

کومش - جلد ۱۸، شماره ۱ (پیاپی ۶۱)، پائیز ۱۳۹۵

بررسی شیوع آتوپویوم واژینا در نمونه‌های واژینال زنان غیرباردار دارای علائم

حمیده مفتون^۱ (M.Sc)، نور امیرمظفری^{۱*} (Ph.D)، مریم کاشانیان^۲ (M.D)، مژگان عشاقی^۳ (Ph.D)

۱- گروه میکروبی‌شناسی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲- گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

چکیده

سابقه و هدف: واژینوز باکتریایی یک عفونت تک عاملی نبوده بلکه مخلوط سینرژیک از باکتری‌های میکروآئروفیل، گونه‌های مایکوپلاسما و بی‌هوازی‌ها مانند: آتوپویوم واژینا، پورفیرومونا، باکتروئیدس‌ها، پرووتلا و سایر باکتری‌ها می‌باشد. هدف از این مطالعه، تشخیص شیوع باکتری آتوپویوم واژینا در زنان غیرباردار دارای علائم در سنین مختلف می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این بررسی، ۱۰۲ زن مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید اکبرآبادی شهر تهران، از نظر ابتلا به واژینوز باکتریایی مورد آزمایش قرار گرفتند. به منظور جداسازی باکتری آتوپویوم واژینا کشت از نمونه ترشحات واژینال در محیط کلمبیا آگار حاوی ۳ آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین B، نالیدیکسیک اسید و کلیستین و هم‌چنین در محیط بلاد آگار با خون تازه انسانی به اضافه‌ی آمفوتریسین B در شرایط بی‌هوازی انجام شد. پس از استخراج DNA از کشت و نمونه بالینی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز با پرایمر اختصاصی صورت گرفت.

یافته‌ها: از میان ۱۰۲ مورد بالینی، ۳۸ نمونه مبتلا به واژینوز باکتریایی تشخیص داده شد. از این ۳۸ مورد، آتوپویوم واژینا در ۲۵ مورد (۶۵٪) از نمونه‌ها توسط تست PCR مثبت بود.

نتیجه‌گیری: این مطالعه، اولین گزارش از آتوپویوم واژینا در ارتباط با واژینوز باکتریایی در ایران می‌باشد، نتایج این تحقیق نشان داد که آتوپویوم واژینا در ایجاد واژینوز باکتریایی نقش بسزایی دارد و باید از نظر بالینی و آزمایشگاهی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: التهاب باکتریایی واژن، مونث، زنان، واکنش زنجیره ای پلیمرز

مقدمه

آتوپویوم واژینا می‌باشد که اخیراً در ارتباط با واژینوز باکتریایی شناسایی شده است [۵-۷]. تشخیص واژینوز باکتریایی بدین گونه می‌باشد که اگر در بیماری ۳ مورد از موارد زیر مثبت باشد مبتلا تشخیص داده خواهد شد [۸-۱۰]: ترشحات واژینال سفید-خاکستری هموزن، pH بالای ۴/۵، تولید بوی گندیده‌ی ماهی با افزودن هیدروکسید پتاسیم ۱۰٪

واژینوز باکتریایی، عمومی‌ترین عفونت مجرای ژنیتال در زنان در سنین بلوغ می‌باشد و یک سندرمی در ارتباط با تغییرات فلور نرمال واژن است که باعث ایجاد ترشحات بدبو، سوزش و خارش در زنان می‌شود [۱-۴]. غالب‌ترین باکتری که عامل واژینوز باکتریایی بوده گاردنرلا واژینالیس به همراه

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. روش‌های مولکولار ژنتیکی که برای تشخیص عوامل واژینوز مورد استفاده قرار می‌گیرند متعدد هستند. در این راستا، هدف از این مطالعه، تشخیص شیوع باکتری آتوپویوم واژینا در زنان غیر باردار دارای علائم در سنین مختلف مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید اکبرآبادی شهر تهران می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه. در این مطالعه توصیفی - مقطعی، ۱۰۲ زن مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید اکبرآبادی شهر تهران از آذر ماه ۱۳۹۳ تا آبان ماه ۱۳۹۴، به مدت ۱۲ ماه مورد بررسی قرار گرفت. با تهیه پرسش‌نامه‌هایی حاوی مشخصات بیمار مانند سن، دلیل مراجعه، تعداد زایمان، نحوه زایمان، استفاده از آنتی‌بیوتیک در یک هفته‌ی اخیر، سوابق بیماران جمع‌آوری شد. نمونه‌برداری با استفاده از اسپکولوم از دهانه‌ی رحم زنان مراجعه‌کننده به وسیله سوآپ استریل توسط متخصص زنان و زایمان انجام شد. به منظور تشخیص واژینوز باکتریال از چند روش تشخیص آزمایشگاهی شامل اندازه‌گیری pH، تست Whiff، تهیه اسمیر مستقیم از ترشحات و مشاهده Clue cells کلوسل‌ها در گاردنرلا واژینالیس مشاهده می‌شوند ولی برای تشخیص واژینوز باکتریایی مهم می‌باشد و کشت بر روی محیط بلاد آگار، کلمبیا آگار و PBS بررسی مستقیم مولکولی) استفاده شد [۱۹،۱۷،۵].

استخراج DNA. پس از گذشت ۷۲-۴۸ ساعت از انکوباسیون نمونه بالینی کشت داده شده بر روی محیط کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، کلنی‌های رشد یافته باکتریایی که از نظر شکل و رنگ کلنی‌ها (سفید مایل خاکستری)

به ترشحات واژن تست ویف (Whiff) مثبت، حضور Clue cell. در واژینوز باکتریایی تعداد لاکتوباسیل‌ها به شدت کاهش می‌یابد و تعداد باکتری‌های بی‌هوازی اجباری گرم منفی و سایر باکتری‌ها مانند: گاردنرلا واژینالیس، آتوپویوم واژینا، موبیلینکوس، فوزوباکتریوم، باکترئوئیدس و پرووتلا زیاد می‌شوند [۱۱-۱۳]. کلمه‌ی آتوپویوم به زبان یونانی به معنای "موجود زنده‌ی عجیب" می‌باشد [۱۳]. آتوپویوم اولین بار در سال ۱۹۹۲ توسط کولینز و والبنک پیشنهاد شد که قبلاً به عنوان لاکتوباسیل طبقه‌بندی می‌شد و در سال ۱۹۹۹ از زنان سالم بر اساس ارتباطات فیلوژنیک توسط سکانس ژن ۱۶ S rRNA شناسایی شد [۱۳،۱۴]. جنس آتوپویوم شامل گونه‌های ریما، پارولوس، مینوتوم، فوسور و واژینا می‌باشد [۸،۱۵،۱۶،۱۷]. تمام گونه‌های آتوپویوم برای انسان بیماری‌زا می‌باشند به جز آتوپویوم فوسور که برای انسان بیماری‌زا نیست و از اسب جدا می‌شود [۱۵]. آتوپویوم یک باکتری بی‌هوازی اجباری، کاتالاز منفی و اکسیداز منفی می‌باشد و به صورت کوکسی‌های گرم مثبت بیضوی به صورت تکی، دوتایی یا زنجیره‌های کوتاه مشاهده می‌شود و مقدار زیادی لاکتیک اسید تولید می‌کنند [۸،۱۱،۱۵]. اندازه‌ی این باکتری ۳-۸/۰۸-۰۶ میکرومتر می‌باشد [۱۵]. هیدرولیز آرژینین، لوسین آمینوپپتیداز، تخمیر گلوکز مثبت بوده و بیش‌ترین محصولی که در تخمیر گلوکز تولید می‌کند اسید لاکتیک، اسید فرمیک و اسید استیک می‌باشد [۱۱]. این باکتری به راحتی توسط روش‌های میکروبی‌شناسی جداسازی نشده [۵-۷] و برای آن محیط کشت اختصاصی وجود ندارد [۱۱]. اطلاعات در مورد ژنتیک و ویروانس باکتری محدود می‌باشد. در روش استاندارد برای تشخیص واژینوز باکتریایی از معیارهای وضع شده توسط Amsel و همکاران استفاده می‌شود [۹،۱۸-۱۶]. کشت، کمک خیلی زیادی به تشخیص واژینوز باکتریایی نمی‌کند، زیرا در افراد سالم نیز ممکن است بی‌هوازی‌ها، گاردنرلا واژینالیس و آتوپویوم واژینا از ترشحات واژن به دست آید. برخی از مطالعات انجام شده در ایران بیانگر شیوع بالای واژینوز باکتریایی در برخی از مناطق ایران هستند. در

(Annealing) در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، سنتز (Extension) در دمای ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه و سنتز نهایی (Final Extension) به مدت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس انجام شد. برای مشاهده نتیجه تکثیر هر یک از ژن‌های مورد مطالعه، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱٪ در شرایط ۱۵۰ ولت در بافر TBE×10 تجاری (Fermentase) انجام شد [۱۹].

سکانسینگ محصول PCR. پس از مشاهده قطعه تکثیر یافته در محدود 155 bp بر روی ژل آگارز به منظور تایید نهایی قطعه تکثیر یافته به همراه پرایمر فوروارد قطعه تکثیر یافته برای شرکت پیشگام (نمایندگی شرکت بایونیر کره جنوبی) ارسال شد. توالی‌های به دست آمده در موتور جستجوگر بانک جهانی ژن (NCBI) برای مقایسه و تراز کردن توالی‌های به دست آمده نوکلئوتید BLASTn (Basic Local Alignment Search Tool) شدند.

آنالیز آماری. آنالیز آماری با استفاده از ویرایش از نرم افزار SPSS، ورژن ۱۶ تحت ویندوز انجام گرفت. نتایج در متغیرهای کیفی به صورت فراوانی و فراوانی نسبی و در مورد متغیرهای کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. برای بررسی متغیرها بر حسب مورد از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. سطح معنی داری بودن آزمون‌های آماری $P < 0.05$ منظور گردید. حساسیت و ویژگی آزمایش مستقیم، کشت و روش مولکولی PCR تعیین گردید.

مشکوک به باکتری اتوبویوم واژینا برای تشخیص مولکولی انتخاب شدند. جهت استخراج مستقیم DNA از نمونه‌های بالینی و کلنی‌های مشکوک به باکتری اتوبویوم واژینا از کیت تخلیص شرکت یکتا تجهیز تحت عنوان (YTA Genomic Extraction Mini Kit for Blood/Cultured Cell# YT9040) استفاده شد و میزان خلوص DNA توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرز. پس از استخراج DNA ژنومی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. پس از استخراج DNA ژنومی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر در دستگاه ترموسایکلر انجام گرفت. هر واکنش شامل ۲٫۵ میکرولیتر بافر ۱۰X، ۰٫۵ میکرولیتر MgCl₂ با غلظت ۱۰۰ mm، ۰٫۵ میکرولیتر dNTP با غلظت ۲۰ mm، ۱ میکرولیتر از غلظت ۱۰ pmol از آغازگرهای SrRNA ۱۶ که توالی آن‌ها در جدول شماره ۱ ذکر گردیده است (با محصول آمپلیکون ۱۵۵ جفت بازی)، یک واحد آنزیم Taq polymerase و یک میکرولیتر از DNA ژنومی که با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسید.

واکنش در ۳۰ سیکل شامل مراحل واسرشت اولیه (Initial Denaturation) در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه، واسرشت (Denaturation) در دمای ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص اتوبویوم واژینا

اندازه ی جفت باز	سکانس	پرایمرها	دمای انلینگ	هدف
۱۵۵	AV F AV R	5'-TAGGTCAGGAGTTAAATCTG-3' 5'-TCATGGCCCAGAAGACCGCC-3'	۶۰°C	تشخیص اتوبویوم واژینا

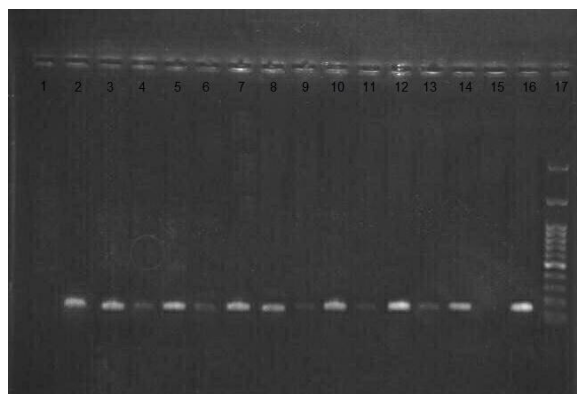
آزمایشگاهی تشخیص داده شد. میانگین سنی افراد تحت مطالعه $28 \pm 2/5$ (در محدوده سنی بیماران ۱۸-۳۵ سال) بود. میزان pH در زنان تحت مطالعه $4/5 \pm 0/5$ بود. در آزمایش مستقیم با افزودن محلول ۱۰٪ KOH بر روی ترشحات

نتایج

در میان ۱۰۲ زن مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید اکبر آبادی تهران، واژینوز باکتریایی در ۳۸ نمونه (۳۷٪)، ۲۵ (۶۵٪) با عامل اتوبویوم واژینا تا روش‌های تشخیص

از موعد نوزادان می‌گردد. باکتری گاردنلا واژینالیس، آتوپویوم واژینا و گونه‌های موبیلونکوس به طور اختصاصی با این عارضه در ارتباط بوده‌اند. واژینوز باکتریال از شایع‌ترین اختلالات واژن و در میان زنان سنین باروری است که ۵۰-۴۰٪ زنان سنین باروری به آن دچار می‌شوند. افتراق آتوپویوم واژینا از سایر باکتری‌های جنس آتوپویوم بر مبنای ژن 16 srRNA می‌باشد که تفاوت این ناحیه ژنی برای آتوپویوم واژینا با سایر باکتری‌های این جنس حدود ۸-۳ درصد متفاوت است [۲۰، ۵]. مطالعه‌ی حاضر، اولین مطالعه در ارتباط با آتوپویوم واژینا در واژینوز باکتریایی در ایران می‌باشد. اگرچه واژینوز باکتریایی یک عفونت حاد نمی‌باشد و عفونت خفیف محسوب می‌شود اما باعث وزن کم نوزاد در هنگام تولد، زایمان زودرس، عفونت‌های التهابی لگن، سیستیت، پیلونفریت و عفونت‌های ادراری می‌شود [۱-۴]. در بررسی حاضر، تمامی بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی در سنین باروری در حد فاصل ۱۸-۳۵ سال قرار داشتند. در این پژوهش از محیط اختصاصی کلمبیا آگار حاوی سه آنتی‌بیوتیک و محیط بلادآگار برای کشت و روش PCR برای جداسازی باکتری آتوپویوم واژینا استفاده گردید. محیط کلمبیا آگار حاوی ۳ آنتی‌بیوتیک آمفوتریسین، نالیدیکسیک اسید و کلیستین بوده که مانع رشد باکتری‌های گرم منفی و گرم مثبت فلور نرمال واژن و قارچ‌ها می‌شود. آتوپویوم واژینا در ۷۸-۵۰٪ زنان دارای واژینوز باکتریایی مشاهده می‌شود [۲۱-۲۴]. که با مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد. در این مطالعه از ۱۰۲ نمونه‌ی ترشحات واژینال، ۳۸ مورد واژینوز باکتریایی تشخیص داده شد که از این ۳۸ مورد واژینوز باکتریایی، ۲۵ مورد (۶۵٪) آتوپویوم واژینا یافت شد. در مطالعه‌ی که توسط فردریک و مارازو صورت گرفت [۲۵]، حساسیت و اختصاصیت آتوپویوم واژینا را در واژینوز باکتریایی ۹۶٪ و ۸۰٪ گزارش کردند. تشخیص آتوپویوم واژینا از مایع واژن زنان سالم دشوار می‌باشد اما در بیماران دارای واژینوز باکتریایی طبق مطالعات بورتون حدود ۵۰٪ [۲۳، ۲۶، ۲۷] که با مطالعه‌ی حاضر تقریباً همخوانی دارد. طبق

واژینال، بوی ماهی‌گندیده به وضوح قابل استشمام بود. حساسیت و ویژگی آزمایش مستقیم به ترتیب ۸۰٪ و ۸۷٪ و کشت (کلنی‌های ریز سفید-خاکستری، برآمده، بدون همولیز) ۹۰٪ به دست آمد. پس از تکثیر و الکتروفورز محصول PCR مشاهده باند در ناحیه ۱۵۵ bp (شکل-۱)، ۳۸ نمونه با عامل آتوپویوم واژینا شناسایی شد. نتایج مثبت PCR مستقیم از نمونه بالینی و کشت دارای حساسیت و ویژگی ۹۵٪ و ۸۰٪ بود. پس از بلاست نمودن توالی سکانس ایزوله‌های به دست آمده مطالعه ما با سکانس ثبت شده از باکتری آتوپویوم واژینا در بانک ژنی با شماره ثبت شده KU513754.1 همولوژی ۹۸٪ مشاهده شد. بین آزمایش مستقیم، کشت و روش مولکولی PCR ارتباط معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$).



شکل ۱. عکس ژل آگاروز الکتروفورز شده نمونه‌های واژینال. لاین ۱ نمونه‌ی منفی آتوپویوم واژینا. لاین ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰، ۳۱، ۳۲، ۳۳، ۳۴، ۳۵، ۳۶، ۳۷، ۳۸، ۳۹، ۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۳، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۷، ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۵۵، ۵۶، ۵۷، ۵۸، ۵۹، ۶۰، ۶۱، ۶۲، ۶۳، ۶۴، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴، ۷۵، ۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۴، ۸۵، ۸۶، ۸۷، ۸۸، ۸۹، ۹۰، ۹۱، ۹۲، ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۶، ۹۷، ۹۸، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۱، ۱۰۲، ۱۰۳، ۱۰۴، ۱۰۵، ۱۰۶، ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۰۹، ۱۱۰، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۴، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۱۷، ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۰، ۱۲۱، ۱۲۲، ۱۲۳، ۱۲۴، ۱۲۵، ۱۲۶، ۱۲۷، ۱۲۸، ۱۲۹، ۱۳۰، ۱۳۱، ۱۳۲، ۱۳۳، ۱۳۴، ۱۳۵، ۱۳۶، ۱۳۷، ۱۳۸، ۱۳۹، ۱۴۰، ۱۴۱، ۱۴۲، ۱۴۳، ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۳، ۱۵۴، ۱۵۵، ۱۵۶، ۱۵۷، ۱۵۸، ۱۵۹، ۱۶۰، ۱۶۱، ۱۶۲، ۱۶۳، ۱۶۴، ۱۶۵، ۱۶۶، ۱۶۷، ۱۶۸، ۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۱، ۱۷۲، ۱۷۳، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۷۷، ۱۷۸، ۱۷۹، ۱۸۰، ۱۸۱، ۱۸۲، ۱۸۳، ۱۸۴، ۱۸۵، ۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۸۹، ۱۹۰، ۱۹۱، ۱۹۲، ۱۹۳، ۱۹۴، ۱۹۵، ۱۹۶، ۱۹۷، ۱۹۸، ۱۹۹، ۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴، ۲۰۵، ۲۰۶، ۲۰۷، ۲۰۸، ۲۰۹، ۲۱۰، ۲۱۱، ۲۱۲، ۲۱۳، ۲۱۴، ۲۱۵، ۲۱۶، ۲۱۷، ۲۱۸، ۲۱۹، ۲۲۰، ۲۲۱، ۲۲۲، ۲۲۳، ۲۲۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۲۷، ۲۲۸، ۲۲۹، ۲۳۰، ۲۳۱، ۲۳۲، ۲۳۳، ۲۳۴، ۲۳۵، ۲۳۶، ۲۳۷، ۲۳۸، ۲۳۹، ۲۴۰، ۲۴۱، ۲۴۲، ۲۴۳، ۲۴۴، ۲۴۵، ۲۴۶، ۲۴۷، ۲۴۸، ۲۴۹، ۲۵۰، ۲۵۱، ۲۵۲، ۲۵۳، ۲۵۴، ۲۵۵، ۲۵۶، ۲۵۷، ۲۵۸، ۲۵۹، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۲، ۲۶۳، ۲۶۴، ۲۶۵، ۲۶۶، ۲۶۷، ۲۶۸، ۲۶۹، ۲۷۰، ۲۷۱، ۲۷۲، ۲۷۳، ۲۷۴، ۲۷۵، ۲۷۶، ۲۷۷، ۲۷۸، ۲۷۹، ۲۸۰، ۲۸۱، ۲۸۲، ۲۸۳، ۲۸۴، ۲۸۵، ۲۸۶، ۲۸۷، ۲۸۸، ۲۸۹، ۲۹۰، ۲۹۱، ۲۹۲، ۲۹۳، ۲۹۴، ۲۹۵، ۲۹۶، ۲۹۷، ۲۹۸، ۲۹۹، ۳۰۰، ۳۰۱، ۳۰۲، ۳۰۳، ۳۰۴، ۳۰۵، ۳۰۶، ۳۰۷، ۳۰۸، ۳۰۹، ۳۱۰، ۳۱۱، ۳۱۲، ۳۱۳، ۳۱۴، ۳۱۵، ۳۱۶، ۳۱۷، ۳۱۸، ۳۱۹، ۳۲۰، ۳۲۱، ۳۲۲، ۳۲۳، ۳۲۴، ۳۲۵، ۳۲۶، ۳۲۷، ۳۲۸، ۳۲۹، ۳۳۰، ۳۳۱، ۳۳۲، ۳۳۳، ۳۳۴، ۳۳۵، ۳۳۶، ۳۳۷، ۳۳۸، ۳۳۹، ۳۴۰، ۳۴۱، ۳۴۲، ۳۴۳، ۳۴۴، ۳۴۵، ۳۴۶، ۳۴۷، ۳۴۸، ۳۴۹، ۳۵۰، ۳۵۱، ۳۵۲، ۳۵۳، ۳۵۴، ۳۵۵، ۳۵۶، ۳۵۷، ۳۵۸، ۳۵۹، ۳۶۰، ۳۶۱، ۳۶۲، ۳۶۳، ۳۶۴، ۳۶۵، ۳۶۶، ۳۶۷، ۳۶۸، ۳۶۹، ۳۷۰، ۳۷۱، ۳۷۲، ۳۷۳، ۳۷۴، ۳۷۵، ۳۷۶، ۳۷۷، ۳۷۸، ۳۷۹، ۳۸۰، ۳۸۱، ۳۸۲، ۳۸۳، ۳۸۴، ۳۸۵، ۳۸۶، ۳۸۷، ۳۸۸، ۳۸۹، ۳۹۰، ۳۹۱، ۳۹۲، ۳۹۳، ۳۹۴، ۳۹۵، ۳۹۶، ۳۹۷، ۳۹۸، ۳۹۹، ۴۰۰، ۴۰۱، ۴۰۲، ۴۰۳، ۴۰۴، ۴۰۵، ۴۰۶، ۴۰۷، ۴۰۸، ۴۰۹، ۴۱۰، ۴۱۱، ۴۱۲، ۴۱۳، ۴۱۴، ۴۱۵، ۴۱۶، ۴۱۷، ۴۱۸، ۴۱۹، ۴۲۰، ۴۲۱، ۴۲۲، ۴۲۳، ۴۲۴، ۴۲۵، ۴۲۶، ۴۲۷، ۴۲۸، ۴۲۹، ۴۳۰، ۴۳۱، ۴۳۲، ۴۳۳، ۴۳۴، ۴۳۵، ۴۳۶، ۴۳۷، ۴۳۸، ۴۳۹، ۴۴۰، ۴۴۱، ۴۴۲، ۴۴۳، ۴۴۴، ۴۴۵، ۴۴۶، ۴۴۷، ۴۴۸، ۴۴۹، ۴۵۰، ۴۵۱، ۴۵۲، ۴۵۳، ۴۵۴، ۴۵۵، ۴۵۶، ۴۵۷، ۴۵۸، ۴۵۹، ۴۶۰، ۴۶۱، ۴۶۲، ۴۶۳، ۴۶۴، ۴۶۵، ۴۶۶، ۴۶۷، ۴۶۸، ۴۶۹، ۴۷۰، ۴۷۱، ۴۷۲، ۴۷۳، ۴۷۴، ۴۷۵، ۴۷۶، ۴۷۷، ۴۷۸، ۴۷۹، ۴۸۰، ۴۸۱، ۴۸۲، ۴۸۳، ۴۸۴، ۴۸۵، ۴۸۶، ۴۸۷، ۴۸۸، ۴۸۹، ۴۹۰، ۴۹۱، ۴۹۲، ۴۹۳، ۴۹۴، ۴۹۵، ۴۹۶، ۴۹۷، ۴۹۸، ۴۹۹، ۵۰۰، ۵۰۱، ۵۰۲، ۵۰۳، ۵۰۴، ۵۰۵، ۵۰۶، ۵۰۷، ۵۰۸، ۵۰۹، ۵۱۰، ۵۱۱، ۵۱۲، ۵۱۳، ۵۱۴، ۵۱۵، ۵۱۶، ۵۱۷، ۵۱۸، ۵۱۹، ۵۲۰، ۵۲۱، ۵۲۲، ۵۲۳، ۵۲۴، ۵۲۵، ۵۲۶، ۵۲۷، ۵۲۸، ۵۲۹، ۵۳۰، ۵۳۱، ۵۳۲، ۵۳۳، ۵۳۴، ۵۳۵، ۵۳۶، ۵۳۷، ۵۳۸، ۵۳۹، ۵۴۰، ۵۴۱، ۵۴۲، ۵۴۳، ۵۴۴، ۵۴۵، ۵۴۶، ۵۴۷، ۵۴۸، ۵۴۹، ۵۵۰، ۵۵۱، ۵۵۲، ۵۵۳، ۵۵۴، ۵۵۵، ۵۵۶، ۵۵۷، ۵۵۸، ۵۵۹، ۵۶۰، ۵۶۱، ۵۶۲، ۵۶۳، ۵۶۴، ۵۶۵، ۵۶۶، ۵۶۷، ۵۶۸، ۵۶۹، ۵۷۰، ۵۷۱، ۵۷۲، ۵۷۳، ۵۷۴، ۵۷۵، ۵۷۶، ۵۷۷، ۵۷۸، ۵۷۹، ۵۸۰، ۵۸۱، ۵۸۲، ۵۸۳، ۵۸۴، ۵۸۵، ۵۸۶، ۵۸۷، ۵۸۸، ۵۸۹، ۵۹۰، ۵۹۱، ۵۹۲، ۵۹۳، ۵۹۴، ۵۹۵، ۵۹۶، ۵۹۷، ۵۹۸، ۵۹۹، ۶۰۰، ۶۰۱، ۶۰۲، ۶۰۳، ۶۰۴، ۶۰۵، ۶۰۶، ۶۰۷، ۶۰۸، ۶۰۹، ۶۱۰، ۶۱۱، ۶۱۲، ۶۱۳، ۶۱۴، ۶۱۵، ۶۱۶، ۶۱۷، ۶۱۸، ۶۱۹، ۶۲۰، ۶۲۱، ۶۲۲، ۶۲۳، ۶۲۴، ۶۲۵، ۶۲۶، ۶۲۷، ۶۲۸، ۶۲۹، ۶۳۰، ۶۳۱، ۶۳۲، ۶۳۳، ۶۳۴، ۶۳۵، ۶۳۶، ۶۳۷، ۶۳۸، ۶۳۹، ۶۴۰، ۶۴۱، ۶۴۲، ۶۴۳، ۶۴۴، ۶۴۵، ۶۴۶، ۶۴۷، ۶۴۸، ۶۴۹، ۶۵۰، ۶۵۱، ۶۵۲، ۶۵۳، ۶۵۴، ۶۵۵، ۶۵۶، ۶۵۷، ۶۵۸، ۶۵۹، ۶۶۰، ۶۶۱، ۶۶۲، ۶۶۳، ۶۶۴، ۶۶۵، ۶۶۶، ۶۶۷، ۶۶۸، ۶۶۹، ۶۷۰، ۶۷۱، ۶۷۲، ۶۷۳، ۶۷۴، ۶۷۵، ۶۷۶، ۶۷۷، ۶۷۸، ۶۷۹، ۶۸۰، ۶۸۱، ۶۸۲، ۶۸۳، ۶۸۴، ۶۸۵، ۶۸۶، ۶۸۷، ۶۸۸، ۶۸۹، ۶۹۰، ۶۹۱، ۶۹۲، ۶۹۳، ۶۹۴، ۶۹۵، ۶۹۶، ۶۹۷، ۶۹۸، ۶۹۹، ۷۰۰، ۷۰۱، ۷۰۲، ۷۰۳، ۷۰۴، ۷۰۵، ۷۰۶، ۷۰۷، ۷۰۸، ۷۰۹، ۷۱۰، ۷۱۱، ۷۱۲، ۷۱۳، ۷۱۴، ۷۱۵، ۷۱۶، ۷۱۷، ۷۱۸، ۷۱۹، ۷۲۰، ۷۲۱، ۷۲۲، ۷۲۳، ۷۲۴، ۷۲۵، ۷۲۶، ۷۲۷، ۷۲۸، ۷۲۹، ۷۳۰، ۷۳۱، ۷۳۲، ۷۳۳، ۷۳۴، ۷۳۵، ۷۳۶، ۷۳۷، ۷۳۸، ۷۳۹، ۷۴۰، ۷۴۱، ۷۴۲، ۷۴۳، ۷۴۴، ۷۴۵، ۷۴۶، ۷۴۷، ۷۴۸، ۷۴۹، ۷۵۰، ۷۵۱، ۷۵۲، ۷۵۳، ۷۵۴، ۷۵۵، ۷۵۶، ۷۵۷، ۷۵۸، ۷۵۹، ۷۶۰، ۷۶۱، ۷۶۲، ۷۶۳، ۷۶۴، ۷۶۵، ۷۶۶، ۷۶۷، ۷۶۸، ۷۶۹، ۷۷۰، ۷۷۱، ۷۷۲، ۷۷۳، ۷۷۴، ۷۷۵، ۷۷۶، ۷۷۷، ۷۷۸، ۷۷۹، ۷۸۰، ۷۸۱، ۷۸۲، ۷۸۳، ۷۸۴، ۷۸۵، ۷۸۶، ۷۸۷، ۷۸۸، ۷۸۹، ۷۹۰، ۷۹۱، ۷۹۲، ۷۹۳، ۷۹۴، ۷۹۵، ۷۹۶، ۷۹۷، ۷۹۸، ۷۹۹، ۸۰۰، ۸۰۱، ۸۰۲، ۸۰۳، ۸۰۴، ۸۰۵، ۸۰۶، ۸۰۷، ۸۰۸، ۸۰۹، ۸۱۰، ۸۱۱، ۸۱۲، ۸۱۳، ۸۱۴، ۸۱۵، ۸۱۶، ۸۱۷، ۸۱۸، ۸۱۹، ۸۲۰، ۸۲۱، ۸۲۲، ۸۲۳، ۸۲۴، ۸۲۵، ۸۲۶، ۸۲۷، ۸۲۸، ۸۲۹، ۸۳۰، ۸۳۱، ۸۳۲، ۸۳۳، ۸۳۴، ۸۳۵، ۸۳۶، ۸۳۷، ۸۳۸، ۸۳۹، ۸۴۰، ۸۴۱، ۸۴۲، ۸۴۳، ۸۴۴، ۸۴۵، ۸۴۶، ۸۴۷، ۸۴۸، ۸۴۹، ۸۵۰، ۸۵۱، ۸۵۲، ۸۵۳، ۸۵۴، ۸۵۵، ۸۵۶، ۸۵۷، ۸۵۸، ۸۵۹، ۸۶۰، ۸۶۱، ۸۶۲، ۸۶۳، ۸۶۴، ۸۶۵، ۸۶۶، ۸۶۷، ۸۶۸، ۸۶۹، ۸۷۰، ۸۷۱، ۸۷۲، ۸۷۳، ۸۷۴، ۸۷۵، ۸۷۶، ۸۷۷، ۸۷۸، ۸۷۹، ۸۸۰، ۸۸۱، ۸۸۲، ۸۸۳، ۸۸۴، ۸۸۵، ۸۸۶، ۸۸۷، ۸۸۸، ۸۸۹، ۸۹۰، ۸۹۱، ۸۹۲، ۸۹۳، ۸۹۴، ۸۹۵، ۸۹۶، ۸۹۷، ۸۹۸، ۸۹۹، ۹۰۰، ۹۰۱، ۹۰۲، ۹۰۳، ۹۰۴، ۹۰۵، ۹۰۶، ۹۰۷، ۹۰۸، ۹۰۹، ۹۱۰، ۹۱۱، ۹۱۲، ۹۱۳، ۹۱۴، ۹۱۵، ۹۱۶، ۹۱۷، ۹۱۸، ۹۱۹، ۹۲۰، ۹۲۱، ۹۲۲، ۹۲۳، ۹۲۴، ۹۲۵، ۹۲۶، ۹۲۷، ۹۲۸، ۹۲۹، ۹۳۰، ۹۳۱، ۹۳۲، ۹۳۳، ۹۳۴، ۹۳۵، ۹۳۶، ۹۳۷، ۹۳۸، ۹۳۹، ۹۴۰، ۹۴۱، ۹۴۲، ۹۴۳، ۹۴۴، ۹۴۵، ۹۴۶، ۹۴۷، ۹۴۸، ۹۴۹، ۹۵۰، ۹۵۱، ۹۵۲، ۹۵۳، ۹۵۴، ۹۵۵، ۹۵۶، ۹۵۷، ۹۵۸، ۹۵۹، ۹۶۰، ۹۶۱، ۹۶۲، ۹۶۳، ۹۶۴، ۹۶۵، ۹۶۶، ۹۶۷، ۹۶۸، ۹۶۹، ۹۷۰، ۹۷۱، ۹۷۲، ۹۷۳، ۹۷۴، ۹۷۵، ۹۷۶، ۹۷۷، ۹۷۸، ۹۷۹، ۹۸۰، ۹۸۱، ۹۸۲، ۹۸۳، ۹۸۴، ۹۸۵، ۹۸۶، ۹۸۷، ۹۸۸، ۹۸۹، ۹۹۰، ۹۹۱، ۹۹۲، ۹۹۳، ۹۹۴، ۹۹۵، ۹۹۶، ۹۹۷، ۹۹۸، ۹۹۹، ۱۰۰۰، ۱۰۰۱، ۱۰۰۲، ۱۰۰۳، ۱۰۰۴، ۱۰۰۵، ۱۰۰۶، ۱۰۰۷، ۱۰۰۸، ۱۰۰۹، ۱۰۱۰، ۱۰۱۱، ۱۰۱۲، ۱۰۱۳، ۱۰۱۴، ۱۰۱۵، ۱۰۱۶، ۱۰۱۷، ۱۰۱۸، ۱۰۱۹، ۱۰۲۰، ۱۰۲۱، ۱۰۲۲، ۱۰۲۳، ۱۰۲۴، ۱۰۲۵، ۱۰۲۶، ۱۰۲۷، ۱۰۲۸، ۱۰۲۹، ۱۰۳۰، ۱۰۳۱، ۱۰۳۲، ۱۰۳۳، ۱۰۳۴، ۱۰۳۵، ۱۰۳۶، ۱۰۳۷، ۱۰۳۸، ۱۰۳۹، ۱۰۴۰، ۱۰۴۱، ۱۰۴۲، ۱۰۴۳، ۱۰۴۴، ۱۰۴۵، ۱۰۴۶، ۱۰۴۷، ۱۰۴۸، ۱۰۴۹، ۱۰۵۰، ۱۰۵۱، ۱۰۵۲، ۱۰۵۳، ۱۰۵۴، ۱۰۵۵، ۱۰۵۶، ۱۰۵۷، ۱۰۵۸، ۱۰۵۹، ۱۰۶۰، ۱۰۶۱، ۱۰۶۲، ۱۰۶۳، ۱۰۶۴، ۱۰۶۵، ۱۰۶۶، ۱۰۶۷، ۱۰۶۸، ۱۰۶۹، ۱۰۷۰، ۱۰۷۱، ۱۰۷۲، ۱۰۷۳، ۱۰۷۴، ۱۰۷۵، ۱۰۷۶، ۱۰۷۷، ۱۰۷۸، ۱۰۷۹، ۱۰۸۰، ۱۰۸۱، ۱۰۸۲، ۱۰۸۳، ۱۰۸۴، ۱۰۸۵، ۱۰۸۶، ۱۰۸۷، ۱۰۸۸، ۱۰۸۹، ۱۰۹۰، ۱۰۹۱، ۱۰۹۲، ۱۰۹۳، ۱۰۹۴، ۱۰۹۵، ۱۰۹۶، ۱۰۹۷، ۱۰۹۸، ۱۰۹۹، ۱۱۰۰، ۱۱۰۱، ۱۱۰۲، ۱۱۰۳، ۱۱۰۴، ۱۱۰۵، ۱۱۰۶، ۱۱۰۷، ۱۱۰۸، ۱۱۰۹، ۱۱۱۰، ۱۱۱۱، ۱۱۱۲، ۱۱۱۳، ۱۱۱۴، ۱۱۱۵، ۱۱۱۶، ۱۱۱۷، ۱۱۱۸، ۱۱۱۹، ۱۱۲۰، ۱۱۲۱، ۱۱۲۲، ۱۱۲۳، ۱۱۲۴، ۱۱۲۵، ۱۱۲۶، ۱۱۲۷، ۱۱۲۸، ۱۱۲۹، ۱۱۳۰، ۱۱۳۱، ۱۱۳۲، ۱۱۳۳، ۱۱۳۴، ۱۱۳۵، ۱۱۳۶، ۱۱۳۷، ۱۱۳۸، ۱۱۳۹، ۱۱۴۰، ۱۱۴۱، ۱۱۴۲، ۱۱۴۳، ۱۱۴۴، ۱۱۴۵، ۱۱۴۶، ۱۱۴۷، ۱۱۴۸، ۱۱۴۹، ۱۱۵۰، ۱۱۵۱، ۱۱۵۲، ۱۱۵۳، ۱۱۵۴، ۱۱۵۵، ۱۱۵۶، ۱۱۵۷، ۱۱۵۸، ۱۱۵۹، ۱۱۶۰، ۱۱۶۱، ۱۱۶۲، ۱۱۶۳، ۱۱۶۴، ۱۱۶۵، ۱۱۶۶، ۱۱۶۷، ۱۱۶۸، ۱۱۶۹، ۱۱۷۰، ۱۱۷۱، ۱۱۷۲، ۱۱۷۳، ۱۱۷۴، ۱۱۷۵، ۱۱۷۶، ۱۱۷۷، ۱۱۷۸، ۱۱۷۹، ۱۱۸۰، ۱۱۸۱، ۱۱۸۲، ۱۱۸۳، ۱۱۸۴، ۱۱۸۵، ۱۱۸۶، ۱۱۸۷، ۱۱۸۸، ۱۱۸۹، ۱۱۹۰، ۱۱۹۱، ۱۱۹۲، ۱۱۹۳، ۱۱۹۴، ۱۱۹۵، ۱۱۹۶، ۱۱۹۷، ۱۱۹۸، ۱۱۹۹، ۱۲۰۰، ۱۲۰۱، ۱۲۰۲، ۱۲۰۳، ۱۲۰۴، ۱۲۰۵، ۱۲۰۶، ۱۲۰۷، ۱۲۰۸، ۱۲۰۹، ۱۲۱۰، ۱۲۱۱، ۱۲۱۲، ۱۲۱۳، ۱۲۱۴، ۱۲۱۵، ۱۲۱۶، ۱۲۱۷، ۱۲۱۸، ۱۲۱۹، ۱۲۲۰، ۱۲۲۱، ۱۲۲۲، ۱۲۲۳، ۱۲۲۴، ۱۲۲۵، ۱۲۲۶، ۱۲۲۷، ۱۲۲۸، ۱۲۲۹، ۱۲۳۰، ۱۲۳۱، ۱۲۳۲، ۱۲۳۳، ۱۲۳۴، ۱۲۳۵، ۱۲۳۶، ۱۲۳۷، ۱۲۳۸، ۱۲۳۹، ۱۲۴۰، ۱۲۴۱، ۱۲۴۲، ۱۲۴۳، ۱۲۴۴، ۱۲۴۵، ۱۲۴۶، ۱۲۴۷، ۱۲۴۸، ۱۲۴۹، ۱۲۵۰، ۱۲۵۱، ۱۲۵۲، ۱۲۵۳، ۱۲۵۴، ۱۲۵۵، ۱۲۵۶، ۱۲۵۷، ۱۲۵۸، ۱۲۵۹، ۱۲۶۰، ۱۲۶۱، ۱۲۶۲، ۱۲۶۳، ۱۲۶۴، ۱۲۶۵، ۱۲۶۶، ۱۲۶۷، ۱۲۶۸، ۱۲۶۹، ۱۲۷۰، ۱۲۷۱، ۱۲۷۲، ۱۲۷۳، ۱۲۷۴، ۱۲۷۵، ۱۲۷۶، ۱۲۷۷، ۱۲۷۸، ۱۲۷۹، ۱۲۸۰، ۱۲۸۱، ۱۲۸۲، ۱۲۸۳، ۱۲۸۴، ۱۲۸۵، ۱۲۸۶، ۱۲۸۷، ۱۲۸۸، ۱۲۸۹، ۱۲۹۰، ۱۲۹۱، ۱۲۹۲، ۱۲۹۳، ۱۲۹۴، ۱۲۹۵، ۱۲۹۶، ۱۲۹۷، ۱۲۹۸، ۱۲۹۹، ۱۳۰۰، ۱۳۰۱، ۱۳۰۲، ۱۳۰۳، ۱۳۰۴، ۱۳۰۵، ۱۳۰۶، ۱۳۰۷، ۱۳۰۸، ۱۳۰۹، ۱۳۱۰، ۱۳۱۱، ۱۳۱۲، ۱۳۱۳، ۱۳۱۴، ۱۳۱۵، ۱۳۱۶، ۱۳۱۷، ۱۳۱۸، ۱۳۱۹، ۱۳۲۰، ۱۳۲۱،

[1] Gergova RT, Strateva TV, Mitov IG. Gardnerella vaginalis-associated bacterial vaginosis in Bulgarian women. *Braz J Infect Dis* 2013; 17: 313-318.

[2] Dermendjiev T, Pehlivanov B, Hadjieva K, Stanev S. [Epidemiological, clinical and microbiological findings in women with aerobic vaginitis]. *Akush Ginekol (Sofia)* 2014; 54: 4-8.

[3] Mitchell CM, Haick A, Nkwopara E, Garcia R, Rendi M, Agnew K, Fredricks DN, Eschenbach D. Colonization of the upper genital tract by vaginal bacterial species in nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 2015; 212: 611.e1-e9.

[4] Machado A, Salgueiro D, Harwich M, Jefferson KK, Cerca N. Quantitative analysis of initial adhesion of bacterial vaginosis-associated anaerobes to ME-180 cells. *Anaerobe* 2013; 23: 1-4.

[5] Polatti F. Bacterial vaginosis, *Atopobium vaginae* and nifuratel. *Curr Clin Pharmacol* 2012; 7: 36-40.

[6] Livengood CH. Bacterial vaginosis: an overview for 2009. *Rev Obstet Gynecol* 2009; 2: 28-37.

[7] Verhelst R, Verstraelen H, Claeys G, Verschraegen G, Delanghe J, Van Simaey L, De Ganck C, Temmerman M, Vaneechoutte M. Cloning of 16S rRNA genes amplified from normal and disturbed vaginal microflora suggests a strong association between *Atopobium vaginae*, *Gardnerella vaginalis* and bacterial vaginosis. *BMC Microbiol* 2004; 4: 16.

[8] Aminzadeh Z, Fadaeian A. Reactive arthritis induced by bacterial vaginosis: prevention with an effective treatment. *Int J Prev Med* 2013; 4: 841.

[9] Africa CW. Efficacy of methods used for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Expert Opin Med Diagn* 2013; 7: 189-200.

[10] Discacciati MG, Simoes JA, Amaral RG, Brolazo E, Rabelo-Santos SH, Westin MC, Montemor EB. Presence of 20% or more clue cells: an accurate criterion for the diagnosis of bacterial vaginosis in Papanicolaou cervical smears. *Diagn Cytopathol* 2006; 34: 272-276.

[11] Chan JF, Lau SK, Curreem SO, To KK, Leung SS, Cheng VC, Yuen K-Y, Woo PC. First report of spontaneous intrapartum *Atopobium vaginae* bacteremia. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2525-2528.

[12] Collins M, Wallbanks S. Comparative sequence analyses of the 16S rRNA genes of *Lactobacillus minutus*, *Lactobacillus rimae* and *Streptococcus parvulus*: proposal for the creation of a new genus *Atopobium*. *FEMS Microbiol Lett* 1992; 95: 235-240.

[13] Jovita MR, 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: 1573-1576.

[14] Kageyama A, Benno Y, Nakase T. Phylogenetic and phenotypic evidence for the transfer of *Eubacterium fossor* to the genus *Atopobium* as *Atopobium fossor* comb. nov. *Microbiol Immunol* 1999; 43: 389-395.

[15] Vos P, Garrity G, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman W. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology: Volume 3: The Firmicutes*: Springer Science & Business Media; 2011.

[16] Mohammadzadeh F, Dolatian M, Jorjani M, Majd HA. Diagnostic value of amsel's clinical criteria for diagnosis of bacterial vaginosis. *Glob J Health Sci* 2015; 7: 8-14.

[17] Bradshaw C, Tabrizi S, Fairley C, Morton A, Rudland E, Garland S. The association of *Atopobium vaginae* and *Gardnerella vaginalis* with bacterial vaginosis and recurrence after oral metronidazole therapy. *J Infect Dis* 2006; 194: 828-836.

مطالعات فریس حدود ۷۰٪ وجود این باکتری در واژینوز باکتریایی تشخیص داده شد که با مطالعه‌ی حاضر همخوانی دارد [۲۱]. در مطالعه ورهلسست [۷] در بیش از ۹۵٪ موارد واژینوز این باکتری مشاهده گردید. این میزان با مطالعه‌ی حاضر همخوانی ندارد که به نظر می‌رسد تفاوت در تعداد نمونه‌ها و کم‌تر بودن این مقدار در مطالعه‌ی حال حاضر دلیل این امر باشد. Bradshaw و همکارانشان در سال ۲۰۰۶ به شناسایی عوامل واژینوز باکتریایی با استفاده از روش real time PCR پرداختند. از بین ۳۵۸ نفر مورد بررسی ۹۶٪ در گروه بیمار مبتلا به واژینوز باکتریایی گونه آتوپوبیوم واژینا شناسایی شد در حالی که این میزان در افراد سالم ۱۲٪ به‌عنوان فلور نرمال گزارش گردید [۱۷]. میزان حساسیت و اختصاصیت روش مولکولی در تشخیص باکتری آتوپوبیوم واژینا به ترتیب ۹۶٪ و ۷۷٪ گزارش شد که این میزان حساسیت و ویژگی با مطالعه حاضر قابل مقایسه و مشابه بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که 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 غیر شایع از گاردنرلا واژینالیس می‌باشد که این شناسایی دقیق به منظور درمان صحیح بیماران، جلوگیری از عوارض جانبی ابتلاء به این باکتری مستلزم استفاده از روش‌های تشخیصی دقیق مانند مولکولی PCR امکان‌پذیر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد. هزینه مالی این تحقیق توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران طبق طرح شماره ۳۰-۰۳-۹۳-۲۵۰۷۲ تامین گردیده است که بدین وسیله از این معاونت کمال تشکر و سپاس‌گذاری را داریم.

منابع

- [23] Burton JP, Devillard E, Cadieux PA, Hammond J-A, Reid G. Detection of *Atopobium vaginae* in postmenopausal women by cultivation-independent methods warrants further investigation. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1829-1831.
- [24] Haahr T, Jensen J, Thomsen L, Duus L, Rygaard K, Humaidan P. Abnormal vaginal microbiota may be associated with poor reproductive outcomes: A prospective study in IVF patients. *Hum Reprod* 2016; 31: 795-803.
- [25] Fredricks DN, Marrazzo JM. Molecular methodology in determining vaginal flora in health and disease: its time has come. *Curr Infect Dis Rep* 2005; 7: 463-470.
- [26] Cartwright CP, Lembke BD, Ramachandran K, Body BA, Nye MB, Rivers CA, Schwebke JR. Development and validation of a semiquantitative, multitarget PCR assay for diagnosis of bacterial vaginosis. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 2321-2329.
- [27] Burton JP, Chilcott CN, AL-QUMBER M, Brooks HJ, Wilson D, Tagg JR, Devenish C. A preliminary survey of *Atopobium vaginae* in women attending the Dunedin gynaecology out-patients clinic: Is the contribution of the hard-to-culture microbiota overlooked in gynaecological disorders? *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2005; 45: 450-452.
- [18] Djukić S, Ćirković I, Arsić B, Garalejić E. [Diagnosis of bacterial vaginosis]. *Srp Arh Celok Lek* 2012; 141: 560-564.
- [19] Ferris MJ, Masztal 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: 5892-5894.
- [20] Backer E, Verhelst R, Verstraelen H, Alqumber MA, Burton JP, Tagg JR, Temmerman M, Vaneechoutte M. Quantitative determination by real-time PCR of four vaginal *Lactobacillus* species, *Gardnerella vaginalis* and *Atopobium vaginae* indicates an inverse relationship between *L. gasseri* and *L. iners*. *BMC Microbiol* 2007; 7: 1.
- [21] Verstraelen H, Verhelst R, Claeys G, Temmerman M, Vaneechoutte M. Culture-independent analysis of vaginal microflora: the unrecognized association of *Atopobium vaginae* with bacterial vaginosis. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191: 1130-1132.
- [22] Ferris MJ, Masztal A, Aldridge KE, Fortenberry JD, Fidel PL, Martin DH. Association of *atopobium vaginae*, a recently described metronidazole resistant anaerobe, with bacterial vaginosis. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 5.

Prevalence *Atopobium vagina* in vaginal samples of symptomatic non-pregnant women

Hamideh Maftoon (M.Sc)¹, Nour Amirmozafari (Ph.D)^{*2}, Maryam Kashanian (M.D)³, Mojgan Oshaghi (Ph.D)⁴

1 - Microbiology Dept., School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

2 - Microbiology Dept., School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 - Obstetrics and Gynecology Dept., School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4 - Laboratory Science Dept., School of Paramedicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received: 20 Feb 2016; Accepted: 25 Jul 2016)

Introduction: Bacterial vaginosis is not a mono-factorial infection. A synergism of microaerophilic bacteria, *Mycoplasma* spp., and anaerobic bacteria such as *Atopobium vaginae*, *Porphyromonas* spp., *Bacteroides* spp., *Prevotella* spp., and others are involved in these infections. The aim of present study was to determine the prevalence of *Atopobium vaginae* in non-pregnant women suffering from bacterial vaginosis.

Materials and Methods: A total of 102 non-pregnant women who referred to ShahidAkbarabadi hospital in Tehran were tested for bacterial vaginosis. In order to isolate *Atopobiumvaginae* the sample was cultured on Colombia agar containing Amphotericin B, Nalidixic acid and Colistin. Additionally, they were simultaneously cultured on blood agar plates containing fresh human blood and Amphotericin B under anaerobic conditions. After extraction DNA from colonies and vaginal specimens, PCR amplification was performed by using specific primers for detection of *Atopobiumvaginae*.

Results: From a total of 102 women who referred to the hospital, 38 cases were confirmed for bacterial vaginosis. With PCR assay, 25 of these 38 cases (%65) were positive for *Atopobiumvaginae*.

Conclusion: This is the first report of isolation of *Atopobiumvaginae* in Iran. The results of this investigation points to a clear association of *Atopobiumvaginae* with bacterial vaginosis and *Atopobiumvaginae* should also be considered as a probable etiological agent.

Keywords: Bacterial Vaginosis, Female, Women, Polymerase Chain Reaction

* Corresponding author. Tel: +98 9123877988

amirmozafari@yahoo.com