توزیع فراوانی مایکوپلاسماهای تناسلی در عفونتهای واژینال در شهر گرگان

دکتر سپیده بخشنده نصرت[1*]، دکتر کیومرث قاضی‌سعیدی[2]، صدیقه لیوانی[3]، تینا دادگر[3]، مسعود بازوری[3]، هانیه باقری[3]، ناصر بهنام‌پور[4]، دکتر عزت‌الله قائمی[5]

۱. استادیار گروه زنان، مرکز تحقیقات عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۲. استاد گروه میکروب‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.
۳. کارشناس ارشد، گروه میکروب‌شناسی، 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 میکروب شناسی، مرکز تحقیقات عفونی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان، گلستان، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۲/۱۹ **تاریخ پذیرش مقاله:** ۱۳۸۹/۷/۲۲

خلاصه

مقدمه: مایکوپلاسما هومینیس و اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم از باکتریهای فلور واژن هستند که در برخی از مطالعات بر نقش بیماریزایی آنها در ایجاد عفونتهای واژینال تأکید می‌شود. 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.

روش‌کار: این مطالعه با بررسی ترشحات واژینال ۲۳۵ زن که به‌علت عفونت واژینال در سال ۱۳۸۶ به بیمارستان دزیانی (مرکزمرجع زنان) شهر گرگان مراجعه کرده بودند، انجام گرفت. تشخیص نوع عفونت بر مبنای روش آمسل، مشاهدات بالینی و مطالعه لام میکروسکوپی انجام شد. تشخیص مایکوپلاسماها با کشت در محیط PPLO براث و آگار و واکنش زنجیره پلیمراز، با پرایمرهای اختصاصی 16S rDNA گونه مایکوپلاسما هومینیس و پرایمر ژن اوره‌آز اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم صورت گرفت. نتایج در نرم افزار SPSS (نسخه ۱۵) ثبت شده و با آزمونهای کای‌دو و تی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $p<0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در ترشحات ۳۰ نفر (۱۲/۸٪) از بیماران مورد بررسی مایکوپلاسما شناسایی شد. فراوانی آن در افراد مبتلا به واژینوزباکتریایی ۱۴/۳٪ و در افراد مبتلا به واژینیت ۱۱/۹٪ بود. در ۱۸ مورد (۷/۷٪) مایکوپلاسما هومینیس و در ۱۸ مورد (۷/۷٪) اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم شناسایی شد که شش نفر (۲۰٪) از آنها به طور همزمان با مایکوپلاسما هومینیس و *U. اوره‌آلیتیکوم* آلوده بودند. بیش از ۸۳٪ افرادی‌که در آنها مایکوپلاسما شناسایی شد، pH ترشحات آنها از ۴/۵ بالاتر بود، همچنین میانگین سنی افراد آلوده به مایکوپلاسماها به‌طور معنی‌داری 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 مایکوپلاسما، به ترتیب ۳/۲ در مقابل ۶/۵ و ۷/۴ در مقابل ۴۲/۱ مورد بوده است که این تفاوتها از نظر آماری معنی‌دار بود ($p<0/05$).

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که فراوانی مایکوپلاسماهای ژنیتال در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شهر گرگان کمتر از حد انتظار است، ولی این مسئله به‌طور 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 میکوپلاسما در ترشحات واژینال را افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: مایکوپلاسما هومینیس؛ عفونت واژینال؛ اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم

* **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 میکروارگانیزمهای 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، تریکومونیاز 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). تریکومونیاز توسط یک انگل تک‌یاخته به نام *تریکوموناس واژینالیس*[1] 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[2]، بویژه انواع مولد آب اکسیژنه کاهش یافته و بی‌هوازیهایی مانند موبیلانکوس[3] و پره وتلا[4] و باکترویید[5] 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 اندومتریت 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، میکوپلاسماها افزایش می‌یابند و در بیماریزایی آن دخالت دارند. مایکوپلاسماها شامل گروه بزرگی از میکروارگانیزمها هستند که بیشتر ساکن غشاهای مخاطی دستگاه تنفسی و تناسلی- ادراری هستند. سه گونه از این باکتریها به نامهای *مایکوپلاسما هومینیس*[6]، *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم*[7] و *مایکوپلاسما ژنیتالیوم*[8] از سطوح مخاطی دستگاه تناسلی-ادراری جدا شده‌اند. میکوپلاسماها در عفونتهای ادراری–تناسلی و نیز ایجاد عوارض در نوزادان مسئول شناخته می‌شوند. عفونت با *اوره‌آپلاسما اوره‌آلیتیکوم* در دوران بارداری را با کوریوآمنیوتیت و زایمان پیش از موعد و نیز عقیمی مرتبط می‌دانند، اگر چه هنوز در مورد نقش مایکوپلاسماها در سبب‌زایی عفونتهای تناسلی-ادراری، اختلاف نظر وجود دارد (۷). حضور مایکوپلاسماهای تناسلی در تعداد زیادی از زنان سالم، نقش بیماریزای این ارگانیزمها 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 مایکوپلاسماهای 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] Bacteroide
[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[1] استفاده شده و بقیه سوابها در لوله آزمایش حاوی ۱ سی‌سی سرم فیزیولوژی قرار داده شده به آزمایشگاه میکروب‌شناسی 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[2] در فریزر ۷۰- درجه نگهداری شد. لام مرطوب با عدسی ۱۰و۴۰ میکروسکوپ نوری برای مشاهده تریکومونـاس واژینالیس، سلول‌های راهنما[3]، سلول‌های میزبانی شامل شامل اپیتلیوم، گلبول سفید و قرمز و مشاهده سلول‌های مخمری و میسلیوم کاذب و حقیقی (گونه‌های کاندیدا) بررسی می‌شد. واژینوز باکتریایی نیز با توجه به معیار امسل[4] 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 (هیتر) 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 اختصاصی16S rRNA و ژن اوره‌آز به شرحی که در جدول ۱ آمده است، استفاده شد. برای هر کدام از جفت پرایمرها، مخلوط اصلی[5] PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر به صورت زیر تهیه شد:

۱۰ میکرولیتر از بافر PCR ده غلظتی (10X)، ۲۰۰ میکرومول از هر dNTP[6]، ۲/۵ میلی‌مول منیزیوم کلراید، ۱/۲۵ واحد از آنزیم تگ پلیمراز[7]، ۲۰ میکرومول از پرایمر رفت[8] و ۲۰ پیکو مول از پرایمر برگشت[9] 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 ۹۴درجه‌ای 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 براث، حاوی آرژینین و دیگری در PPLO براث، 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*

[1] Whiff Test
[2] Polymerase Chain Reaction
[3] Clue cells
[4] Amsel
[5] Master mix
[6] Deoxynucleotides
[7] Taq polymerase
[8] Forward
[9] Reverse

ا. اورهآلیتیکوم به ترتیب از رنگ آمیزی دایینس و کلرید منگنز-اوره استفاده شد (۱۰). داده‌های بدست آمده در نرم افزار SPSS (نسخه ۱۵) وارد و ثبت شد. نتایج و یافته‌ها با آزمون کای دو و تی، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p < ۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

جدول ۱-توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسائی میکوپلاسماهای ژنیتال 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. homonis
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

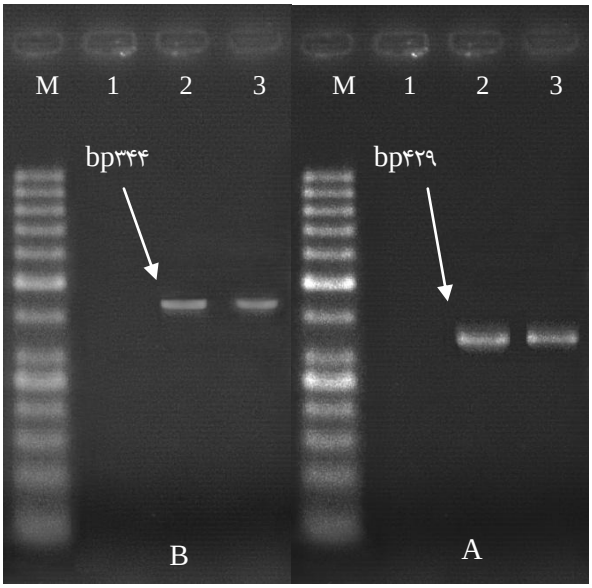
نتایج

این مطالعه بر روی ترشحات واژینال ۲۳۵ زن انجام شد که حداقل و حداکثر سن آنها ۱۷ و ۵۱ سال و میانگین سنشان ۷±۳۱/۳۲ بود. از این تعداد، تنها ۵ نفر مجرد (۲٪) و بقیه متأهل بودند. افراد به ۴ گروه سنی مختلف تقسیم شده به‌طوری‌که طبق آن، بیشتر مراجعین (۴۰/۸٪) در گروه سنی ۳۹-۳۰ 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 مایکوپلاسماها در ترشحات ۳۰ نفر (۱۲/۸٪) از کل بیماران مورد بررسی تشخیص داده شد که فراوانی آن در افراد مبتلا به واژینوزباکتریایی، 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 مایکوپلاسماها در این گروهها تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد ($p>۰/۰۵$) (جدول۲).

از۳۰ بیماری که در نمونه آنها مایکوپلاسما شناسایی شد، ۱۳ مورد در کشت و بقیه در PCR مثبت بودند. در ۱۸ مورد (۷/۷٪) *م. هومینیس* و در ۱۸ مورد *ا. اورهآلیتیکوم* شناسایی شد که شش نفر از آنها به طور همزمان با *م. هومینیس* و *ا. اورهآلیتیکوم* آلوده بودند.

توزیع فراوانی *م. هومینیس* و *ا. اورهآلیتیکوم* در موارد واژینوز و واژینیت در جدول ۲ آمده است. نتایج بیانگر آن است که فراوانی *ا. اورهآلیتیکوم* در موارد واژینیت کاندیدایی و فراوانی *م. هومینیس* در موارد واژینوز باکتریایی بیش از سایر موارد است. بیش از ۸۳٪ افرادی‌که در آنها مایکوپلاسما شناسایی شد، pH ترشحات از ۴/۵ بالاتر بود که این رقم اختلاف معنی‌داری با افراد غیر آلوده به مایکوپلاسما داشت ($p=۰/۰۳۵$). این تفاوت در افرادی‌که آلوده به *م. هومینیس* بودند، به‌طور معنی‌داری بالاتر از افراد آلوده به *ا. اورهآلیتیکوم* بود ($p<۰,۰۵$) (جدول۳).



شکل۱- الکتروفورز نمونه‌های مایکوپلاسما

A: الکتروفورز ژن urease bp ۴۲۹ مربوط به گونه *اوره‌آ پلاسما* (M: مارکر، 1: کنترل منفی، 2: کنترل مثبت، 3: نمونه بیمار)

B: الکتروفورز ژن 16s rRNA bp ۳۴۴ مربوط به گونه *مایکوپلاسما هومینیس* (M: مارکر، 1: کنترل منفی، 2: کنترل مثبت، 3: نمونه بیمار)

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

باکتری جدا شده / نوع عفونت	مایکوپلاسماها تعداد (درصد)	*م. هومینیس* تعداد (درصد)	*ا. اوره‌آلیتیکوم* تعداد (درصد)
واژیینت –تریکومونایی	۲[a] (۱۱/۱٪)	۲ (۱۱/۱٪)	۱ (۵/۶٪)
– کاندیدایی	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 *ا. اوره‌آلیتیکوم*.

(b): در سه نفر آلودگی همزمان با *م. هومینیس* و ا. اوره‌آلیتیکوم.

(c): در دو نفر آلودگی همزمان با *م. هومینیس* و *ا. اوره‌آلیتیکوم*.

(d): در شش نفر آلودگی همزمان با م. هومینیس و *ا. اوره‌آلیتیکوم*.

میانگین سنی در افراد آلوده به مایکوپلاسماها 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=۰/۰۱۶).

آنالیز یافته‌های آزمایشگاهی نشان داد که در افراد آلوده به مایکوپلاسما، میانگین شمارش گلبول سفید از افراد غیرآلوده کمتر و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (p=۰/۰۰۱) ولی میانگین درصد تعداد سلول راهنما (در هر میدان دید X۱۰۰) در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت ولی سلول راهنما در افراد آلوده به میکوپلاسما بیشتر بود.

میانگین تعداد لاکتوباسیل در کسانیکه آلوده به مایکوپلاسماهای تناسلی بودند به‌طور معنی‌داری (p<۰/۰۰۱)کمتر از افرادی بود که فاقد آلودگی بودند (۷/۴ مورد در مقابل ۴۲/۱ مورد). وجود مایکوپلاسماها در ترشحات واژن با هیچکدام از علائم بالینی شامل

سوزش، خارش، ترشح، تکرر ادرار، درد زیر شکم، مشکلات همزمان رحم و سرویسیت و نیز روش پیشگیری از بارداری ارتباط معنی‌داری نداشت (p<۰/۰۵).

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*

	م. هومینیس		p value	*ا. اوره‌آلیتیکوم*		p value	مایکوپلاسماها		p value
pH >۴/۵	۱۷ (٪۹۴/۴)	۱۴۰ (٪۶۵/۴)	۰/۰۰۷	۱۴ (٪۷۷/۸)	۱۴۳ (٪۶۶/۸)	۰/۲	۲۵ (٪۸۳/۳)	۱۳۲ (٪۶۵/۳)	۰/۰۳۵
میانگین سنی	۳۵/۴	۳۱	۰/۰۰۹	۳۳/۸	۳۱/۱	۰/۱	۳۴/۲	۳۰/۹	۰/۰۱۶
میانگین تعداد گلبول سفید	۲/۷±۳/۵	۶/۳±۸/۹	۰/۰۰۱	۳/۳±۳/۹	۶/۳±۸/۹	>۰/۰۵	۳/۲±۳/۹	۶/۵±۹/۱	۰/۰۰۱
میانگین سلول راهنما٪	۸/۱±۱۰/۱	۴/۴±۱۱	>۰/۰۵	۳/۸±۷	۴/۸±۱۱/۲	>۰/۰۵	۶/۳±۹/۲	۴/۵±۱۱/۲	>۰/۰۵
میانگین باکتریهای لاکتوفرم	۳±۷/۲	۴۰/۸±۸۱/۸	<۰/۰۰۱	۹/۸±۲۴/۶	۴۰±۸۱/۷	۰/۰۰۱	۷/۴±۱۹/۷	۴۲/۱±۸۳/۴	<۰/۰۰۱

بحث

در این مطالعه، مایکوپلاسماها در ترشحات ۱۲/۸٪ (۳۰ نفر از ۲۳۵) از بیماران مورد بررسی تشخیص داده شد به طوری که فراوانی مایکوپلاسما هومینیس ۷/۷٪ (۱۸ نفر از ۲۳۵) و اوره‌آپلاسما 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 میکروارگانیزم‌ها است. در مطالعه موسویان از مجموع ۱۲۱ نمونه ژنیتال مورد بررسی، جمعاً ۱۰۴ ایزوله مایکوپلاسما جدا شد که ا. اوره‌آلیتیکم ۴۴/۷٪ و م. هومینیس، ۴۱/۲٪ ایزوله‌ها را تشکیل می‌دادند (۱۰). در مطالعه‌ای که توسط بادامی و همکارش با هدف بررسی فراوانی مایکوپلاسما هومینیس و اوره‌آپلاسما 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 بودکه 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 ۱۳۸۶با سواب‌های اندوسرویکال نمونه‌گیری کرده و از کشت آن در ۶۴ مورد (۳۱/۸٪) اوره‌آپلاسما و در ۱۶(۷/۸٪) مورد مایکوپلاسما 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 مایکوپلاسماها در دو روش کشت و PCR بیش از ۵۷/۱٪ است (۱۳). در بررسی نجارپیرایه 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 اوره پلاسما 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 ژنتیال در ۴۷,۱٪ میکوپلاسما ایزوله شد و بر نقش این باکتری به عنوان عفونت ژنتیال 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 میکوپلاسما (۷۰٪) و اوره‌آپلاسما (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 م.هومینیس و ٪۳۴ ا. اوره لیتیکوم مشاهده شد(۱۹).

مطالعات اندکی وجود دارد که در آن، فراوانی مایکوپلاسماها 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 مایکوپلاسماها 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 باکترویید‌ها تأکید و اتفاق نظر وجود دارد ولی در خصوص نقش مایکوپلاسماها 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 ۶/ ۲۳٪ *ا. 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 جویک و همکاران بیان می‌کنند که فراوانی بعضی از باکتری ها از جمله مایکوپلاسماها (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 اوره‌آپلاسما 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 مایکوپلاسما در ترشحات واژینال با بعضی از عوامل دارای ارتباط معنی‌داری است. از مهمترین آنها می‌توان کمبود تعداد گلبول سفید موجود در نمونه، pH>۴/۵ و کاهش تعداد لاکتوباسیل در ترشحات را ذکر نمود. گلبول‌های سفید به‌عنوان عوامل ضد میکروبی، از رشد مایکوپلاسماها 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 مایکوپلاسماها می‌شوند و از طرفی با تولید مواد اسیدی و کاهش pH محیط شرایط را برای رشد این باکتری ها نامساعد می‌نمایند. به همین دلیل کاهش تعداد لاکتوباسیل در ترشحات واژینال می‌تواند اثر افزاینده بر استقرار و رشد مایکوپلاسماها داشته باشد (۲۴). این یافته با نتایج تحقیق حاضر کاملاً مطابقت دارد یعنی فراوانی مایکوپلاسما با کاهش تعداد لاکتوباسیل اثر معکوس دارد.

نشان داده شده که در موارد واژینیت کاندیدایی میزان بی هوازی ها در واژن کاهش می‌یابد و کم بودن آنها شرایط را برای استقرار و تکثیر مایکوپلاسماها نامساعد می‌نماید (۱). همچنین مشخص شده که افزایش pH به همراه افزایش تعداد بی هوازی ها و کاهش لاکتوباسیل ها باعث افزایش نسبی تعداد مایکوپلاسماها می‌شود. دمبا در سال ۲۰۰۵ نشان داد که فراوانی مایکوپلاسما 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 مایکوپلاسماها مساعدتر خواهد نمود (۲۴).

نتیجه‌گیری

فراوانی مایکوپلاسماهای ژنیتال در زنان مبتلا به عفونتهای واژینال در شمال ایران کمتر از حد انتظار است، کم بودن تعداد گلبول سفید و لاکتوباسیل در لام ترشحات واژینال و pH بیش از ۴/۵ احتمال وجود میکوپلاسما در ترشحات واژینال را افزایش می‌دهد.

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 نمونه‌ها و آقای حمیدرضا پردلی برای کمک در کشت مایکوپلاسما تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1- van Belkum A, van der Schee C, van der Meijden WI, Verbrugh HA, Sluiters 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-Kozioł 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, Masjedian F, Haghighi 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 Mycplasma in cervicitis in women refferd 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.