



تشخیص واژینوز باکتریایی در ارتباط با گاردنرلا واژینالیس با استفاده از روش مولکولی در زنان مراجعه کننده به مراکز درمانی

پریسا معتمدیان^۱، کیمیا گلستان فر^۱، فاطمه خداوردی پور^۱

^۱ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

چکیده	اطلاعات مقاله
عفونت های دستگاه تناسلی یکی از شایع ترین علل مراجعه زنان به مراکز درمانی به شمار می روند. گاردنرلا واژینالیس به عنوان یکی از عوامل شایع واژینوز باکتریایی، نقش مهمی در بروز علائمی نظیر ترشحات بدبو و مشکلات التهابی دارد. این عفونت با افزایش خطر ابتلا به بیماری هایی هم چون آندومتریس پس از سزارین یا سقط، عفونت زخم، بیماری التهابی لگن، زایمان زودرس، کوریوآمنیونیت و کاهش موفقیت در باروری آزمایشگاهی همراه است. تشخیص سریع و دقیق این عفونت، ضمن کمک به درمان به موقع بیماران، نقش مؤثری در پیشگیری از گسترش آلودگی دارد. در این مطالعه، ۲۵۰ نمونه از زنان مراجعه کننده با علائم واژینیت به درمانگاه های شهرستان شهرکرد جمع آوری و با استفاده از روش های ماکروسکوپی، میکروسکوپی، بیوشیمیایی و مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از روش PCR نشان داد که ۲۲۰ نمونه (۸۸ درصد) به گاردنرلا واژینالیس آلوده بودند. این یافته ها بر شیوع بالای گاردنرلا واژینالیس در میان زنان مراجعه کننده تأکید داشته و لزوم استفاده از روش های تشخیصی دقیق به منظور پیشگیری و درمان مؤثر واژینوز باکتریایی را روشن می سازد.	تاریخچه مقاله: دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۰۲ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۰۹ چاپ: ۱۴۰۴/۰۴/۱۵ DOI: کلمات کلیدی: گاردنرلا واژینالیس، واژینوز باکتریایی، روش مولکولی. * نویسنده مسئول: Email: parisa.motamed69@gmail.com

مقدمه

عفونت‌های دستگاه تناسلی به‌ویژه واژینیت، از شایع‌ترین مشکلات بهداشتی در میان زنان به‌ویژه در سنین باروری به‌شمار می‌رود که سالانه میلیون‌ها زن در سراسر جهان از جمله بیش از ده میلیون نفر در ایالات متحده، به دلیل این مشکل به مراکز درمانی مراجعه می‌کنند. واژینیت به‌عنوان یک بیماری التهابی شایع در ناحیه واژن، اغلب با علائمی مانند ترشحات غیرطبیعی، خارش، سوزش، و بوی ناخوشایند همراه است و می‌تواند کیفیت زندگی و سلامت جنسی زنان را به‌طور چشمگیری تحت تأثیر قرار دهد (۱،۲). سازمان جهانی بهداشت، سه عامل اصلی در ایجاد واژینیت را کاندیدا، *تریکوموناس واژینالیس* و واژینوز باکتریایی معرفی کرده است که حدود ۹۰ درصد عفونت‌های واژینال را شامل می‌شوند. در میان این عوامل، واژینوز باکتریایی یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین انواع واژینیت است که با تغییر در فلور طبیعی واژن، یعنی کاهش جمعیت لاکتوباسیلوس‌های مفید و افزایش رشد باکتری‌های بی‌هوازی و پاتوژن، به‌ویژه گونه‌ی *گاردنرلا واژینالیس*، شناخته می‌شود. این اختلال در تعادل میکروبی واژن، منجر به بروز علائمی مانند ترشحاتی با بوی ماهی و رنگ خاکستری-سفید، تحریک واژن، و افزایش احتمال ابتلا به سایر عفونت‌های تناسلی می‌گردد (۳،۴).

گاردنرلا واژینالیس به‌عنوان یکی از باکتری‌های بی‌هوازی اختیاری و اعضای طبیعی فلور واژن، در صورت رشد بیش از حد، نقش کلیدی در بروز واژینوز باکتریایی ایفا می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که این باکتری دارای توانایی چسبندگی به اپیتلیوم واژن و تولید بیوفیلم است که در برابر پاسخ ایمنی میزبان و درمان‌های آنتی‌بیوتیکی مقاومت ایجاد می‌کند. هم‌چنین واژینوز باکتریایی علاوه بر ایجاد علائم آزاردهنده، با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های التهابی لگن، آندومتریوتیس پس از زایمان، زایمان زودرس، سقط جنین، کاهش موفقیت در درمان‌های ناباروری، و حتی افزایش ریسک انتقال ویروس HIV همراه است (۵،۶). در حال حاضر، تشخیص واژینوز باکتریایی عمدتاً بر اساس بررسی علائم بالینی، معاینه فیزیکی و آزمایش‌های میکروسکوپی انجام می‌شود. با این حال، این روش‌ها گاهی وقت‌گیر، وابسته به تفسیر شخصی، و از دقت کافی برخوردار نیستند. از سوی دیگر، نظر به اهمیت تشخیص دقیق و به‌موقع، استفاده از روش‌های مولکولی نوین مانند PCR که حساسیت و ویژگی بالایی دارند، می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر در شناسایی دقیق عوامل بیماری‌زا، به‌ویژه *گاردنرلا واژینالیس*، مورد استفاده قرار گیرد (۷-۹).

بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع *گاردنرلا*

واژینالیس به‌عنوان عامل اصلی واژینوز باکتریایی در زنان

مراجعه‌کننده به مراکز درمانی و ارزیابی کارایی روش‌های مولکولی در تشخیص این پاتوژن طراحی گردیده است. نتایج حاصل می‌تواند گامی مؤثر در ارتقای کیفیت تشخیص، درمان به‌موقع، و پیشگیری از عوارض ناشی از این بیماری رایج و در عین حال مهم در سلامت باروری زنان باشد.

موجود در محیط استوارت، جهت کشت در محیط کلمبیا آگار و آماده‌سازی اسمیر برای رنگ‌آمیزی استفاده شد. نمونه‌های حاوی نرمال سالین نیز برای انجام آزمون‌های مولکولی، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

مواد و روش کار

نوع مطالعه و جمع‌آوری نمونه‌ها

این مطالعه ی توصیفی مقطعی با هدف شناسایی گاردنرلا واژینالیس به‌عنوان عامل واژینوز باکتریایی در زنان مبتلا به علائم واژینیت انجام شده است. در این تحقیق، نمونه‌های واژینال از زنان مراجعه‌کننده به مراکز درمانی شهرکرد که دارای علائم بالینی واژینیت بودند، جمع‌آوری شد. پس از نمونه‌گیری، آزمایش‌های مورد نیاز شامل مراحل کشت میکروبی، رنگ‌آمیزی و تشخیص مولکولی با روش PCR جهت شناسایی دقیق عامل بیماری‌زا انجام شد.

کشت میکروبی و تست های بیوشیمیایی نمونه‌های

جمع آوری شده

نمونه‌های سواپ واژینال بیماران پس از انتقال به آزمایشگاه، روی محیط کشت اختصاصی کلمبیا آگار تلقیح شدند و پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در حضور ۱۰ درصد CO₂ انکوبه شدند. تشکیل کلنی‌های سفید، ریز و سرسجاقی نشانگر رشد احتمالی گاردنرلا واژینالیس بود. جهت تأیید، کلنی‌ها تحت مجموعه‌ای از تست‌های بیوشیمیایی قرار گرفتند، از جمله: تست اندول، احیای نیترات، متیل رد، اوره‌آز، لیزین دکربوکسیلاز، تست‌های کاتالاز و اکسیداز، هیدرولیز هیپورات، و تخمیر گلوکز و مالتوز (۱۰،۱۱).

نمونه‌گیری و نگهداری نمونه‌ها

در مجموع، ۲۵۰ نمونه ترشح واژینال از بیماران دارای علائم واژینیت توسط متخصص زنان به روش سواپ واژینال تهیه شد. نمونه‌ها در دو محیط جداگانه، شامل نرمال سالین و محیط انتقالی استوارت قرار گرفتند و به آزمایشگاه منتقل شدند. از نمونه‌های

تهیه محیط کشت کلمبیا آگار

برای تهیه محیط کشت کلمبیا آگار، ۳۹ گرم پودر آماده محیط در یک لیتر آب مقطر حل شده و محلول حاصل تا شفاف شدن به جوش آورده شد. پس از بستن درب ظرف، محلول به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند

در اتوکلاو استریل شد. پس از پایان فرایند، محیط خارج شده و پس از رسیدن به دمای حدود ۵۰ درجه سانتی‌گراد، ترکیبات مکمل شامل ۲ میلی‌گرم جنتامایسین، ۵ میلی‌گرم آمفوتریسین B، ۱ میلی‌گرم نالیدیکسیک اسید و ۱ درصد خون گوسفند استریل به آن اضافه شد. محیط به‌خوبی با استایرر هم زده شد و سپس در پلیت‌های استریل به ضخامت تقریبی ۲ سانتی‌متر ریخته شد.

استخراج DNA از نمونه‌ها

استخراج DNA از نمونه‌های واژینال و کلنی‌های کشت‌شده با استفاده از روش جوشاندن انجام شد. در این روش، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شدند تا لیز سلولی انجام و DNA آزاد شود. نمونه‌ها پس از سرد شدن، جهت مراحل بعدی تشخیص مولکولی مورد استفاده قرار گرفتند (۱۲).

بررسی کمی و کیفی DNA استخراج‌شده

برای سنجش غلظت و خلوص DNA استخراج‌شده، از روش UV اسپکتروفوتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ بهره گرفته شد. این روش بر پایه اندازه‌گیری جذب نوری در طول موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر انجام می‌شود. DNA به‌دلیل داشتن بازهای آروماتیک در طول موج ۲۶۰ نانومتر جذب نوری دارد و پروتئین‌ها در ۲۸۰ نانومتر جذب می‌کنند. نسبت جذب ۲۸۰/۲۶۰ شاخصی

برای سنجش خلوص DNA است؛ نسبت بین ۱/۸ تا ۲ نشان‌دهنده خلوص مناسب است. نسبت کمتر از ۱/۸ نشان‌دهنده آلودگی با پروتئین و بالاتر از ۲ نشان‌دهنده حضور RNA می‌باشد. در این مطالعه، ۳ میکرولیتر از هر نمونه توسط نانودراپ اندازه‌گیری شد و نمونه‌های دارای غلظت مناسب ($150 \text{ ng}/\mu\text{l}$) و خلوص استاندارد، در دمای ۲۰- درجه ی سانتی‌گراد تا انجام PCR نگهداری شدند.

تشخیص مولکولی گاردنرلا واژینالیس

برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با هدف شناسایی و تکثیر ناحیه‌ای اختصاصی از ژنوم باکتری گاردنرلا واژینالیس، ابتدا توالی ژن هدف از پایگاه‌های اطلاعاتی نظیر NCBI استخراج شد و سپس طراحی پرایمرهای اختصاصی با استفاده از نرم‌افزار Oligo نسخه ۷ صورت گرفت. پرایمرهای طراحی‌شده به‌گونه‌ای انتخاب شدند که از ویژگی‌های ضروری مانند اختصاصیت بالا، دمای اتصال مناسب و عدم تشکیل ساختارهای دوم برخوردار باشند. توالی پرایمرها طراحی شده در این پژوهش در جدول ۱ نشان شده است. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل DNA الگو، پرایمرهای رفت و برگشت، مسترمیکس حاوی Taq DNA polymerase، dNTP، MgCl_2 و بافر مناسب، به همراه آب دیونیزه جهت تنظیم حجم نهایی بود. نمونه‌ها پس از

آماده‌سازی، در دستگاه ترموسایکلر قرار گرفتند و چرخه حرارتی استاندارد شامل دناتوراسیون اولیه، ۳۰ تا ۴۰ سیکل دناتوراسیون، اتصال پرایمر و طول‌سازی، و در نهایت مرحله پایانی طول‌سازی اجرا گردید. دمای اتصال بسته به خصوصیات پرایمرها تنظیم شد. مشاهده و ثبت شدند (۱۳).

در پایان، برای ارزیابی صحت تکثیر، محصولات PCR توسط الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد مورد بررسی قرار گرفت و باندهای حاصل با استفاده از رنگ اختصاصی و تحت تابش UV اجرا گردید. دمای اتصال بسته به خصوصیات پرایمرها تنظیم شد. مشاهده و ثبت شدند (۱۳).

جدول (۱): پرایمرهای مورد استفاده

پرایمر	توالی	سایز باند	TM	CG درصد
Forward	5- GGGCGGGCTAGAGTGCA -3	۳۰۰	۷۰	۶۲
Revers	5- GAACCCGTGGAATGGnGCC-3			

آنالیز آماری

این مطالعه با هدف شناسایی و جداسازی گاردنرلا واژینالیس

برای تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه از روش‌های آماری مناسب با توجه به نوع داده‌ها و اهداف تحقیق استفاده شد. ورود داده‌ها به نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۸ صورت گرفت و توصیف داده‌ها از طریق شاخص‌های آماری نظیر میانگین، انحراف معیار و فراوانی نسبی انجام شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کیفی، آزمون مجذور کای و در صورت لزوم آزمون دقیق فیشر به کار گرفته شد. سطح معناداری در تمامی تحلیل‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد (۱۴).

در زنان مبتلا به علائم واژینیت که به مراکز درمانی شهرستان شهرکرد مراجعه کرده بودند، انجام شد. از مجموع ۲۵۰ نمونه واژینال جمع‌آوری‌شده، بررسی‌های میکروبیولوژیک و آزمون‌های بیوشیمیایی وجود گاردنرلا واژینالیس را در ۲۲۰ نمونه (معادل ۸۸ درصد) تأیید کرد. باکتری‌های جداسازی‌شده دارای ویژگی‌های بیوشیمیایی مشخصی بودند؛ به‌طوری‌که در تست‌های اندول، اوره‌آز، لیزین دکربوکسیلاز، کاتالاز، اکسیداز و احیای نیتрат نتیجه منفی و در آزمون‌های هیدرولیز هیپورات، تخمیر گلوکز و مالتوز، نتیجه مثبت مشاهده شد (شکل ۱). بررسی‌های ماکروسکوپی نشان داد که کلنی‌های حاصل، کوچک، به رنگ سفید یا خاکستری با نمایی

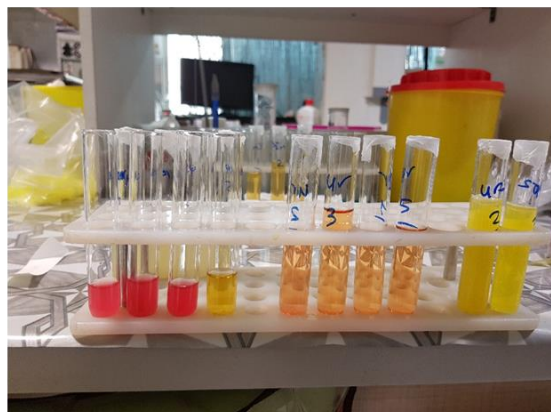
نتایج

۲). علاوه بر این، آزمون تعیین pH (Diff test) نیز بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

سرسنجاکی بودند. از نظر میکروسکوپی نیز، باسیل‌های گرم منفی یا گرم متغیر دیده شدند و همچنین حضور سلول‌های اپیتلیال کلوسل در نمونه‌های رنگ‌آمیزی شده با رنگ گرم تأیید شد (شکل

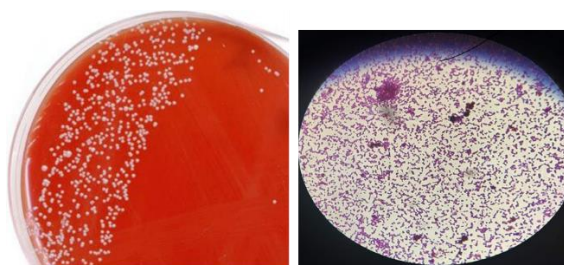


A

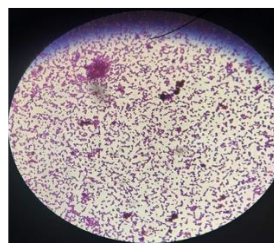


B

(SIM) نتایج تست (B) نتایج تست های اوره و اندول. A شکل ۱- نتایج تست‌های بیوشیمیایی.



A



B

شکل ۲- A) باکتری گاردنرلا واژیناليس بر روی محیط

کلمبیا آگار. B) رنگ آمیزی گرم باکتری گاردنرلا واژیناليس.

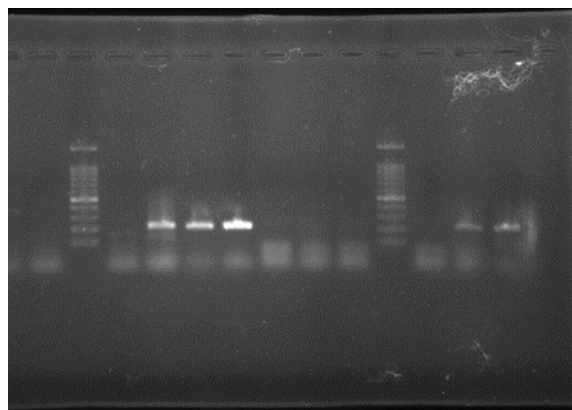
نتایج حاصل از واکنش PCR

پس از استخراج DNA از نمونه‌های ترشحات واژینال، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن *16S rRNA* باکتری گاردنرلا واژیناليس انجام

نتایج مربوط به ردیابی ژن *16S rRNA*

جهت تأیید مولکولی وجود گاردنرلا واژیناليس، پس از استخراج DNA از نمونه‌ها، کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده بررسی گردید و سپس نمونه‌ها با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن *16S rRNA* مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج حاصل از واکنش PCR نشان داد که در ۲۲۰ نمونه از ۲۵۰ نمونه (۸۸ درصد)، باند اختصاصی به طول ۳۰۰ جفت‌باز ظاهر شد که بیانگر حضور ژنوم باکتری گاردنرلا واژیناليس و تأیید قطعی این عامل در بیماران مذکور بود.

گرفت. به منظور بررسی محصولات PCR، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد صورت پذیرفت. همان گونه که در نتایج ژل الکتروفورز مشاهده شد، نمونه های مثبت دارای باند مشخصی در موقعیت ۳۰۰ جفت باز بودند که حضور ژن هدف و در نتیجه شناسایی قطعی گاردنرلا واژینالیس را تأیید می کند.



شکل ۳- الکتروفورز محصولات PCR ژن 16srRNA گاردنرلا واژینالیس.

بحث

واژینوز باکتریایی از شایع ترین اختلالات واژینال در زنان سنین باروری است که عمدتاً در نتیجه تغییر در تعادل فلور طبیعی واژن، به ویژه کاهش لاکتوباسیل های محافظ و افزایش باکتری های بی هوازی فرصت طلب مانند گاردنرلا واژینالیس ایجاد می شود. در مطالعه حاضر، میزان آلودگی به گاردنرلا واژینالیس در میان زنان مبتلا به واژینیت برابر با ۸۸ درصد بود. این میزان

بالاتر از اغلب مطالعات مشابه داخلی و خارجی گزارش شده و بیانگر یک هشدار اپیدمیولوژیک برای جمعیت مورد مطالعه است. در مقایسه با نتایج ما، مطالعه ای که در کلینیک زنان بیمارستان شهریار نور انجام شد، میزان شیوع گاردنرلا واژینالیس را تنها ۳۴/۶ درصد گزارش کرده است. همچنین، پژوهش اشرفی گنجوی در کرمان شیوع ۳۷/۷ درصد و هزار جریبی در ساری، شیوع ۴۶ درصد را برای این باکتری در بین زنان مبتلا به واژینیت گزارش کرده اند. این اختلاف چشمگیر ممکن است به عوامل مختلفی از جمله تفاوت در روش های نمونه گیری، ابزار تشخیصی، شرایط فرهنگی و بهداشتی منطقه، و تفاوت های رفتاری میان جمعیت ها مرتبط باشد. در سطح بین المللی نیز، داده های متعددی از اختلاف در میزان شیوع گاردنرلا واژینالیس حکایت دارند. به عنوان مثال، در پرتغال شیوع تنها ۳/۸ درصد بوده و در مطالعه ای که بر روی زنان استرالیایی و آفریقایی-آمریکایی انجام شد، میزان شیوع بین ۳۳ تا ۵۰ درصد گزارش گردید (۱۵). در مقابل، مطالعه ای Janulaitiene و همکارانش در لیتوانی (۲۰۱۷) نشان داد که تمامی بیماران مبتلا به واژینوز (۱۰۰ درصد) به گاردنرلا واژینالیس آلوده بودند. این تفاوت ها بر اهمیت ملاحظات جغرافیایی، نژادی، رفتاری و اجتماعی در تعیین الگوی شیوع این بیماری تأکید دارند (۱۶).

پیشگیری می‌توانند به شکل معناداری بر ترکیب میکروبی واژن تأثیر بگذارند.

در مرور سیستماتیک و متاآنالیز جامع Vodstrcil و همکاران (۲۰۱۳)، که بر پایه‌ی ۵۵ مطالعه انجام شده بود، مشخص شد که استفاده از روش‌های هورمونی پیشگیری از بارداری، با کاهش خطر شیوع اولیه، بروز جدید و عود واژینوز باکتریایی همراه است. این مطالعه نشان داد که نسبت شانس (odds ratio) برای این ارتباطها به ترتیب ۰،۶۸، ۰،۸۲ و ۰،۶۹ بوده است. در مقابل، استفاده از IUD، به‌ویژه نوع مسی، به‌دلیل ایجاد التهاب موضعی و تغییرات در میکروبیوتای واژن، می‌تواند زمینه‌ساز افزایش خطر واژینوز باکتریایی باشد (۱۷).

در تأیید یافته‌های ما، مطالعه‌ی مرور Daniel و همکاران (۲۰۲۳) نیز نشان داد که IUDها، به‌ویژه نوع غیرهورمونی (Cu-IUD)، با افزایش خطر واژنوز باکتریایی همراهند. این مطالعه که شامل مرور ۱۵ تحقیق بود، اختلافات موجود را ناشی از ناهمگونی در نوع IUD، طراحی مطالعه، و حجم نمونه دانست. با این حال، آن‌ها اذعان داشتند که IUDهای هورمونی (LNG-IUD) اثر متفاوتی داشته و در برخی موارد حتی با کاهش خطر واژینوز باکتریایی همراه بوده‌اند، هرچند داده‌ها در این زمینه کافی نیست (۱۸).

از دیگر یافته‌های مهم مطالعه‌ی حاضر، ارتباط آماری معنادار میان سطح تحصیلات پایین و افزایش شیوع واژینوز باکتریایی بود. این نتیجه با یافته‌های Stanhope و Lancaster هم‌راستا است که در مطالعاتشان گزارش دادند سطح سواد پایین، با کاهش آگاهی بهداشتی و در نتیجه افزایش احتمال ابتلا به واژینوز باکتریایی همراه است. در مطالعه‌ی رامازانی تهرانی نیز همین ارتباط مشاهده شد؛ زنانی که اطلاعات کافی درباره‌ی مراقبت‌های بهداشتی و بیماری‌های واژینال نداشتند، بیشتر در معرض ابتلا قرار داشتند. این موضوع نشان می‌دهد که آموزش سلامت جنسی و باروری، به‌ویژه در زنان کم‌سواد یا بدون تحصیلات آکادمیک، می‌تواند نقش اساسی در پیشگیری از این بیماری داشته باشد.

موضوع قابل توجه دیگر در پژوهش حاضر، ارتباط معنادار میان استفاده از IUD (به‌ویژه نوع غیرهورمونی یا مسی) و افزایش شیوع واژینوز باکتریایی بود. در حالی که بسیاری از مطالعات داخلی به این رابطه نپرداخته‌اند، مطالعات جهانی متعددی چنین ارتباطی را تأیید کرده‌اند. در مطالعه‌ی Baeten و همکاران (۲۰۰۱)، گزارش شد که زنان استفاده‌کننده از روش‌های پیشگیری هورمونی نظیر دیومدروکسی پروژسترون، در مقایسه با سایر روش‌ها، کمتر دچار BV می‌شوند. این یافته‌ها حاکی از آن‌اند که روش‌های

از منظر درمانی، مقاومت آنتی‌بیوتیکی گاردنرلا واژینالیس یکی از چالش‌های بالینی مهم در مدیریت واژینوز باکتریایی است. در مطالعه‌ای داخلی، مقاومت بالا به مترونیدازول (۸۶/۱۲ درصد) و مقاومت پایین‌تر به کلیندامایسین (۱۷/۳۴ درصد) گزارش شده که نشان‌دهنده‌ی کارآمدی نسبی کلیندامایسین و ضرورت بررسی مقاومت پیش از درمان است. یافته‌های Abbe و Mitchell (۲۰۲۲) نیز این موضوع را تأیید می‌کند؛ آن‌ها در بررسی خود به این نتیجه رسیدند که درمان‌های موجود (مترونیدازول و کلیندامایسین)، در نیمی تا ۸۰٪ از موارد، منجر به عود بیماری ظرف ۱۲ ماه می‌شوند (۱۹).

علت اصلی این بازگشت مکرر، به گفته‌ی آنان، ناتوانی لاکتوباسیل‌های مفید، در بازسازی اکوسیستم واژینال پس از درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها است. آن‌ها پیشنهاد کردند که علاوه بر درمان دارویی، باید از پروبیوتیک‌ها، روش‌های ترمیم بیوفیلم، تنظیم pH واژن، و حتی پیوند میکروبیوم واژینال استفاده شود. همچنین، اصلاح سبک زندگی نظیر ترک دخانیات، استفاده از کاندوم، انتخاب روش‌های مناسب پیشگیری از بارداری و آموزش سلامت جنسی نیز از راهبردهای پیشگیرانه‌ی مکمل به شمار می‌روند (۲۰).

از نظر پاتوفیزیولوژی، افزایش تعداد باکتری‌های بی‌هوازی و کاهش لاکتوباسیل‌های محافظ منجر به افزایش pH واژن و ایجاد

محیطی نامناسب می‌شود که زمینه را برای رشد باکتری‌های پاتوژن نظیر گاردنرلا واژینالیس فراهم می‌سازد. در غیاب درمان مناسب، این وضعیت می‌تواند به عوارضی نظیر زایمان زودرس، بیماری‌های التهابی لگن، ناباروری، و افزایش خطر ابتلا به عفونت‌های آمیزشی (مانند HIV) بینجامد (۲۱).

در مجموع، یافته‌های این مطالعه در کنار شواهد موجود در ادبیات علمی، بر اهمیت انجام مداخلات چندلایه برای پیشگیری، تشخیص زودهنگام، و درمان مؤثر واژینوز باکتریایی تأکید دارند. از جمله این اقدامات می‌توان به آموزش بهداشت باروری برای زنان در معرض خطر، غربالگری منظم، استفاده آگاهانه از روش‌های پیشگیری از بارداری با در نظر گرفتن وضعیت میکروبیوم واژینال، و رویکردهای درمانی تلفیقی اشاره کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که واژینوز باکتریایی به‌ویژه با شیوع بالای گاردنرلا واژینالیس، یکی از مشکلات شایع و نگران‌کننده در میان زنان مراجعه‌کننده به مراکز درمانی است. ارتباط معنادار میان شیوع بالای این عفونت با عواملی مانند سطح تحصیلات پایین، استفاده از IUD به عنوان روش پیشگیری از بارداری، و عدم آگاهی کافی از بهداشت فردی و جنسی، اهمیت توجه به آموزش و پیشگیری را دوچندان می‌کند. در کنار یافته‌های

اپیدمیولوژیک، اهمیت غربالگری زودهنگام، تشخیص دقیق و درمان مؤثر به منظور جلوگیری از عوارض جدی مانند ناباروری، بیماری‌های التهابی لگن و زایمان زودرس نیز بار دیگر تأیید شد. با توجه به شیوع بالا و پیامدهای گسترده این بیماری، برنامه‌ریزی برای ارتقاء سطح آگاهی زنان در مورد علائم، راه‌های پیشگیری و مراقبت‌های بهداشتی واژینال، و همچنین انتخاب آگاهانه روش‌های پیشگیری از بارداری، می‌تواند نقش مهمی در کاهش شیوع و بهبود کیفیت زندگی زنان ایفا کند. در نهایت، پیشنهاد می‌شود مطالعات گسترده‌تری با حجم نمونه بیشتر و در مناطق مختلف کشور برای بررسی دقیق‌تر عوامل مؤثر بر واژینوز باکتریایی انجام شود تا بتوان راهکارهای بومی و مؤثرتری برای کنترل آن ارائه کرد.

مراجع

1. Coleman JS, Gaydos CAJJocm. Molecular diagnosis of bacterial vaginosis: an update. J Clin Microbiol. 2018; 56(9): 1-9.
2. Evans A, Doshi R, Yeaw J, Coyle K, Goldberg S, Wang E, et al. Healthcare utilization and costs following molecular diagnostic testing among patients with vaginitis. J Comp Eff Res. 2025;14(1):e240173.
3. Sanchez-Garcia EK, Contreras-Paredes A, Martinez-Abundis E, Garcia-Chan D, Lizano M, de la cruz-Hernandez EJJomm. Molecular epidemiology of bacterial vaginosis and its association with genital micro-organisms in asymptomatic women. J Med Microbiol. 2019;68(9):1373-1382.
4. Hassan M, Suliman ZJ. Evaluation of RT-PCR in molecular diagnosis of *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis* infection in comparison with other conventional method in Tikrit province. Med J Tikrit Univ. 024; 30 (2): 220-229.
5. Schwebke JR, Muzny CA, Josey WE. Role of *Gardnerella vaginalis* in the pathogenesis of bacterial vaginosis: a conceptual model. J Infect Dis. 2014; 210(3):338-343.
6. Morrill S, Gilbert NM, Lewis AL. *Gardnerella vaginalis* as a cause of bacterial vaginosis: appraisal of the evidence from in vivo models. Front Cell Infect Microbiol. 2020; 24:10:168 178. Schellenberg JJ, Patterson MH, Hill JE. *Gardnerella vaginalis* diversity and ecology in relation to vaginal symptoms. 2017;168 (9-10): 837-844.
8. Vanechoutte M, Guschin A, Van Simaey L, Gansemans Y, Van Nieuwerburgh F, Cools PJJjos, et al. Emended description of *Gardnerella vaginalis* and description of *Gardnerella leopoldii* sp. nov., *Gardnerella piovii* sp. nov. and *Gardnerella swidsinskii* sp. nov., with delineation of 13 genomic species within the genus *Gardnerella*. 2019;69(3):679-87.
9. Suliman ZT. Evaluation of RT-PCR in molecular diagnosis of *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis* infection in comparison with other conventional method in Tikrit province. 2024; 30 (2): 78-85.
10. Mohseni M, Khosravi, F %J Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran. Bioremediation activity of Pb (II) resistance *Citrobacter* sp. MKH2 isolated from heavy metal contaminated sites in Iran. J Clin Microbiol. 2014; 25 (2):105-10.
11. Menard JP, Fenollar F, Henry M, Bretelle F, Raoult DJCID. Molecular quantification of *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* loads to predict bacterial vaginosis. Clin Infect Dis. 2008; 47(1):3 3-43.
12. Mohseni M, Khosravi F, Mohadjerani M, Chaichi MJMLJ. Biosorption of lead and copper by heavy metal resistance bacterium using Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FT IR). 2014; 8(3):30-39.
13. Kusters J, Reuland E, Bouter S, Koenig P, Dorigo-Zetsma JJEJoCM, Diseases I. A multiplex real-time PCR assay for routine diagnosis of bacterial vaginosis. 2015; 34:1779-1785.
14. Rostami H, Khosravi F, Mohseni M, Rostami AAJIJoBM. Biosynthesis of Ag nanoparticles using isolated bacteria from contaminated sites and its application as an efficient catalyst for hydrazine electrooxidation. Int J Biol Macromol. 2018; 107: 343-348.
15. Rashidifar S, Harzandi N, Honarmand Jahromi S, Gharavi MJ. Prevalence of *Gardnerella vaginalis* infection and antibiotic resistance pattern of isolates of gynecology clinic patients at Shahriar Noor Hospital from January to June 2020 by PCR and culture methods. Iran j Microbiol. 2023;15(4):513-520.
16. Janulaitiene M, Paliulyte V, Grinceviciene S, Zakareviciene J, Vladisauskiene A, Marcinkute A, Pleckaityte M. Prevalence and distribution of *Gardnerella vaginalis* subgroups

in women with and without bacterial vaginosis. BMC infect Dis . 2017;17(1):394-360.

17. Vodstrcil LA, Hocking JS, Law M, Walker S, Tabrizi SN, Fairley CK, et al. Hormonal contraception is associated with a reduced risk of bacterial vaginosis: a systematic review and meta-analysis. PloS one. 2013;v8(9):e73055.

18. Daniel AL, Auerbach S, Nazarenko D, Agbemenu K, Lorenz R. An Integrative Review of the Relationship Between Intrauterine Devices and Bacterial Vaginosis. Nursing for women's health. 2023; 27(2):141-151.

19. Abbe C, Mitchell CM. Bacterial vaginosis: a review of approaches to treatment

and prevention. Front Reprod Health. 2023; (5): 1-13.

20. Eschenbach DA DP, Williams BL, Klebanoff SJ, YoungSmith K, Critchlow CM, et al. Prevalence of hydrogen peroxide producing Lactobacillus species in normal women and women with vaginal vaginosis. J Clin Microbiol. 2002; 27(2): 25-29.

21. Carey JC KM, Hauth JC, Hillier SL, Thom EA, Ernest J, et al. . Metronidazole to prevent preterm delivery in pregnant women with asymptomatic bacterial vaginosis. New England J Med. 2000; 342 (8):534-540.

Detection of Bacterial Vaginosis Associated with *Gardnerella vaginalis* Using Molecular Methods in Women Attending Healthcare Centers

Parisa Motamediyani¹, Kimia Golestanfar¹, Fatemeh Khodavardipour¹

1. Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

*Corresponding author: parisa.motamed69@gmail.com

Abstract

Genital tract infections are among the most common reasons for women to seek medical care. *Gardnerella vaginalis* is a predominant pathogen in bacterial vaginosis and plays a significant role in producing symptoms such as malodorous vaginal discharge and inflammatory complications. This infection is associated with an increased risk of upper genital tract diseases, including endometritis after cesarean section or abortion, surgical site infections, pelvic inflammatory disease, preterm labor, chorioamnionitis, and reduced success rates in assisted reproductive technologies. Rapid and accurate diagnosis not only facilitates timely treatment but also helps prevent the spread of infection. In this study, 250 samples were collected from women presenting with vaginitis symptoms at clinics in Shahrekord. The samples were analyzed using macroscopic, microscopic, biochemical, and molecular (PCR) methods. Results revealed that 220 out of 250 samples (88%) were positive for *Gardnerella vaginalis* infection. These findings highlight the high prevalence of *Gardnerella vaginalis* among symptomatic women and emphasize the importance of using accurate diagnostic tools for effective management and prevention of bacterial vaginosis.

Keywords: *Gardnerella vaginalis*, Bacterial Vaginosis, Molecular Method.