

## بررسی ارتباط واژینوزباکتریال با لانه گزینی جنین و سقط زودرس در

### زوجین نازای تحت درمان با تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم

دکتر معصومه حاجی شفیعیها<sup>۱</sup>، دکتر شاکر سالاری لک<sup>۲</sup>، مینو خیری تبار<sup>۳</sup>، دکتر سیامک ناجی<sup>۴</sup>، دکتر مهرداد

مهرداد صدقیانی<sup>۵</sup>، ناهیده صادق اسدی<sup>۶</sup>

<sup>۱</sup> نویسنده مسئول استادیار گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

E-mail: mhajshafiha@gmail.com

<sup>۲</sup> دانشیار گروه اپیدمیولوژی <sup>۳</sup> دانشجوی تخصصی زنان و زایمان <sup>۴</sup> استادیار گروه پاتولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

<sup>۵</sup> استادیار گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران <sup>۶</sup> پرستار بخش نازایی

بیمارستان کوثر، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

#### چکیده

**زمینه و هدف:** با وجودی که روشهای درمان ناباروری پیشرفت چشمگیری داشته است اما درصد لانه گزینی و تولد نوزاد زنده تغییر چندانی پیدا نکرده است. چرا که عدم لانه گزینی و سقط زودرس سبب کاهش درصد تولد زنده در این روشها می گردد. از علل مطرح در بروز مشکلات لانه گزینی و سقط زودرس جنین در این روشها عفونتهای دستگاه تناسلی می باشد. از جمله این عفونتها می توان به واژینوزباکتریال اشاره کرد. در صورت اثبات نقش واژینوزباکتریال در این مشکلات و با توجه به اینکه تشخیص و درمان واژینوزباکتریال آسان و کم هزینه است شاید بتوان با تشخیص و درمان صحیح و قبل از انجام فن آوریهای کمک باروری (Assisted reproductive technology (ART)) احتمال حاملگی و درصد تولد زنده را در این روشها افزایش داد. این مطالعه با هدف تعیین ارتباط واژینوزباکتریال با لانه گزینی و سقط زودرس جنین در زنان تحت درمان با روشهای ناباروری به انجام رسید.

**روش کار:** در این مطالعه ۲۰۹ زن نابارور مراجعه کننده به درمانگاه نازایی کوثر ارومیه که تحت درمان با تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم قرار می گرفتند به روش نمونه گیری در دسترس ساده انتخاب شدند. در هنگام انتقال جنین به داخل رحم، ابتدا با سواپ پنبه استریل نمونه ای از کلدوساک خلفی برداشته شده و روی لام شیشه ای تثبیت وبعد از رنگ آمیزی گرم توسط پاتولوژیست از نظر واژینوزباکتریال درجه بندی گردید. پس از اخذ نمونه، انتقال جنین انجام شده و سپس ارتباط واژینوزباکتریال با لانه گزینی جنین و سقط زودرس مورد مطالعه قرار گرفت. داده ها وارد نرم افزار SPSS شده و با استفاده از آزمونهای آماری واریانس یکطرفه و کای دو مورد آنالیز قرار گرفتند. سطح معنی دار از نظر آماری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

**یافته ها:** در نازایی با فاکتور لوله و مشکلات تخمک گذاری شیوع واژینوزباکتریال بیشتر از دیگر علل بود ( $p = 0.013$ ). شیوع حاملگی در بیماران دچار واژینوزباکتریال نسبت به فلور طبیعی و بینابینی تفاوت معنی دار نداشت. از نظر بروز سقط زودرس نیز تفاوت آماری معنی داری بین بیماران با واژینوزباکتریال و فلور طبیعی و بینابینی دیده نشد.

**نتیجه گیری:** شیوع واژینوزباکتریال در بیماران نابارور بیشتر از جمعیت عمومی بوده و در بیماران نازا با فاکتور لوله و مشکلات تخمک گذاری بیشتر از دیگر علل نازایی می باشد ولی بر میزان بارور شدن تخمک تأثیری ندارد.

**کلمات کلیدی:** واژینوز باکتریال؛ لانه گزینی؛ سقط زودرس؛ تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم

دریافت: ۸۹/۲/۶ پذیرش: ۸۹/۱۰/۱۰

لطفاً به این مقاله به شکل زیر ارجاع دهید:

**مقدمه**

اولین تولد نوزاد زنده بدنبال لقاح آزمایشگاهی<sup>۱</sup> در سال ۱۹۷۸ صورت گرفت [۱]. از آن زمان تاکنون تغییرات بسیاری در زمینه القای تخمک گذاری، نحوه فرآوری تخمک، تکنیک های کشت تخمک و جنین، روشهای حفظ جنین و تکنیک های انتقال آن ایجاد شده است. طی این مدت تکنیک تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم<sup>۲</sup> انقلابی در درمان زوجهای نابارور ایجاد کرده است. امروزه از ICSI در درمان ناباروری های مردانه، فاکتور لوله، نازایی با مشکلات تخمک گذاری و نازایی های دیگر استفاده می شود [۳،۲].

اگرچه روش ICSI در مقایسه با روشهای متداول IVF با موفقیت بیشتری همراه بوده ولی در این روش نیز میزان نیل به هدف نهایی که همان تولد نوزاد زنده و سالم است بطور کامل تامین نمی گردد. با وجود افزایش پیشرونده موفقیت اولیه (بارداری) و نهایی (تولد نوزاد زنده) در روش ICSI هنوز هم این میزان موفقیت بسته به مراکز درمان ناباروری بین ۲۵ تا ۵۰ درصد متغیر می باشد [۵،۴]. یکی از مشکلات عمده در بروز عدم موفقیت، عدم لانه گزینی جنین و اختلال در طی مراحل اولیه تکامل جنین در رحم می باشد. بررسی ها نشان داده اند که میزان لانه گزینی و پیشرفت حاملگی در زنان مبتلا به عفونتهای دستگاه تناسلی بخصوص بیماریهای منتقله از راه جنسی کاهش می یابد. میکروارگانیسم های کانال سرویکس می توانند با ورود به حفره رحم محیط طبیعی آندومتر را برهم زده، عناصر سیستم دفاعی را فعال ساخته و بر روند لانه گزینی تأثیر منفی بگذارند [۹-۶].

از عفونتهای مطرح شده در این زمینه می توان به واژینوزباکتریال اشاره کرد واژینوزباکتریال که در دید کلی عفونت محسوب نمی شود در اثر توزیع

نادرست فلورمیکروبی طبیعی واژن بوجود می آید. فلور طبیعی واژن عمدتاً از نوع هوازی است و بطور متوسط شش گونه مختلف باکتریایی در تشکیل آن مشارکت دارند که شایعترین آنها لاکتوباسیلهای مولد پراکسید هیدروژن است. در بررسی میکروسکوپی ترشحات طبیعی واژن، تعداد زیادی سلولهای اپی تلیال سطحی، تعداد اندکی گلبول سفید خونی و تعداد ناچیزی سلول ابری<sup>۳</sup> دیده می شود. سلولهای ابری از نوع سلولهای سطحی اپیتلیوم واژن هستند که باکتریها (معمولاً گاردنرلا واژینالیس) به آنها می چسبند و در دید میکروسکوپی حاشیه سلولها را محو می کنند. واژینوزباکتریایی نوعی تغییر در فلور باکتریایی طبیعی واژن است که به از بین رفتن لاکتوباسیلهای مولد پراکسید هیدروژن و رشد بیش از حد باکتریها با غلبه بی هوازی ها می انجامد. در زنان مبتلا به واژینوزباکتریال غلظت بی هوازی ها و گاردنرلا واژینالیس و مایکوپلازما هومینیس به ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر زنان طبیعی می رسد و در این بیماران معمولاً لاکتوباسیلها وجود ندارند [۱۰].

باکتریهای بی هوازی در کمتر از ۱٪ زنان سالم یافت می شود. در واژینوزباکتریال، آزمایش میکروسکوپی ترشحات واژن، افزایش تعداد سلولهای ابری را نشان می دهد که در موارد پیشرفته ۲۰٪ سلولهای اپیتلیال را تشکیل می دهند. عفونتهای واژن و سرویکس می توانند سبب آندومتریوت حاد شده و بدین وسیله باعث اختلال در لانه گزینی گردند [۱۲،۱۱]. حتی در خانمهای بدون علائم کلینیکی واژینوزباکتریال می تواند سبب آندومتریوت گردد [۱۵-۱۳]. وجود خونریزی رحمی غیرطبیعی در عفونتهای واژینوزباکتریال حاکی از اینست که این عفونت محدود به قسمت تحتانی دستگاه تناسلی نبوده بلکه سبب آندومتریوت هم می شود [۱۶]. در مطالعات نشان داده شده که حضور سلولهای Th<sub>2</sub> و اینترکولین های IL<sub>4</sub> و IL<sub>10</sub> برای لانه گزینی و تشکیل

<sup>1</sup> In Vitro Fertilization (IVF)<sup>2</sup> Intra Cytoplasmic Sperm Injection (ICSI)<sup>3</sup> Clue

زنان با باروری ناموفق بطورمعنی دار بیشتر از زنان با باروری موفق بوده است [۱۹]. در مطالعه بومسما<sup>۴</sup> و همکاران که روی ۱۹۸ بیمار تحت IVF انجام شد قبل از انتقال جنین از ترشحات سرویکس اسمیر جهت رنگ آمیزی گرم از نظر واژینوزباکتریال تهیه گردید و هم زمان از ترشحات حفره رحم نیز نمونه جهت بررسی غلظت ۱۷ مدياتور التهابی گرفته شد. در این مطالعه شیوع واژینوزباکتریال ۱۸/۶٪ گزارش شد. در بیماران با تشخیص واژینوزباکتریال (نمره بالای ۶) ارتباط مثبتی بین اینترکولین B و حضور واژینوزباکتریال دیده شد. در این بیماران ارتباط منفی بین وجود اگزوتوکسین و واژینوز باکتریال وجود داشت. از نظر سیتوکینهای التهابی و پیش التهابی تفاوتی بین زنان مبتلا و غیر مبتلا در ترشحات آندومتر دیده نشد، ولی در کل اثر این مدياتورها روی پذیرش آندومتر برای لانه گزینی جنین هنوز نامعلوم است [۲۰].

علت نتایج متفاوت در این مطالعات می تواند عواملی همچون حجم کم نمونه بررسی شده، در نظر نگرفتن فاکتورهای مداخله گر، استفاده از روشهای غیراستاندارد ICSI و از همه مهمتر اختلاف ویژگیهای منطقه ای در این زمینه باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر واژینوزباکتریال روی لانه گزینی و سقط زودرس در بین بیماران تحت ICSI می باشد چرا که مطالعات مختلف نتایج متفاوتی را گزارش نموده اند تا در صورت رسیدن به نتایج قطعی با تشخیص و درمان واژینوزباکتریال قبل از ICSI بتوان میزان موفقیت روش ICSI را افزایش داد.

### روش کار

حجم نمونه با استفاده از فرمول ۱۶۰ نفر محاسبه گردید که با افزایش حدود ۲۰٪ حجم نمونه کلا<sup>۴</sup> ۲۰۰ نفر تعیین شد.

بافت تروفوبلاستیک ضروری است [۱۷]. فعالیت سلولهای Th<sub>2</sub> توسط سلولهای Th<sub>1</sub> و سیتوکینهای پیش التهابی کاهش می یابد و باکتریهای پاتوژن وارد شده به رحم می توانند تعادل Th<sub>2</sub>/Th<sub>1</sub> را بهم زده، در نتیجه التهاب حفره رحم می تواند سبب عدم لانه گزینی یا بروز سقط زودرس گردد [۱۷]. در بیماران با فلور واژن غیرطبیعی میزان IL1 و IL8 بالاتر از زنان با فلورواژینال نرمال می باشد [۱۸]. در واژینوزباکتریال لاکتوباسیلهای واژن کاهش یافته لذا تولید پر اکسید هیدروژن کم می شود. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به سالم ماندن فلور واژن کمک می کند. مشاهده شده وجود پر اکسید هیدروژن در نوک کاتتر انتقال جنین با افزایش میزان تولد زنده همراه است [۷].

مطالعات محدودی در زمینه تاثیر واژینوزباکتریال بر نتایج ICSI و IVF صورت گرفته که نتایج این مطالعات اندک نیز با هم متفاوت بوده است در مطالعه اکرت لو<sup>۱</sup> ارتباط بین واژینوزباکتریایی و التهاب را با میزان حاملگی و سقط زودرس در بیماران IVF شده بررسی و در نتایج حاملگی در خانمها با واژینوزباکتریال ۳۰٪، فلوربینایی ۳۹٪ و فلور طبیعی ۵۲٪ گزارش گردید. در این مطالعه سقط زودرس در بیماران با واژینوزباکتریال ۳۳٪ در فلور بینایی ۴۲٪ و در فلور طبیعی ۳۱٪ رخ داده بود [۱۱].

این مطالعه نشان داد که در بیمارانی که تحت IVF قرار می گیرند واژینوز باکتریال ممکن است درصد حاملگی را کاهش داده و سبب افزایش سقط زودرس گردد [۱۱]. در مطالعه لیوردج<sup>۲</sup> نشان داده شد که واژینوزباکتریال تاثیری روی میزان موفقیت IVF ندارد [۱۶]. در مطالعه اسپاندرفور<sup>۳</sup> نیز ارتباطی بین واژینوزباکتریال با نتایج IVF مشاهده نشد [۱۸]. در مطالعه نصر اصفهانی و همکاران نشان داده شد که حضور باکتریهای بالقوه پاتوژن در آندوسرویکس

<sup>1</sup> Eckert LO

<sup>2</sup> Liversedge

<sup>3</sup> Spandorfer

<sup>4</sup> Boomsma

$$N = \frac{\{(Z_2 - \alpha/2 + Z_2 - \beta)^2 \times \{P_2(1-P_2) + P_2(1-P_2)\}}{(P_1 - P_2)^2}$$

از روش نمونه‌گیری در دسترس جهت تعیین افراد نمونه استفاده گردید.

برای زوجهای نازای مراجعه کننده به درمانگاه نازایی ابتدا آنالیز مایع منی، هیستروسالپینگوگرافی و آزمایشات هورمونی در روز سوم سیکل درخواست گردید. بیماران براساس علت نازایی تحت درمانهای مختلفی قرار گرفتند. بیمارانی که مشکل مردانه شدیدداشتند یا بیماران با مشکلات تخمک گذاری، نازایی های بدون علت که به تحریک تخمک گذاری و تلقیح داخل رحمی مایع منی پاسخ نداده بودند، بیماران با مشکلات لوله و بیمارانی که به IVF پاسخ نداده بودند کاندیدای انجام ICSI شدند، بیمارانی که هیدروسالپینکس داشتند یا زنان سیکاری همچنین زنان با عفونت آشکار واژینال، داشتن سابقه سقط مکرر و زنان با مشکلات آناتومیال رحمی از مطالعه حذف گردیدند.

بیماران وارد شده به مطالعه با پروتکل دراز مدت تحت تحریک کنترل شده تخمدان قرار گرفتند [۱] به این ترتیب که در روز ۱۹ یا ۲۰ سیکل قاعدگی تحت سونوگرافی واژینال با دستگاه توشیبا مدل ۲۴۰A-۵۵A ساخت ژاپن قرار گرفتند در صورت نداشتن کیست برای بیمار آگونیست GnRH<sup>۱</sup> با نام ژنریک باسرلین<sup>۲</sup> و اسم تجارتي سوپرفکت<sup>۳</sup> ساخت آلمان با دوز ۰/۵ میلی گرم زیر جلدی روزانه از روز ۲۱ سیکل تجویز گردید، سپس بیمار در روز اول یا دوم قاعدگی مراجعه نموده مجدد سونو واژینال برای وی انجام گردید. در صورت نداشتن مشکل سوپرفکت با نصف دوز قبلی ادامه یافت و همچنین آمپول HMG<sup>۴</sup> با نام تجارتي منوگون<sup>۵</sup> ساخت کشور

آلمان برای بیمار تجویز گردید. تعداد آمپول HMG بر اساس سن بیمار، سطح هورمونها، پاسخگویی قبلی به درمان، حجم تخمدان، تعداد فولیکولهای بازال در سونوگرافی تعیین گردید. سپس با سونوگرافی واژینال سریال رشد فولیکولها مورد ارزیابی قرار گرفت. دوز HMG افزایش یا کاهش داده شد تا اینکه حداقل ۴-۲ فولیکول به قطر ۱۸-۱۷ میلی متر رسید سپس برای القای بلوغ نهایی فولیکول، آمپول HCG<sup>۶</sup> با نام تجارتي پرگنیل ساخت ایران با دوز ۵ تا ۱۰ هزار واحد عضلانی تجویز گردید، ۳۴ تا ۳۶ ساعت بعد، اسپیراسیون تخمکها با هدایت گاید سونو واژینال در اتاق عمل انجام گرفت. بعد از آن، اسپرم آماده شده توسط جنین شناس بخش IVF بدخل سیتوپلاسم تخمک تزریق و آمبریو در انکوباتور و محیط کشت مخصوص رشد، نگهداری می شد. چهل و هشت تا هفتاد و دو ساعت بعد از پانکچر در صورت وجود حداقل یک جنین با کیفیت خوب، انتقال جنین بدخل حفره رحم با جنین تازه، با کاتتر لابتکت<sup>۷</sup> ساخت کشور آلمان انجام می شد.

جهت انتقال جنین ابتدا بیمار در وضعیت لیتوتومی قرار گرفته اسپیکولوم استریل گذاشته می شد بعد از نمایان شدن دهانه رحم از تمام بیماران (بدون توجه به وجود یا عدم وجود علائم بالینی واژینوزباکتریال) ابتدا با سوآپ پنبه‌ای استریل نمونه‌ای از کلدوساک خلفی برداشته شده و روی لام شیشه‌ای فیکس گردید. (از آنجا که واژینوزباکتریال می‌تواند علائم کلینیکیال نداشته باشد در این مطالعه از تمام بیماران تحت ICSI حین انتقال اسمیر تهیه می شد). سپس سرویکس با سرم فیزیولوژی شستشو داده شده ترشحات آندوسرویکس با سوآپ پنبه‌ای برداشته شد و بعد با استفاده از کاتتر دو جداره لابتکت عمل انتقال جنین انجام گرفت بدین ترتیب که ابتدا روکش خارجی از کانال سرویکس عبور داده شد (با اجتناب از

<sup>1</sup> Gonadotropin-Releasing Hormone

<sup>2</sup> Buserlin

<sup>3</sup> Superfact

<sup>4</sup> Human Menopausal Gonodotrophin

<sup>5</sup> Menogon

<sup>6</sup> Human Chorionic Gonadotropin

<sup>7</sup> Labotect

βHCG سرم و حاملگی بالینی با مشاهده ساک حاملگی و فتال پل در هفته ششم توسط سونوگرافی تعیین گردید و تا سن ۱۲ هفته بارداری‌ها از نظر سقط زودرس پیگیری شدند. سپس حاملگی بالینی و میزان سقط زودرس بر اساس نوع فلور واژن طبقه بندی و مورد بررسی قرار گرفت.

پس از جمع آوری داده‌ها و ورود آنها به رایانه درصد فراوانی، شاخص‌های مرکزی و میانگین و میانه جهت توصیف داده‌ها در گروهها استفاده شد. جهت مقایسه متغیرهای کمی از آزمون تی مستقل و جهت مقایسه متغیرهای کیفی از آزمون کای اسکور استفاده شد.

این مطالعه مورد تایید کمیته منطقه‌ای اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ارومیه قرار گرفت و از کلیه افراد مورد مطالعه رضایت کتبی آگاهانه اخذ شد و با توجه به اینکه نمونه حین انتقال جنین تهیه می شد برای بیمار ویزیت اضافه و بار مالی به همراه نداشت.

### یافته ها

تعداد ۲۰۹ بیمار ناباروری که تحت عمل ICSI قرار گرفتند وارد مطالعه شدند نتیجه پاتولوژی این بیماران نشان داد که ۱۰۵ (۵۰/۲٪) بیمار فلور نرمال، ۶۶ بیمار (۳۱/۶٪) واژینوز بینابینی و ۳۸ بیمار (۱۸/۲٪) واژینوزباکتریال داشتند. آزمون آماری واریانس یک طرفه از نظر سنی تفاوت معنی داری را بین سه گروه نشان نداد ( $p=0/735$ ).

از نظر علت نازایی بیماران به ۴ دسته تقسیم شدند شامل فاکتور مردانه، فاکتور لوله، عدم تخمک گذاری و آندومتریوز و ناشناخته (جدول ۱).

جدول ۱. فراوانی علل نازایی در بیماران مورد مطالعه	
علت نازایی	تعداد بیماران (درصد)
فاکتور مردانه	۱۱۷ (۵۶٪)
فاکتور لوله	۳۶ (۱۷/۲٪)
عدم تخمک گذاری	۹ (۴/۳٪)
آندومتریوز و ناشناخته	۴۷ (۲۲/۵٪)

هرگونه تماس بین کاتتر و دیواره واژن و آگزوسرویکس) با رسیدن کاتتر به سوراخ داخلی و عبورغلاف داخلی حاوی جنین به رحم، جنین در فاصله تخمینی ۱ تا ۱/۵ سانتیمتری فوندوس رها گردید.

نمونه ای که توسط سواپ پنبه ای از کلدوساک خلفی برداشته شد روی اسلاید شیشه‌ای کشیده شده و با الکل ثابت و خشک گردید. سپس اسلاید تحت رنگ آمیزی گرم قرار گرفت و توسط پاتولوژیست از نظر درجه واژینوزباکتریال بررسی گردید برحسب نوع باکتریهای موجود رتبه بندی انجام گرفت. در این رتبه بندی لاکتوباسیلها، باکتریهای شبه گاردنرلا و باکتریوئید و همچنین شبه موبیلونکوس مورد تاکید بودند [۲۱] رتبه ۰ تا ۳ نرمال، رتبه ۴ تا ۶ بینابینی و رتبه ۷ تا ۱۰ به عنوان واژینوزباکتریال طبقه بندی شدند [۲۱]. نحوه نمره‌دهی بر اساس جدول زیر انجام گرفت.

نمره رنگ آمیزی گرم اسمیر واژینال برای تشخیص واژینوزباکتریال

نمره بر اساس موارد زیر داده می شود		
نمره	تعداد در هر میدان	ارگانیزم
۰	>۳۰	
۱	۵-۳۰	لاکتوباسیلوس (گرم مثبت، میله ای و موازی با هم)
۲	۱-۵	
۳	<۱	
۴	۰	
۴	>۳۰	شبه گاردنرلا
۳	۵-۳۰	شبه باکتریوئیدها (کوکوباسیلها، کوچک و گردشده، گرم منفی میله ای چند شکلی دارای حفره)
۲	۱-۵	
۱	<۱	
۰	۰	
۲	۵-۳۰	شبه موبیلونکوس ها (میله ای گرم منفی خمیده)
۱	۰-۵	
۰	۰	
مجموع نمرات و تفسیر کلی آن		
امتیاز	تفسیر	
۰-۳	نرمال	
۴-۶	بینابینی	
۷-۱۰	واژینوز باکتریال	

لانه گزینی جنین یا حاملگی بیوشیمیایی ۱۴ روز پس از انتقال جنین به رحم مادر برحسب مثبت شدن نتیجه

نتایج رنگ آمیزی گرم ترشحات واژن بر اساس علت نازایی نشان داد که در بیماران با فاکتور لوله و مشکلات تخمک گذاری شیوع واژینوزباکتریال بیشتر است. ( $p=0/013$ ) (جدول ۲).

از نظر تعداد تخمک بدست آمده، تخمکهای بارور شده، تعداد جنینهای منتقل شده و کیفیت آمبریوها اختلافی بین سه گروه وجود نداشت. بر اساس آزمون واریانس یک طرفه اختلاف آماری معنی دار دیده نشد. (جدول ۳)

از ۲۰۹ بیمار که ICSI شده بودند ( $68/32/5$ ) ۶۸ مورد منجر به حاملگی شد. رخداد حاملگی در بیماران با فلور نرمال ( $35/33/3$ )، در بیماران با فلور

بینابینی ( $20/30/3$ )، در بیماران با واژینوزباکتریال ( $13/34/2$ ) بود که بر اساس آزمون کای دو  $p=0/892$  تفاوت آماری معنی داری بین سه گروه دیده نشد. (جدول ۴)

از نظر شیوع سقط زودرس (یعنی تا هفته ۱۲ حاملگی) همانگونه که در جدول ۵ مشاهده میشود از ۶۸ مورد حاملگی ( $23/33/8$ ) ۲۳ مورد سقط شد که شیوع سقط زودرس بر اساس فلور واژن در جدول ۵ آورده شده است، با استفاده از آماری آزمون کای دو تفاوت معنی داری بین سه گروه دیده نشد ( $p=0/44$ )

در نازایی با فاکتور مردانه از ۴۱ مورد حاملگی ۹

جدول ۲. درصد نوع فلور واژن بر اساس علت نازایی

نوع فلور واژن	واژینوزباکتریال	بینابینی	فلور نرمال
فاکتور مردانه	۱۶ ( $13/7$ )	۳۵ ( $29/9$ )	۶۶ ( $56/4$ )
فاکتور لوله	۱۳ ( $36/1$ )	۹ ( $25$ )	۱۴ ( $38/9$ )
فاکتور تخمک گذاری	۳ ( $33/3$ )	۳ ( $33/3$ )	۳ ( $33/3$ )
نازایی بدون علت و آندومتریتوز	۶ ( $12/8$ )	۱۹ ( $40/4$ )	۲۲ ( $46/8$ )

جدول ۳. تعداد تخمک بدست آمده، بارور شده و تعداد جنینهای منتقل شده بر اساس نوع فلور واژن

فلور واژن	واژینوز باکتریال	بینابینی	فلور طبیعی	pv
تعداد کل بیماران در هر گروه	۳۸ ( $18/2$ )	۶۶ ( $31/6$ )	۱۰۵ ( $50/2$ )	۰/۲
تعداد تخمک بدست آمده	۸/۴۲ ± ۴/۵۴	۷/۰۲ ± ۴/۴۱	۷/۱۷ ± ۳/۸۲	۰/۸۱
تعداد تخمک بارور شده	۳/۳۷ ± ۲/۲۷	۳/۱۸ ± ۱/۸۸	۳/۱۵ ± ۱/۵۴	۰/۹۶
تعداد آمبریوی ترانسفر شده	۳/۱۶ ± ۱/۴۹	۳/۰۸ ± ۱/۶۲	۳/۱۱ ± ۱/۴۸	۰/۱۹

جدول ۴. بروز حاملگی بر اساس نوع فلور واژن

نوع فلور واژن	فلور طبیعی	واژینوزباکتریال	بینابینی	کل
نتیجه BHCG مثبت	۳۵ ( $33/3$ )	۱۳ ( $34/2$ )	۲۰ ( $30/3$ )	۶۸ ( $32/5$ )
منفی	۷۰ ( $66/7$ )	۲۵ ( $65/8$ )	۴۶ ( $69/7$ )	۱۴۱ ( $67/5$ )
کل	۱۰۵ ( $100$ )	۳۸ ( $100$ )	۶۶ ( $100$ )	۲۰۹ ( $100$ )

جدول ۵. بروز سقط زودرس بر اساس نوع فلور واژن

رنگ آمیزی گرم اسمیر واژن	فلور طبیعی	واژینوزباکتریال	بینابینی	کل
سقط شده	۹ ( $25/7$ )	۴ ( $30/8$ )	۱۰ ( $50$ )	۲۳ ( $33/8$ )
سقط نشده	۲۶ ( $74/3$ )	۹ ( $69/2$ )	۱۰ ( $50$ )	۴۵ ( $66/2$ )
کل	۳۵ ( $100$ )	۱۳ ( $100$ )	۲۰ ( $100$ )	۶۸ ( $100$ )

بیوپسی آندومتر تغییرات هیستوپاتولوژیک آندومتریوت را نشان می دهند [۲۵].

در مطالعاتی شیوع واژینوزباکتریال در نازایی با فاکتور لوله و عدم تخمک گذاری ۳-۲ برابر نسبت به دیگر علل نازایی گزارش شده است [۱۲]. در مطالعه حاضر نیز شیوع واژینوزباکتریایی در نازایی با فاکتور لوله و عدم تخمک گذاری ۲/۵ برابر علل دیگر نازایی می باشد که با مطالعات قبلی هماهنگی دارد. افزایش مشخص میزان واژینوزباکتریال در زنان با نازایی به علت عدم تخمک گذاری نیز ناشی از اثرات هورمونی آشکار بر روی فلور واژن می باشد.

مطالعات مختلف نیز نشانگر ارتباط بین تغییرات فلور واژینال و سیکل قاعدگی است که تحت تاثیر هورمونی می باشد.

میزان حاملگی و ارتباط آن با فلور واژن در مطالعات متفاوت می باشد. در مطالعات مختلف میزان حاملگی در بیماران با واژینوزباکتریال از ۱۵/۸٪ تا ۳۰٪ گزارش شده است [۱۹،۱۳،۱۱]. در مطالعه ما این میزان ۳۴/۲٪ بود. در مطالعه حاضر سقط زودرس در زنان با فلور بینابینی بیشتر از گروههای با فلور طبیعی و واژینوز باکتریال بود که با مطالعه اکرت لو هماهنگی دارد [۱۱].

در مطالعات مختلف شیوع سقط زودرس در بیماران با واژینوزباکتریال از ۱۶/۷٪ تا ۳۳٪ گزارش شده [۱۳،۱۱] در مطالعه ما ۳۰/۸٪ بود.

تفاوت در نتایج مطالعات مختلف و مطالعه ما می تواند ناشی از عوامل متعددی باشد. حجم کم نمونه بررسی شده، استفاده بی رویه بیماران از آنتی بیوتیکها، استفاده از روشهای غیر استاندارد ICSI، عدم بررسی تمام میکروارگانیسم ها و مهمتر از همه اختلاف ویژگیهای منطقه ای در این زمینه می تواند زمینه ساز این اختلافات باشد.

مورد (۲۲٪)، در نازایی با فاکتور لوله از ۹ مورد حاملگی ۶ مورد (۶۷٪) در نازایی با فاکتور مشکلات تخمک گذاری از ۴ مورد حاملگی ۳ مورد (۷۵٪) و در نازایی بدون علت از ۱۴ مورد حاملگی ۵ مورد (۳۵/۷٪) سقط زودرس دیده شد. در بیماران با نازایی به علت مشکلات تخمک گذاری و فاکتور لوله شیوع سقط زودرس بیشتر از گروههای دیگر بود که این از نظر آماری نیز معنی دار بود ( $p=0/000$ ).

### بحث

در حال حاضر ۵-۱۰٪ زوجها دچار نازایی می باشند و علیرغم اینکه روشهای ART روزبه روز پیشرفته تر شده و امروزه از روش ICSI جهت به حداکثر رساندن لقاح و تشکیل جنین استفاده می گردد ولی همچنان درصد لانه گزینی و حاملگی در روشهای کمک باروری افزایش چندانی نشان نمی دهد. این مشکل می تواند از عوامل موثر بر لانه گزینی در حفره رحم ناشی گردد [۱۲]. یکی از عوامل مطرح در ایجاد اختلال در لانه گزینی عفونتهای دستگاه تناسلی می باشد. از عفونتهای مطرح می توان به واژینوزباکتریال اشاره کرد.

شیوع واژینوزباکتریال در بیمارانی که تحت ART قرار گرفته اند از ۴٪ تا ۴۰٪ گزارش شده است [۲۲،۲۰،۱۸،۱۶،۱۱]. در مطالعه ما شیوع واژینوزباکتریال در بیماران نازای تحت ICSI، ۱۸/۲٪ بود. در مطالعات شیوع واژینوزباکتریال در افراد نازا از ۲۴/۳٪ تا ۴۵٪ نیز گزارش شده است [۱۳-۱۱]. در حالی که شیوع واژینوزباکتریال در جمعیت عمومی، توسط واحد ژنیکولوژی مامایی انگلستان ۱۵-۱۱٪ گزارش شده است [۲۴،۲۳]. یکی از دلایل بالا بودن شیوع واژینوزباکتریال در بیمارانی که تحت ART قرار می گیرند تغییرات هورمونی است که در طی ART ایجاد می گردد. از سویی دیگر مشخص شده است در این روشها چون دستکاریهای مختلفی روی رحم در طول درمان انجام می گیرد، ۹٪ آنها در

### نتیجه گیری

در مطالعه حاضر شیوع واژینوز باکتریال در بیماران نازای تحت درمان با ICSI بیشتر از جمعیت عمومی گزارش شده در واحد ژنیکولوژی انگلستان بود. شیوع آن در بیماران با فاکتور لوله و مشکلات تخمک گذاری بیشتر از دیگر علل نازایی بود ولی از نظر بروز حاملگی و سقط زودرس تفاوت آماری معنی داری بین واژینوز باکتریال و بیماران با فلور نرمال و بینابینی دیده نشد.

نشده، لذا غربالگری و درمان واژینوز باکتریال در بیماران نازایی که تحت IVF یا ICSI قرار می گیرند، به نظر غیر مفید می رسد، اما احتمال دارد که درمان واژینوز باکتریال باعث کاهش عوارض دیررس حاملگی شود. از طرف دیگر، مصرف آنتی بیوتیکها ممکن است سبب تغییر فلورواژینال شده و محصولات پراکسید هیدروژن لاکتوباسیها را کاهش داده و نهایتاً سبب کاهش میزان حاملگی گردند.

### تشکر و قدردانی

از مرکز تحقیقات بهداشت باروری ارومیه که ما را در انجام این مطالعه یاری نمودند، قدردانی می گردد.

### پیشنهادات

با توجه به اینکه در مطالعه ما ارتباطی بین واژینوز باکتریال و سقط زودرس و لانه گزینی جنین دیده

### References

- 1- Speroff L. Assisted reproductive technologies. In: Speroff L, Fritz MA, editors. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2005: 1215-16.
- 2- Palermo G, Joris H, Devereoy P, Van steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet. 1992 Jul 4; 340(8810):17-18.
- 3- Mansour R. Intracytoplasmic sperm injection: A state of the art technique. Hum Reprod Update. 1998 Jan-Feb;4(1):43-56.
- 4- Tarlakis BC. Report on the activities of the ESHRE task force on intracytoplasmic sperm injection. European Society of Human reproduction and Embryology. Hum Reprod. 1996 Dec; 11 (Suppl 4) :160-85.
- 5- Gwendolyn H W., Jan AMK, Didi DMB, Eric JHM. Intracytoplasmic sperm injection: a review of risks and complications. BJUI. 2005 Oct; 96(6):749-753.
- 6- Schwarzer JU, Fidler K, Hertwig I, Krusmann G, Wurfel W, Schleyer M, et al. Sperm retrieval procedures and intracytoplasmic spermatozoa injection with epididymal and testicular sperms. Urol Int. 2003; 70(2):119-23.
- 7- Moore DE, Soules MR, Klein NA, Fujimoto VY, Agnew KJ, Eschenbach DA. Bacteria in the transfer catheter tip influence the live-birth rate after in fertilization. Fertil Steril. 2000 Dec; 74(6):1118-24.
- 8- Tabibzadeh S, Babaknia A. The signals and molecular pathways involved in implantation, a symbiotic interaction between blastocyst and endometrium involving adhesion and tissue invasion. Hum Reprod. 1995 Jun; 10(6):1579-602.
- 9- Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg AS, Bengtsson AC, Wikland M. The outcome of Intracytoplasmic sperm injection is unrelated to 'strict criteria ' sperm morphology. Hum Reprod. 1996 May; 11(5):1019-22.
- 10- Janathan S. Berek MD, MMS, Genitourinary infections and sexually transmitted diseases. Berek as Novak's Gynecology. 4<sup>th</sup> ed, 2007: 542-543.



- 11- Eckert LO, Moore DE, Patton DL, Agnew KJ, Eschenbach DA. Relationship of vaginal bacteria and inflammation with conception and early pregnancy loss following in-vitro fertilization. *Infect Dis Obstet Gynecol.* 2003; 11(1):11-7.
- 12- Mehrafza M, Heidarzadeh A, Jafari M, Oudi M, Aram R, Tavakolnia R, et al. Survey of the effect of cervix microbial flora on outcome of intra cytoplasmic sperm injection. *J Guilan Univ Med Sci.* 2007; 16(61):1-8 (Full text in Persian)
- 13- Korn AP, Bolan G, padian N, Ohm-Smith M, Schachter J, Landers DV. Plasma cell endometritis in women with symptomatic bacterial vaginosis. *Obstet Gynecol.* 1995 Mar; 85(3):387-90.
- 14- Hillier SL, Kiviat NB, Hawes SE, Hasselquist MB, Hanssen PW, Eschenbach DA, et al. Role of bacterial vaginosis associated microorganisms in endometritis. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Aug; 175(2):435-41.
- 15- Wiesefeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Amortegui AJ, Heine RP, Landers DV, et al. Lower genital tract infection and endometritis; insight into subclinical pelvic inflammatory disease. *Obstet Gynecol.* 2002 Sep; 100(3):456-63.
- 16- Liversedge MG, Turner A, Horner PJ, Keay SD, Jenkins JM, Hull MG. The influence of bacterial vaginosis on in-vitro fertilization and embryo implantation during assisted reproduction treatment. *Hum Reprod.* 1999 Sep; 14(9):2411-5.
- 17- Robertson S. Control of the immunological environment of the uterus. *Rev Reprod.* 2000 Sep; 5(3):164-74.
- 18- Spandorfer SD, Neuer A, Giraldo PC, Rosenwaks Z, Witkin SS. Relationship of abnormal vaginal flora, proinflammatory cytokine and idiopathic infertility in women undergoing IVF. *J Reprod Med.* 2001 Sep; 46(9):806-10.
- 19- Nasr Esfahani MH, Fazeli SA, Kianpoor F, Tabibian SA, Ahmadi SM, Kalantari SA, et al. The effect of bacterial flora of cervical canal on fertility outcome in patients referring to Isfahan fertility and infertility center. *J Reprod Infertil.* 2003;4(4):280-287. (Full text in Persian)
- 20-Boomsma CM, Kavelaars A, Bozkurt N, Eijkemans MJ, Fauser BC, Heijnen CJ, et al. Is bacterial vaginosis associated with a pro-inflammatory cytokine profile in endometrial secretions of women undergoing IVF? *Reprod Biomed Online.* 2010 July; 21(1): 133-41.
- 21- Hillier SL, Krohn MA, Nugent RP. The relationship of vaginal microorganism and clinical signs to a bacterial vaginosis score based on vaginal gram smear. *27th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 1987; P: 102.
- 22- Wilson JD, Ralph SG, Rutherford AJ. Rates of bacterial vaginosis in women undergoing in vitro fertilization for different types of infertility. *BJOG.* 2002 Jun; 109(6):714-7.
- 23- Hay PE, Lamont RF, Taylor- Robinson D, Morgan DI, Ison C, Pearson J. Abnormal bacterial colonization of the genital tract and subsequent preterm delivery and late miscarriage. *BMJ.* 1994 Jan; 308(6924):295-8.
- 24- Hay PE, Morgan DJ, Ison CA, Bhide SA, Romney M, Mckenzi P, et al. A longitudinal study of bacterial vaginosis during pregnancy *Br J Obstet Gynaecol.* 1994 Dec; 101(12):1048-53.
- 25- Kiviat NB, Wølner-Hanssen P, Eschenbach DA, Wasserheit JN, Paavonen JA, Bell TA, et al. Endometrial histopathology in patients with culture-proved upper genital tract infection and laparoscopically diagnosed acute salpingitis. *Am J Surg Pathol.* 1990 Feb;14(2):167-75.

## Evaluation of Relationship between Bacterial Vaginosis and Embryo Implantation and Early Abortion in Infertile Couple Curing with Intra Cytoplasmic Sperm Injection

Hajishafiha M, MD<sup>1</sup>; Salari Lac SH, PhD<sup>2</sup>; Khairi Tabar M, MD<sup>3</sup>; Najj S, MD<sup>4</sup>; Sadaghiani M, MD<sup>5</sup>; Asadi N, BSc<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Corresponding Author: Assistant Prof. of Obstetrics and Gynecology Dept., School of Medicine Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran. E-mail:mhajshafiha@gmail.com

<sup>2</sup>Associate Prof. of Community Medicine Dept., School of Medicine Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

<sup>3</sup>Resident of Obstetrics and Gynecology, Urmia university of Medical sciences, Urmia, Iran,

<sup>4</sup>Assistant Prof. of Pathology Dept. School of Medicine Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran,

<sup>5</sup>Assistant Prof. of Obstetrics and Gynecology Dept., School of Medicine, Tabriz University of Medical sciences, Tabriz, Iran.

<sup>6</sup>Nurse, Infertility Clinic, Kosar Hospital, Urmia University of Medical sciences, Urmia, Iran.

### ABSTRACT

**Background & objectives:** Today there is a significant progress in the treatment of female infertility but there is no main improvement for the rate of implantation and live birth. This is because of non-implantation and early abortion that lead to decrease the rate of live birth. Genital infections such as bacterial vaginosis are common cause of this problem.

Distinction and treatment of bacterial vaginosis is easy and non-expensive. Treatment of bacterial vaginosis could results in improving the rate of implantation and then live birth.

**Methods:** We considered 209 infertile women treated with ICSI (intra cytoplasmic sperm injection). This study was performed in infertility clinic of KOSAR hospital affiliated to Urmia University of Medical Sciences, Iran.

Before transferring of embryo, a sample was taken from posterior culdesac secretions by sterile cotton swap and fixed it on lamella. Then bacterial vaginitis was graded by a pathologist. The relationship of bacterial vaginosis with implantation and early abortion was studied. Data were entered into SPSS software and analyzed by t-test and Chi-Square test.  $p < 0.05$  is considered statistically significant.

**Results:** Bacterial vaginosis was significantly more frequent in patients with tubal and ovulatory disorder ( $p=0.013$ ). In women undergoing ICSI, bacterial vaginosis was not associated with decreased conception rate ( $p=0.892$ ) and with increased rate of early pregnancy loss ( $p=0.44$ ).

**Conclusion:** Bacterial vaginosis is prevalent in women with infertility. It is also the most important cause of infertility in patients with tubal and ovulatory disorder. Bacterial vaginosis does not affect fertilization rate.

**Key words:** Bacterial Vaginosis, Embryo Implantation, Early Abortion, Intra Cytoplasmic Sperm Injection.