تشخیص عوامل واژینوز مورد استفاده قرار می‌گیرند، متعدد هستند (۲۵-۲۰). در این راستا، مطالعه حاضر با هدف تشخیص شیوع باکتریال واژینوزیس به روش‌های مولکولی و آمسل به‌خصوص باکتری اتوپوبیوم واژینه و گاردنرلا واژینالیس در زنان باردار و غیرباردار دارای علائم، در سنین مختلف مراجعه‌کننده به کلینیک تخصصی زنان و زایمان در رشت انجام شد.

## روش کار

این مطالعه توصیفی به‌منظور مقایسه روش PCR با آمسل متد برای تشخیص باکتریال واژینوزیس از شهریور ۱۳۹۵ تا مهر ۱۳۹۶ بر روی ۱۰۰ زن باردار و غیرباردار مراجعه‌کننده به درمانگاه زنان و زایمان بیمارستان الزهراء و مطب خصوصی پژوهشگر اصلی طرح در شهر

<sup>1</sup> mobiluncus

<sup>2</sup> Nugent

واژینال در تشخیص واژینوز باکتریال متفاوت بوده و از ۹۷-۵۹/۵٪ متغیر است و همین امر موجب بروز نتایج مثبت کاذب در تشخیص واژینوز باکتریال و درمان‌های غلط و بی‌مورد در این زمینه می‌شود (۱۷، ۱۸).

#### استخراج DNA:

جهت استخراج مستقیم DNA از نمونه‌های بالینی از کیت تخلیص شرکت یکتا تجهیز تحت عنوان ( YTA Genomic Extraction Mini Kit for Blood/Cultured Cell# YT9040) و کیت تشخیص توپاز ژن (Top General Genomic) استفاده شد. همچنین به منظور تعیین غلظت و خلوص DNA استخراج شده، میزان جذب نمونه در نسبت ۲۶۰ به ۲۸۰ اندازه‌گیری و تعیین شد که در محدوده  $1 \pm 1/8$  بوده و قابل قبول می‌باشد. همچنین توالی پرایمرهای مربوط به دو باکتری گاردنرلا واژینالیس و اتوپوبیوم واژینه در جدول ۱ ارائه شده است.

رشت انجام شد. حجم نمونه با استفاده از فرمول طرح عاملی کامل و با در نظر گرفتن درجه اطمینان ۰/۹۵،  $p=0/05$  و حداکثر خطای ۵٪، حداقل ۷۳ نفر برآورد گردید.

در این مطالعه به جهت اطمینان بیشتر، تمامی معاینات و نمونه‌برداری توسط یک نفر انجام گردید. توضیحات بیمار بر اساس وجود ترشحات، مقدمه انجام آزمایشات بود و نمونه‌ها با استفاده از اسپکولوم یک‌بار مصرف از ناحیه سرویکس زنان برای آزمایشات پاراکلینیکی برداشت گردید و دو نمونه هم به وسیله سواپ پنبه‌ای استریل جهت انجام تست‌های وایف، Clue cell و تعیین pH و یک نمونه سواپ هم برای انجام عمل PCR به همراه محلول PBS برداشت گردید. روش تشخیص واژینت باکتریایی وجود سه معیار از چهار معیار (روش آمل) می‌باشد. معیارهای خروج از مطالعه در بیماران شامل: بیماری سیستمیک، سابقه هرگونه مصرف دارو از جمله آنتی‌بیوتیک‌ها و نیز ترشحات واضح تریکومونایی یا کاندیدایی بود. میزان حساسیت ترشحات

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در شناسایی اتوپوبیوم واژینه و گاردنرلا واژینالیس

نام باکتری	نوع پرایمر	سکانس	دمای آنلینگ	سایز ژن (bp)	رفرنس
گاردنرلا واژینالیس	Forward Reverse	TTACTGGTGTATCACTGTAA CCGTCACAGGCTGAACAGT	۵۵	۳۳۰	۲۵
اتوپوبیوم واژینه	Forward Reverse	TAGGTCAGGAGTTAAATCTG TCATGGCCAGAAAGACCGCC	۶۰	۱۵۵	۲۵

#### نحوه عمل PCR:

پس از استخراج DNA ژنومی، واکنش زنجیره‌ای پلیمر از PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. هر واکنش شامل ۴ میکرولیتر از DNA استخراج شده به همراه ۲ میکرولیتر از

آغازگرهای SrRNA ۱۶ که توالی‌های آنها در جدول ۱ ذکر شده است، همراه بود که پس از انتقال به ویال‌های مستر میکس خریداری شده، با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسیده است. مراحل انجام واکنش در جدول ۲ و ۳ نشان داده شده است.

جدول ۲- فرآیند PCR برای باکتری اتوپوبیوم واژینه

مراحل	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل
۱- واسرشت اولیه (Denaturation Initial)	۹۵	۴ دقیقه	۳۰ سیکل
۲- واسرشت (Denaturation)	۹۵	۱ دقیقه	
۳- اتصال پرایمرها (Annealing)	۵۵	۱ دقیقه	
۴- سنتز (Extension)	۷۲	۱ دقیقه	
۵- سنتز نهایی (Final Extension)	۷۲	۷ دقیقه	

جدول ۳- فرآیند PCR برای باکتری اتوپویوم واژینا

مراحل	دما (درجه سانتی گراد)	زمان	تعداد سیکل
۱- واسرشت اولیه (Denaturation Initial)	۹۴	۵ دقیقه	
۲- واسرشت (Denaturation)	۹۴	۴۵ ثانیه	۲۵ سیکل
۳- اتصال پرایمرها (Annealing)	۶۰	۶۰ ثانیه	
۴- سنتز (Extension)	۷۲	۴۵ ثانیه	
۵- سنتز نهایی (Final Extension)	۷۲	۷۲ ثانیه	

اسکوئر انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

بر اساس داده‌های دموگرافیک افراد مراجعه کننده به کلینیک و مطابق جدول ۴، در زنان مطلقه‌ای که به دلیل مشکلات واژینوزیس مورد معاینه و آزمایشات قرار گرفتند نسبت به سایر زنان متأهل و مجرد، درصد بیشتری از افراد به واژینوزیس مبتلا بودند (۳۸/۵٪) و این درصد برای افراد متأهل و مجرد به ترتیب ۲۷٪ و ۳۸٪ بود.

برای مشاهده نتیجه تکثیر هر یک از ژن‌های مورد مطالعه، الکتروفورز بر روی ژل اگارز ۱/۲٪ در شرایط ۱۵۰ ولت در بافر TBE تجاری انجام شد (۱۹).

برای تعیین توالی محصول PCR پس از مشاهده قطعات تکثیر یافته به ترتیب در محدوده ۱۵۵ و ۳۳۰ جفت باز برای اتوپویوم واژینه و گاردنرلا واژینالیس روی دستگاه الکتروفورز، برای تأیید نهایی قطعات تکثیر شده با PCR به همراه پرایمرهای فوروارد و رورس مربوطه برای شرکت توپاز ژن (نماینده‌گی شرکت میکروسنس سوییس) ارسال گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۱) و آزمون کای

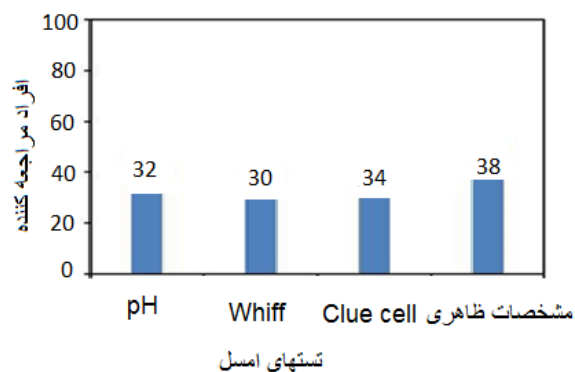
جدول ۴- مشخصات دموگرافیک زنان مراجعه کننده

متغیرها	گروه	افراد B.V مثبت (۳۹ نفر)		افراد B.V منفی (۶۹ نفر)	
		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	معنی داری*
سطح زندگی	مجرد	۸ (۲۷/۳)	۱۳ (۱۹)	۰/۳۱	
	متأهل	۱۸ (۵۹)	۴۸ (۷۰)		
	مطلقه	۵ (۱۳/۷)	۸ (۱۱)		
وضعیت شغلی	کارمند	۱۳ (۴۱)	۲۳ (۳۴)	۰/۵۲	
	خانه‌دار	۱۴ (۴۵)	۳۷ (۵۳)		
	سایر شغل‌ها	۴ (۱۴)	۹ (۱۳)		
میزان سواد	بی‌سواد	-	۱ (۱/۴)	۰/۶۳	
	زیردیپلم و دیپلم	۲۱ (۶۷/۷)	۵۲ (۷۵/۳)		
	بالای دیپلم	۱۰ (۲۳/۳)	۱۶ (۲۳/۳)		

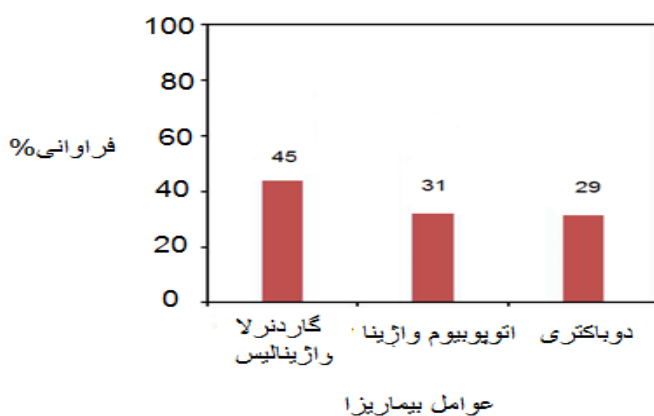
\*آزمون کای دو

میانگین سنی افراد مراجعه کننده  $34/84 \pm 10/04$  و میزان pH در محدوده ۴/۵ تا ۵/۵ بوده و در تست Whiff بوی ماهی گندیده به‌وضوح قابل مشاهده بود که نتایج آزمایشات مربوط به آمسل و PCR به ترتیب در نمودار ۱ و ۲ ارائه شده است.

از میان ۱۰۰ زن مراجعه کننده به کلینیک تخصصی زنان در رشت با استفاده از تست آمسل واژینوز باکتریایی در ۳۱ مورد (۳۱٪) مثبت بود و با استفاده از PCR، ۱۴ مورد (۴۵٪) گاردنرلا واژینالیس مثبت گزارش شد و برای اتوپویوم واژینه، ۱۰ مورد (۳۲٪) مثبت بود.



نمودار ۱- تست‌های آمسل برای ۱۰۰ نفر از زنان مشکوک به واژینوز باکتریال

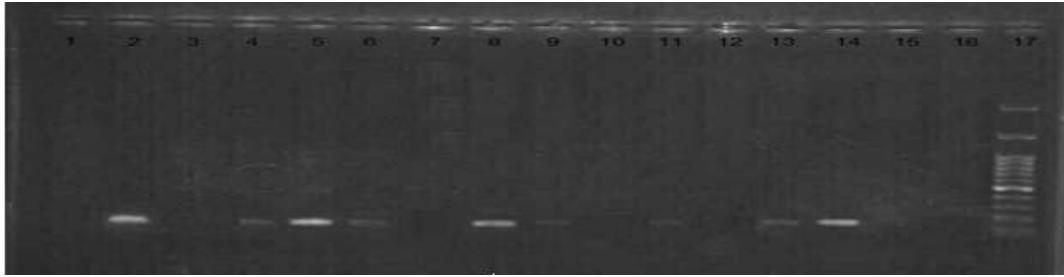


نمودار ۲- فراوانی باکتری گاردنرلا واژینالیس و اتوپیبیوم واژینه در زنان مبتلا به واژینوز باکتریال به روش PCR

پس از انجام مراحل PCR، الکتروفورز و مشاهده باند در نواحی ۳۳۰ و ۱۵۵ برای دو باکتری مذکور، نمونه‌های الکتروفورز دو باکتری در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است.



شکل ۱- عکس ژل آگاروز الکتروفورز شده نمونه‌های واژینال گاردنرلا واژینالیس. لاین ۱ نمونه کنترل مثبت (330 bp)، لاین ۲ کنترل منفی، لاین ۳، ۷، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶ نمونه‌های مثبت از نظر گاردنرلا واژینالیس به دست آمده از ژنوم استخراج شده مستقیم از نمونه‌های واژینال در بافر فسفات (PBS). لاین ۱۷ استاندارد وزن مولکولی DNA (1 kb Ladder).



شکل ۲- عکس ژل آگاروز الکتروفورز شده نمونه‌های واژینال. لاین ۱ نمونه کنترل منفی (155 bp)، لاین ۲ کنترل مثبت، لاین ۵، ۸، ۱۴ نمونه‌های مثبت از نظر اتوپوپیوم واژینا به دست آمده از ژنوم استخراج شده مستقیم از نمونه‌های واژینال در بافر فسفات (PBS). لاین ۱۷ استاندارد وزن مولکولی DNA (1 kb Ladder).

### بحث

شیوع واژینوز باکتریال در بارداری بین ۳۰-۱۰٪ برآورد شده است که از این تعداد، حدود ۷۵٪ موارد بدون علائم بالینی می‌باشند (۱۵). در مطالعه حاضر از مجموع ۱۰۰ نفر وارد شده به مطالعه، ۳۱ نفر مبتلا به واژینوز باکتریال بودند که میزان شیوع واژینوز باکتریال ۳۱٪ گزارش شد که با نتایج مطالعه توانا و همکاران (۲۰۱۰) که شیوع واژینوز باکتریال را ۲۳٪ گزارش کردند، مشابه بود (۱۶). در مطالعه اسگبو و همکاران (۲۰۱۸) از ۲۳۰ نمونه سواب واژینال برداشت شده، شیوع باکتریال واژینوزیس معادل ۲۳/۹٪ گزارش شد که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشت (۲۳).

در مطالعه حاضر، شیوع گاردنرلا واژینالیس در زنان با تشخیص واژینوز باکتریایی ۴۵٪ و شیوع اتوپوپیوم واژینا در زنان با تشخیص واژینوز باکتریایی ۳۱٪ بود و همراهی این دو باکتری با هم ۲۹٪ بود که در محدوده درصد‌های گزارش شده مقالات فوق می‌باشد. بر اساس نتایج مطالعه بردشا و همکاران (۲۰۰۶)، اتوپوپیوم واژینا در ایجاد واژینوز باکتریایی نسبت به گاردنرلا واژینالیس اختصاصیت بیشتری دارد و در مطالعه بردشا، شیوع گاردنرلا واژینالیس در زنان دارای واژینوز باکتریایی ۱۰۰٪ گزارش شد (۲۴). در مطالعه مارزو و همکاران (۲۰۰۶) از ۱۰۰ نمونه سواب واژینال، در ۴۱ نمونه (۴۸٪) گاردنرلا واژینالیس مثبت بود که با مطالعه حاضر که ۴۵٪ گاردنرلا واژینالیس یافت شد، تقریباً همخوانی داشت (۲۱).

همچنین در مطالعه منارد و همکاران (۲۰۱۲)، ۹۸/۱٪ گاردنرلا واژینالیس از نمونه‌های واژینوز باکتریایی جدا

شد و ۹۸/۲٪ از نمونه‌ها برای اتوپوپیوم واژینا مثبت بودند (۲۴).

در مطالعه هاردی و همکاران (۲۰۱۵) در ارتباط با تشکیل بیوفیلم واژینوز باکتریایی در واژن، ۶۰٪ اتوپوپیوم واژینا و ۸۰٪ گاردنرلا واژینالیس در نمونه‌های جدا شده از بیوفیلم زنان مثبت شد (۲۲). در مطالعه مفتون و همکاران (۲۰۱۶) شیوع باکتریال واژینوزیس در تهران ۳۷٪ و میزان اتوپوپیوم واژینا در زنان دارای واژینوزیس ۶۵٪ گزارش شد که بیشتر از مطالعه حاضر بود (۲۶).

همانگونه که در مطالب فوق اشاره شد، در نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف که در ارتباط با واژینوز باکتریایی گاردنرلا واژینالیس و اتوپوپیوم واژینا صورت گرفت، گزارشات متناقضی وجود دارد که علت این تناقضات می‌تواند به واسطه فاکتورها و عواملی مانند نحوه انتخاب بیماران، کم بودن نمونه‌ها، استفاده از روش‌های تشخیصی متفاوت، تفاوت در توزیع جغرافیایی جمعیت‌ها، حضور فاکتورهای مداخله‌ای از قبیل فاکتورهای اجتماعی، اقتصادی، فعالیت‌های جنسی و ... باشد.

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق، درصد نسبتاً بالایی از زنان دارای واژینوز باکتریایی به این دو باکتری آلوده‌اند.

علی‌رغم اینکه روش PCR، روش حساس و دقیقی می‌باشد، در مقایسه با روش آمس، تعداد موارد مثبت آن با اندکی تفاوت نسبت به تست آمس، کمتر گزارش شده است. بنابراین در بررسی آزمایشگاهی برای درمان بیماران مبتلا به واژینوزیس، با توجه به امکانات نسبتاً محدود در مراکز بالینی و آزمایشگاهی در سطح کشور، فعلاً انجام روش آمس نسبت به PCR ارجحیت داشته

باکتری به منظور درمان صحیح بیماران، جلوگیری از عوارض جانبی ابتلاء به این باکتری‌ها کمک شایانی به پزشکان متخصص به عمل خواهد آورد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر زهرا روح‌بخش که ما را در انجام این مطالعه یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

و این روش می‌تواند برای تشخیص و درمان این بیماری برای متخصصین زنان استفاده شود.

### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، ممکن است دیگر گونه‌های میکروبی عامل واژینوز با گزارش کمتر وجود داشته باشند که مستلزم تشخیص دقیق می‌باشد. همچنین نکته حائز اهمیت، افتراق *آتوپوبیوم* واژینا عامل غیرشایع واژینوزیس از *گاردنرلا واژینالیس* به روش مولکولی می‌باشد که این شناسایی دقیق نوع

### منابع

1. Parhizkar A. Prevalence of symptomatic vaginal infections and its relation with contraceptive methods. The Collective Congress of Nursing & Midwifery. Kermanshah University of Medical Science, Kermanshah, Iran; 2003. P. 3-4.
2. Rouse AG, Gil KM, Davis K. Diagnosis of bacterial vaginosis in the pregnant patient in an acute care setting. Arch Gynecol Obstet 2009; 279(4):545-9.
3. Polatti F. Bacterial vaginosis, Atopobium vaginae and nifuratel. Curr Clin Pharmacol 2012; 7(1):36-40.
4. 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.
5. Bukusi EA, Cohen CR, Meier AS, Waiyaki PG, Nguti R, Njeri JN, et al. Bacterial vaginosis: risk factors among Kenyan women and their male partners. Sex Transm Dis 2006; 33(6):361-7.
6. Discacciati MG, Simoes JA, Amaral RG, Brolazo E, Rabelo-Santos SH, Westin MC, et al. Presence of 20% or more clue cells: an accurate criterion for the diagnosis of bacterial vaginosis in Papanicolaou cervical smears. Diagn Cytopathol 2006; 34(4):272-6.
7. Aminzadeh Z, Fadaeian A. Reactive arthritis induced by bacterial vaginosis: prevention with an effective treatment. Int J Prev Med 2013; 4(7):841-4.
8. Rodriguez Jovita M, Collins MD, Sjöden B, Falsen E. Characterization of a novel Atopobium isolate from the human vagina: description of Atopobium vaginae sp. nov. Int J Syst Bacteriol 1999; 49(4):1573-6.
9. Baisley K, Changalucha J, Weiss HA, Mugeye K, Everett D, Hambleton I, et al. Bacterial vaginosis in female facility workers in north-western Tanzania: prevalence and risk factors. Sexual Transm Infect 2009; 85(5):370-5.
10. Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, et al. Bergey's manual of systematic bacteriology: Volume 3: The Firmicutes. Berlin, Germany: Springer Science & Business Media; 2011.
11. Chan JF, Lau SK, Curreem SO, To KK, Leung SS, Cheng VC, et al. First report of spontaneous intrapartum Atopobium vaginae bacteremia. J Clin Microbiol 2012; 50(7):2525-8.
12. Ferris MJ, Maszta A, Martin DH. Use of species-directed 16S rRNA gene PCR primers for detection of Atopobium vaginae in patients with bacterial vaginosis. J Clin Microbiol 2004; 42(12):5892-4.
13. Landers DV, Wiesenfeld HC, Heine RP, Krohn MA, Hillier SL. Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. Am J Obstet Gynecol 2004; 190(4):1004-10.
14. Smart S, Singal A, Mindel A. Social and sexual risk factors for bacterial vaginosis. Sex Transm Infect 2004; 80(1):58-62.
15. Nelson A, De Soya A, Perry JD, Sutcliffe IC, Cummings SP. Polymicrobial challenges to Koch's postulates: ecological lessons from the bacterial vaginosis and cystic fibrosis microbiomes. Innate Immun 2012; 18(5):774-83.
16. Tavana Z, Zolghadri J, Hadaiegh MJ, Pourast T. The effect of treatment of bacterial vaginosis on pregnancy outcome. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2010; 13(5):1-7. (Persian).
17. Kazamzadeh M, Kashanian M, Sedaghat M. Evaluation and comparison of the pathogenic agents and risk factors of bacterial vaginosis. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2010; 13(4):9-13. (Persian).
18. Yaghmaei M, Arbabi Kalati F, Jahantigh M, Roudbari M, Soltani B. Accuracy of amsel's criteria in the diagnosis of bacterial vaginosis (preliminary report). Iran J Obstet Gynecol Infertil 2009; 12(3):17-22. (Persian).

19. Tafazoli M, Saki N, Mazloum SR, Rakhshandeh H, Shirazi M. Relationship between personal and medical factors with bacterial vaginosis recurrence in women referred to gynecologic clinics Tamin Ejtemaie, Mashhad, 2015. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2016; 19(33):7-14. (Persian).
20. Jafarnejhad F, Kiyani Mask M, Rakhshandeh H, Taghi Shakeri M. Comparison of the percentage of medical success for Phytovagex vaginal suppository and Metronidazole oral tablet in women with bacterial vaginosis. *Iran J Obstet Gynecol Infertil* 2017; 20(3):29-39. (Persian).
21. Marrazzo JM, Wiesenfeld HC, Murray PJ, Busse B, Meyn L, Krohn M, et al. Risk factors for cervicitis among women with bacterial vaginosis. *J Infect Dis* 2006; 193(5):617-24.
22. Hardy L, Jespers V, Dahchour N, Mwambarangwe L, Musengamana V, Vaneechoutte M, et al. Unravelling the bacterial vaginosis-associated biofilm: a multiplex *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* fluorescence in situ hybridization assay using peptide nucleic acid probes. *PLoS One* 2015; 10(8):e0136658.
23. Asiegbu OG, Asiegbu UV, Onwe B, Iwe AB. Prevalence of bacterial vaginosis among antenatal patients at federal teaching hospital Abakaliki, South East Nigeria. *Open J Obstet Gynecol* 2018; 8(01):75.
24. MENARD, J.-P., et al. Self-collected vaginal swabs for the quantitative real-time polymerase chain reaction assay of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* and the diagnosis of bacterial vaginosis. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 2012, 31.4: 513-518 .
25. Malaguti N, Bahls LD, Uchimura NS, Gimenes F, Consolaro ME. Sensitive detection of thirteen bacterial vaginosis-associated agents using multiplex polymerase chain reaction. *Biomed Res Int* 2015; 2015:645853.
26. Maftoon H, et al. Prevalence *Atopobium vagina* in vaginal samples of symptomatic non-pregnant women. *Koomesh*, 2016, 18.1.

27.