

## بررسی تاثیر فلور میکروبی سرویکس بر موفقیت تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI)

دکتر مرضیه مهرافزا\* - دکتر آبتین حیدرزاده\*\* - دکتر معصومه جعفری\*\*\* - مونا عودی\*\*\*\* - راحله آرام\*\* - دکتر رحیم توکل نیا\*\*\*\*\*  
دکتر احمد حسینی\*\*\*\*\*

\*استادیار گروه زنان و مامایی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، مؤسسه درمان ناباروری مهر

\*\*استادیار گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

\*\*\*متخصص زنان و مامایی، مؤسسه درمان ناباروری مهر

\*\*\*\*کارشناس مامایی، مؤسسه درمان ناباروری مهر

\*\*\*\*\*کارشناس ارشد زیست‌شناسی، مؤسسه درمان ناباروری مهر

\*\*\*\*\*متخصص ارولوژی، مؤسسه درمان ناباروری مهر

\*\*\*\*\*استاد جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، مؤسسه درمان ناباروری مهر

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۴/۵

تاریخ پذیرش: ۸۵/۶/۴

### چکیده

دهانه رحم توسط میکروارگانیسم‌های بالقوه پاتوژن پوشیده شده است که وجود آنها می‌تواند در هنگام انتقال جنین سبب آلودگی آن شود. البته هنوز تاثیر محیط عفونی بر پیامد ICSI مشخص نشده است.

هدف: بررسی تاثیر فلور میکروبی سرویکس در زمان انتقال جنین بر نتیجه ICSI در بیماران مؤسسه درمان ناباروری مهر.

مواد و روش‌ها: در این بررسی مقطعی - توصیفی نمونه کشت از سرویکس ۲۶۰ بیمار با اندیکاسیون ICSI ارزیابی شد. پس از انتقال جنین، در حدود ۳ سانتی متر از نوک کاتتر انتقال قطع و در محیط کشت انتخابی قرار داده می‌شد. بعد از انکوبه کردن در شرایط ویژه کشت و بکارگیری روش‌های متداول، باکتری‌ها جدا و تشخیص داده می‌شدند.  $\beta$ HCG مثبت به منزله حاملگی تلقی شد. بعضی از عوامل مخدوش کننده مانند شاخص‌های اسپرم، سن، مدت نازایی، علت نازایی و کیفیت جنین کنترل شد. تجزیه و تحلیل نهایی با آزمون‌های آماری کای دو، تست تی و آنالیز واریانس بر اساس رگرسیون لجستیک با نرم افزار آماری SPSS 10 انجام و  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج: در مجموع میزان حاملگی با ICSI، ۴۰٪ بود (۱۰۴ از ۲۶۰ مورد). میانگین سنی زنان  $31/6 \pm 6/2$  سال و بیشترین علت نازایی مربوط به عامل مردانه (۴۶/۲٪) و میانگین مدت نازایی  $7/7 \pm 5/5$  سال بود. اکثر جنین‌های تشکیل شده از کیفیت خوب (A) برخوردار بودند (۸۵٪). ۱۴ مورد (۵/۴٪) کشت مثبت و ۲۴۶ مورد (۹۴/۶٪) کشت منفی بدست آمد. از ۱۰۴ مورد حامله ۵ مورد (۴/۹٪) نتیجه کشت مثبت و از ۱۵۶ مورد غیر حامله ۹ مورد (۵/۸٪) نتیجه کشت مثبت گزارش شدند. بین نتیجه کشت و موفقیت بارداری اختلاف آماری معنی دار نبود. نتایج آزمون رگرسیون نشان داد که مدت و علت نازایی، پارامترهای اسپرم (تعداد-حرکت-شکل)، میانگین تعداد تخمک‌ها و تخمک متافاز دو، تسهیم سلولی، جنین منتقل شده، کیفیت جنین و نتیجه کشت میکروبی با موفقیت بارداری ارتباط آماری معنی داری ندارد. بین سن زن و میزان حاملگی ارتباط آماری معنی دار وجود داشت.

نتیجه‌گیری: بنظر می‌رسد کشت مثبت دهانه رحم نقش قابل توجهی در موفقیت بارداری ندارد.

کلید واژه‌ها: انتقال جنین/ تزریق اسپرم داخل سیتوپلاسم/ دهانه رحم/ میزان آبتنی

### مقدمه

انجام شده، میزان حاملگی پایین است (۶-۱) زیرا انتقال جنین و بدنبال آن لانه‌گزینی یکی از مواردی است که نقش مهمی در درمان کمک باروری دارد. بررسی‌ها نشان می‌دهد که میزان جایگزینی جنین و پیشرفت حاملگی در زنان مبتلا به عفونت‌های دستگاه تناسلی

تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم (ICSI) پیشرفت تازه‌ای در روش‌های کمک باروری محسوب می‌شود. به طوری که با وجود تخمک با حتی یک اسپرم زنده امکان باروری وجود دارد. اما با وجود پیشرفت‌هایی که در مورد کشت و آماده‌سازی جنین برای لانه‌گزینی

بخصوص STD، کاهش می‌یابد. یافته‌ها در یک بررسی آزمایشگاهی در موارد IVF-ET نشان داده شد که میزان حاملگی در کشت میکروبی مثبت از کاتر انتقال جنین، پائین است (۷). میکروارگانسیم‌های کانال سرویکس قادرند تا با ورود به حفره رحم، محیط طبیعی آندومتر را برهم زده، عناصر سیستم دفاعی را فعال کنند و بر روند لانه‌گزینی تاثیر منفی بگذارند (۱۶-۸). با این وجود نقش این تجمع میکروبی بر پیامد جایگزینی جنین نامشخص است. نتایج بررسی کریم‌زاده و همکاران نشان داد ارتباط آماری معنی‌دار بین وجود فلور میکروبی دهانه رحم و موفقیت IVF-ICSI وجود ندارد (۱۳). با توجه به نقش باکتری‌ها و فلور میکروبی دهانه رحم در موفقیت IVF، به نظر می‌رسد انجام مطالعه‌های دیگری با کنترل عوامل کیفی و کمی و با استفاده از روش‌های مناسب‌تر برای پیشگیری از انتقال عفونت به جنین الزامی می‌باشد (۱۰-۸ و ۱۷) تا با پی بردن به نوع عامل میکروبی و استفاده از رژیم‌های درمانی مؤثر، پیامد ICSI-ET بهبود یابد. هدف این مطالعه بررسی نقش فلور میکروبی دهانه رحم بر موفقیت IVF-ICSI است.

### مواد و روش‌ها

در این بررسی مقطعی- توصیفی ۲۶۰ نفر از زنان نابارور مراجعه‌کننده به موسسه درمان ناباروری مهر از خرداد تا آبان ماه سال ۱۳۸۴ با اندیکاسیون درمان به روش ICSI-ET مورد بررسی قرار گرفتند. شرایط ورود به مطالعه محدوده سنی ۲۰ تا ۴۰ سال، آندومتر طبیعی براساس بررسی‌های هیستروسکوپی یا اولتراسونوگرافی، نداشتن سابقه عفونت یا ضایعه دهانه رحم در یک یا دو سیکل قبل از شروع درمان در معاینه بالینی (در این صورت درمان مناسب انجام می‌شد) بود. در ابتدا برای کلیه بیماران پرسشنامه اطلاعاتی شامل سن، مدت و علت نازایی و پارامترهای اسپرم تکمیل می‌شد.

همه بیماران پس از توضیح انجام کشت از دهانه رحم و کسب رضایت‌نامه اخلاقی، تحت تحریک کنترل شده تخمدان (COH) با روش طولانی‌مدت (Long Protocol) قرار گرفتند. در روز دوم دوره اولتراسونوگرافی واژینال انجام شده و در صورت مشاهده کیست تخمدان یا ضخامت آندومتر به اندازه کمتر از ۵ میلی‌متر از مطالعه خارج می‌شدند. سپس تزریق روزانه آمپول‌های HMG با دوز ۱۵۰ IU/dl تا ۲۲۵ آغاز می‌شد. با سونوگرافی پیاپی و سنجش استرادیول سرم، در صورت لزوم دوز HMG افزایش داده می‌شد و تا زمان رسیدن حداقل دو فولیکول به قطر ۱۸ میلی‌متر، ادامه می‌یافت. سپس ۱۰۰۰۰ واحد HCG به صورت عضلانی تزریق شده و ۳۶-۳۹ ساعت بعد از آن، اسپیراسیون تخمک‌ها با هدایت اولتراسونوگرافی واژینال انجام می‌شد. درست قبل از دریافت اووسیت، بسته به روش پانکچر به تمام زنان یک دوز واحد آنتی‌بیوتیک (یک گرم سفازولین وریدی) برای کاهش خطر عفونت لگن تجویز می‌شد. ۴۸ تا ۷۲ ساعت بعد از ICSI، در صورت وجود حداقل یک جنین با کیفیت خوب، انتقال جنین (ET) بداخل حفره آندومتر با جنین تازه (Fresh) انجام می‌شد بدین صورت که پس از گذاشتن اسپیکولوم استریل و نمایان شدن دهانه رحم، شستشوی سرویکس با محلول Ham's F10 و گاز استریل انجام گرفته و سپس با استفاده از کاتر دو جداره والاس عمل انتقال جنین توسط تنها یک متخصص زنان انجام می‌شد. بدین ترتیب که ابتدا روکش خارجی از کانال سرویکس عبور داده می‌شد (اجتناب از هر گونه تماس بین کاتر آزمایش و دیواره واژن یا آگزوسرویکس با رسیدن کاتر به سوراخ داخلی و عبور شیت داخلی حاوی جنین با ورود به رحم، جنین در فاصله تخمینی ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متری فوندوس قرار داده می‌شد). بعد از انتقال جنین و خروج کاتر از رحم سه سانتی‌متر از انتهای غلاف داخلی کاتر را بریده و با پنس استریل داخل

(جدول ۱). موفقیت درمان ICSI نشان داد که در ۱۰۴ نفر (۴۰٪) نتیجه تست حاملگی مثبت و در بقیه یعنی ۱۵۶ نفر (۶۰٪) منفی بود. توزیع فراوانی کیفیت جنین منتقل شده به ترتیب شامل: ۲۲۱ مورد (۸۵٪) A، ۳۴ مورد (۱۳/۱٪) B و ۵ مورد (۱/۹٪) C بود. به طور کلی از ۲۲۰۰ اووسیت بدست آمده، (۷۶/۳٪) ۱۶۸۰ عدد اووسیت رسیده تزریق شد.

جدول ۱: توزیع فراوانی علت نازایی-پارامترهای اسپرم و کیفیت

جنین در جمعیت مورد پژوهش

متغیر	تعداد
علت نازایی	
مردانه	۱۲۰ (۴۶/۲)
زنانه	۹۰ (۳۴/۶)
مشترک	۲۲ (۸/۵)
نامشخص	۲۸ (۱۰/۸)
تعداد اسپرم	
< ۵ × ۱۰ <sup>۶</sup>	۵۴ (۲۰/۸)
۵ - ۱۰ × ۱۰ <sup>۶</sup>	۱۶ (۶/۲)
۱۰ - ۲۰ × ۱۰ <sup>۶</sup>	۲۴ (۹/۲)
> ۲۰ × ۱۰ <sup>۶</sup>	۱۶۶ (۶۳/۸)
تحرک اسپرم (٪)	
< ۲۰	۱۱۳ (۴۳/۵)
۲۰ - ۳۰	۱۳ (۵)
> ۳۰	۱۳۴ (۵۱/۵)
مورفولوژی اسپرم (٪)	
< ۴	۷۸ (۳۰)
۴ - ۱۴	۴۵ (۱۷/۳)
> ۱۴	۱۳۷ (۵۲/۷)

تعداد تسهیم سلولی ۱۲۲۲ (۷۲/۷٪)، جنین منتقل شده و جایگزین شده به ترتیب ۷۵۰ (۶۱/۳٪) و ۱۰۰ (۱۳/۳٪) بدست آمد. متغیرهای سن، مدت و علت نازایی، پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک و مورفولوژی)، تعداد تخمک بدست آمده، اووسیت‌های متافاز دو،

محیط کشت (آگار خون گوسفند ۵٪، EMB و نوترین آگار) قرار داده می‌شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت ۵٪ Co2 در جار شمع‌دار انکوبه شده و کلونی‌ها با روش‌های میکروبیولوژی به جز از نظر گونه‌های کلامیدیا و مایکوپلازما بررسی می‌شدند، زیرا فن لازم برای ارزیابی این باکتری‌ها بکار نرفته بود. حاملگی بیوشیمیایی ۱۴ روز بعد از انتقال جنین به رحم مادر برحسب مثبت شدن نتیجه تست  $\beta$ HCG سرم و حاملگی بالینی (PR) در سونوگرافی با مشاهده ساک حاملگی و جنین زنده در هفته ششم تعیین شد. تجزیه و تحلیل نهایی با نرم افزار آماری SPSS.10 و بهره‌گیری از آزمون‌های تی و کای دو انجام شد. متغیرهای وابسته بدلیل احتمال تأثیر بر موفقیت ICSI به عنوان عوامل مخدوش‌کننده در نظر گرفته شدند و شامل سن زن، مدت و علت نازایی، پارامترهای اسپرم، تعداد تخمک بدست آمده، تخمک متافاز دو، تعداد تسهیم، تعداد جنین‌های منتقل شده و کیفیت جنین بود. برای تعیین فاکتورهای مؤثر در موفقیت درمان ICSI آزمون مولتی واریانس بر اساس رگرسیون لجستیک انجام شد.

## نتایج

در این مطالعه ۲۶۰ نفر از زنان نابارور مراجعه کننده به موسسه درمان ناباروری مهر که مورد عمل ICSI قرار گرفتند از نظر موفقیت باروری و کیفیت جنین برحسب نتایج کشت دهانه رحم بررسی شدند. میانگین سنی زنان  $31.6 \pm 6.2$  و میانگین طول مدت نازایی  $7.7 \pm 5.5$  سال بود. عامل مردانه در ۱۲۰ نفر (۴۶/۲٪) بیشترین علت نازایی را شامل می‌شد. تعداد اسپرم در اکثر موارد (۱۶۶ نفر ۶۳/۸٪) بیش از ۲۰ میلیون بود. تحرک اسپرم در اکثر موارد (۱۳۴ نفر ۵۱/۵٪) بیش از ۳۰٪ گزارش شد. براساس ملاک Strict، ساختار طبیعی اسپرم کمتر از ۱۴٪ در ۷۸ نفر (۳۰٪) بدست آمد

جدول ۳: توزیع فراوانی پیامد حاملگی برحسب نوع نتیجه کشت اندوسرویکس در گروه مورد پژوهش

نتیجه کشت پیامد حاملگی	موفق تعداد(%)	غیرموفق تعداد(%)	نتیجه آزمون کای دو
مخمر	۴(۲/۶)	۳(۲/۹)	P>۰/۰۵
اشریشیا کلی	۲(۱/۳)	---	
استافیلوکوک کواگولاز منفی	۱(۰/۶)	۱(۱)	
استافیلوکوک اپیدرمیس	۲(۱/۳)	---	
رشد مختلط	-	۱(۱)	
هیچکدام	۱۴۷(۹۴/۲)	۹۹(۹۶/۱)	
جمع	۱۵۶(۱۰۰)	۱۰۴(۱۰۰)	

### بحث و نتیجه گیری

مطالعه ما نشان داد که بین نتیجه کشت دهانه رحم و موفقیت ICSI اختلاف آماری معنی دار وجود ندارد. دهانه رحم با پاتوژن‌هایی پوشیده شده که قادرند با ورود به حفره رحم، سبب بهم زدن محیط طبیعی آندومتر و حفره رحم شوند و سیستم دفاعی را فعال کنند. از نظر پاتوفیزیولوژی حداقل سه نظریه در مورد کاهش میزان حاملگی در موارد کشت مثبت وجود دارد، طبق نظریه اول تراکم زیاد میکروارگانیسم‌ها در دهانه رحم با آندومتریس تحت بالینی همراه است و پذیرش رحمی را کاهش می‌دهد. نظریه دوم امکان ورود میکروارگانیسم‌ها به داخل فضای رحم در حین انتقال جنین و در نتیجه ایجاد تغییر بیوشیمیایی یا ساختاری در آندومتر را مطرح می‌کند. طبق نظریه سوم، امکان آلودگی مستقیم در هنگام انتقال جنین از دهانه رحم وجود دارد که می‌تواند باعث نقص در لانه‌گزینی آن بشود (۷، ۱۸ و ۱۹). نتایج مطالعه‌های انجام شده بر فلور میکروبی و باکتریایی دهانه رحم و تأثیر آنها بر پیامد تلقیح خارج رحمی نیز مؤید این فرضیه‌هاست (۲۰). نتیجه یک بررسی باکتریولوژی نشان

تسهیم سلولی، جنین‌های منتقل شده و کیفیت جنین در دو گروه با باروری موفق و ناموفق در بیماران دچار آلودگی یا بدون آلودگی کانال سرویکس اختلاف آماری معنی‌دار نبود و نتیجه کشت ترشحات اندوسرویکس در ۲۴۶ مورد (۹۴/۶٪) منفی و تنها در ۱۶ مورد (۵/۴٪) مثبت بدست آمد (جدول ۲) که از این میان، اشریشیاکلی، استافیلوکوک کواگولاز منفی و استافیلوکوک اپیدرمیس هرکدام ۲ مورد (۰/۸٪)، مخمر ۷ مورد (۲/۷٪) و رشد مختلط (Mixed growth) ۱ مورد (۰/۴٪) گزارش شد. توزیع فراوانی نتیجه کشت برحسب رنگ‌آمیزی گرم نیز شامل مخمر در ۷ مورد (۲/۷٪)، گرم منفی در ۲ مورد (۰/۸٪)، گرم مثبت در ۴ مورد (۱/۵٪)، گرم مثبت و منفی تنها ۱ مورد (۰/۴٪) و رشد مختلط در یک مورد (۰/۴٪) بود. نتایج نشان داد که بین کشت ترشحات اندوسرویکس با پیامد حاملگی ارتباط آماری معنی دار وجود ندارد (P>۰/۰۵) (جدول ۳). وجود کلامیدیا در ۲ مورد (۰/۸٪) با رنگ‌آمیزی گیمسا گزارش شد که ارتباط آماری معنی دار با پیامد منفی حاملگی نشان نداد (P>۰/۰۵). پس از دخالت دادن متغیرها (سن زن، علت و مدت نازائی، پارامترهای اسپرم شامل مورفولوژی، تحرک و تعداد، تعداد تخمک و تعداد اووسیت‌های متافاز دو، تسهیم سلولی، جنین منتقل شده و کیفیت جنین) در مدل رگرسیون لجستیک و حذف عوامل مخدوش‌کننده تنها بین سن زن با موفقیت ICSI ارتباط آماری معنی‌دار وجود داشت (P<۰/۰۵) (B=-.06, S.E=0.01, Exp=0.94).

جدول ۲: توزیع فراوانی پیامد حاملگی برحسب نتیجه کشت

اندوسرویکس در گروه مورد پژوهش

نتیجه کشت پیامد حاملگی	موفق تعداد(%)	غیرموفق تعداد(%)	نتیجه آزمون کای دو
مثبت	۵(۴/۸)	۹(۵/۸)	P>۰/۰۵
منفی	۹۹(۹۵/۲)	۱۴۷(۹۴/۲)	
جمع	۱۰۴(۱۰۰)	۱۵۶(۱۰۰)	

ارزیابی تأثیر فلور میکروبی سرویکس در حین انتقال جنین در دوره‌های IVF نشان داد که وجود یا نبودن آلودگی میکروبی تأثیری بر نتیجه درمان ندارد. میزان حاملگی در گروه‌های کشت منفی و مثبت به ترتیب ۱۶/۱ و ۱۴/۳٪ بود. با این حال پیشنهاد کردند مطالعه با حجم نمونه بیشتر انجام شود (۱۳) که در بررسی ما تلاش شد حجم نمونه از مراجعان ICSI بیشتر باشد. توزیع فراوانی نتیجه کشت به صورت مخمر ۷ (۲/۷٪)، گرم منفی ۲ (۰/۸٪)، گرم مثبت ۴ (۱/۵٪)، گرم مثبت و منفی ۱ (۰/۴٪) و رشد مختلط در یک مورد (۰/۴٪) بدست آمد. توزیع فراوانی کمتر فلور میکروبی دهانه رحم نسبت به بررسی‌های دیگر می‌تواند مربوط به استفاده از روش مناسب در هنگام انتقال جنین باشد که تا حدودی از انتقال جرم‌های دهانه سرویکس به داخل رحم جلوگیری نمود که خود در لانه‌گزینی تأثیر مثبت دارد. در مطالعه ما، غربالگری فلورباکتریال سرویکس طبق روش‌های نمونه‌گیری مرسوم (استفاده از سواب استاندارد که حساسیت تشخیصی بیشتری دارد) انجام نشده و ممکن است نتیجه کشت منفی در برخی بیماران، در صورت نمونه‌برداری مستقیم با سواب، مثبت گزارش می‌شد. در تمام موارد انتقال جنین، از کاتتر دولومنه والاس استفاده شد. همانطور که در روش کار ذکر شد ابتدا لومن خارجی وارد شد سپس کاتتر داخلی حاوی جنین از طریق آن و بدون تماس با کانال اندوسرویکس وارد حفره آندومتر شد که شاید دلیل نتایج کشت منفی (۹۴/۶٪) بیشتر کاتتر انتقال جنین نسبت به سایر بررسی‌ها ناشی از همین نکته باشد. Egbase و همکاران با نمونه‌برداری از دهانه رحم با کمک سواب و نوک کاتتر، آلودگی میکروبی را به ترتیب ۷۰/۹٪ و ۴۹/۱٪ گزارش دادند (۲۴). همخوان نبودن نتایج مثبت کشت و نوع فلور میکروبی دهانه رحم با نتایج بررسی‌های مورد مقایسه ممکن است با انجام برخی اقدام‌های پیشگیرانه

داد که با تلقیح آزمایشی اشرشیاکولی به داخل آندومتر رحم موش، این باکتری با اتصال به آندومتر سبب تخریب اپی‌تلیوم آن می‌شود (۲۱). Vaslions و همکاران نیز نشان دادند که وجود آلودگی میکروبی یا موکوس و خون در کاتر انتقال جنین نتایج بارداری موفقیت‌آمیز ناشی از ART را کاهش می‌دهد (۲۲). در بررسی Fanchin و همکاران، نتیجه کشت فلور میکروبی دهانه رحم در زمان انتقال جنین در ۵۱٪ یعنی ۱۴۳ نفر از ۲۷۹ مورد مثبت بود. از این تعداد ۶۴٪ اشرشیاکولی، ۸٪ استرپتوکوک، ۳٪ آنتروباکتر، ۲٪ هموفیلوس و ۱۰٪ مختلط (Mixed) بودند. وجود باکتری‌های بی‌هوازی ۵٪، هوازی و بی‌هوازی با هم ۹٪، گرم منفی ۶۲٪، گرم مثبت ۲۵٪ و گرم مثبت و منفی ۱۳٪ گزارش شد. به نظر آنها فلور باکتریایی دهانه رحم در زمان انتقال جنین بر پیامد لانه‌گزینی تأثیر منفی داشت (۷). اصفهانی و همکاران برای بررسی تأثیر فلور باکتریایی دهانه رحم بر پیامد ICSI نشان دادند که فراوانی اشرشیاکولی ۸/۶٪، استرپتوکوک ۲/۱٪، آنتروکوک ۶/۵٪ و فلور بی‌هوازی ۲/۱٪ بود. نتیجه کشت در گروه بیماران با بارداری موفق ۲۹/۴٪ و در بیماران با بارداری ناموفق ۴۹/۹٪ بود. همچنین بین میزان باروری موفق در بیماران با آلودگی کانال سرویکس (دهانه رحم) ۱۰/۸٪ و بدون آلودگی (۲۲/۲٪) تفاوت آماری معنی‌دار بدست آمد (۶). نتایج بررسی Salim و همکاران میزان شیوع باکتری‌های گرم منفی، پاتوژن‌های بی‌هوازی، گرم مثبت، کاندیدا و مختلط را در بیماران IVF به ترتیب ۱۹٪، ۳۸٪، ۴۶٪، ۱۸٪ و ۲۱٪ گزارش داد و میزان حاملگی در این موارد به ترتیب ۱۰/۵٪، ۲۱/۷٪، ۲۲/۵٪ و ۱۴٪ و درصد باروری در موارد گرم منفی ۸/۱٪ و گرم مثبت ۲۵٪ بود (۱۱). بررسی فلور میکروبی دهانه رحم در ۱۰۰ بیمار IVF توسط قاسمی‌نژاد و همکاران نیز نتایج مشابهی بدست داد (۲۳). در مقابل نتایج مطالعه کریم زاده و همکاران با

مایکوپلازما بررسی اختصاصی انجام نشد، البته گزارش دو مورد آلودگی با کلامیدیا در رنگ آمیزی گیمسا بر نمونه‌های اسمیر مستقیم نتیجه ناموفق حاملگی را در پی داشت که از نظر آماری معنی دار نبود، همچنین ممکنست کمتر بودن درصد فاکتور لوله‌ای نسبت به کتاب مرجع (۱۴٪ در مقابل ۳۵٪) یکی از دلایل کمتر بودن نتایج کشت منفی باشد که شاید ناشی از تفاوت فرهنگی و اجتماعی در کشور باشد (درصد کمتر ابتلا به STD). نتایج چند بررسی در کشورمان نیز نشان‌دهنده میزان کمتر فاکتور لوله ۱۳/۱٪ (۲۷) در یک مورد و ۱۸/۹٪ (۲۸) در موردی دیگر است. بررسی نمونه‌های اندوسرویکس از نظر آلودگی‌های میکروبی (خصوصاً کلامیدیا) در بیماران با علت نازایی لوله‌ای، شاید بتواند تا حدود زیادی به اثبات یا رد نظریه تأثیر فلور میکروبی اندوسرویکس بر موفقیت ICSI کمک کند.

تشکر و قدردانی: با تشکر از آزمایشگاه تشخیص طبی رازی و موسسه مهر بویژه جناب آقای دکتر هدی و آقای دکتر جعفری.

از جمله پاک کردن ترشحات دهانه رحم و نیز استفاده از کاتتر دولومنه والاس قابل توجه باشد (۲۶ و ۲۵). برخلاف بررسی‌های قبلی، در مطالعه حاضر، هنگام پونکسیون تخمدان (طبق بررسی اصفهانی و کریم زاده) و نیز به صورت پروبیلاکسی آنتی بیوتیک داده شد، این امر نیز می‌تواند جرم‌های موجود در دهانه رحم را کاهش دهد.

مطالعه ما جهت تحقیق در مورد باکتری‌های موجود در کاتتر انتقال جنین و تأثیر احتمالی آنها بر روند لانه‌گزینی طراحی شد و هدف آن بررسی فراوانی کامل فلور میکروبی سرویکس نبود. از آنجائی که میزان موفقیت ICSI (۴۰٪) در بررسی حاضر نسبت به سایر بررسی‌های مشابه توسط نصر اصفهانی (۱۷٪) (۶) و Fanchin (۲۱٪) (۷) بیشتر بود، شاید بتوان یکی از علل متفاوت بودن نتایج کشت مثبت را ناشی از تأثیر فلور میکروبی اندوسرویکس دانست. نشان داده شده که وجود گونه‌های کلامیدیا در آندوسرویکس زنان در IVF با کاهش میزان لانه‌گزینی و باروری همراه است. در مطالعه ما در مورد گونه‌های کلامیدیا و

## منابع

1. Moore DE, Soules MR, Klein NA, et al. Bacteria in the Transfer Catheter Tip Influence the Live – Birth Rate after in Vitro Fertilization. *Fertil Steril* 2000; 74(6):1118-24.
2. 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; 10(6):1579-602.
3. Sallam HN. Embryo Transfer the Elusive Step. In: Studd J. *Progress in Obstetrics and Gynecology*. 1st ed. Philadelphia; Churchill Livingstone, 2003:363.
4. Schwarzer JU, Fiedler K, Hertwig I, et al. Sperm Retrieval Procedures and Intracytoplasmic Spermatozoa Injection with Epididymal and Testicular Sperms. *Urol Int* 2003; 70(2):119-23.
5. Svalander P, Jakobsson AH, Forsberg AS, et al. The Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection is Unrelated to 'Strict Criteria' Sperm Morphology. *Hum Reprod* 1996; 11(5):1019-22.
- 6- نصر اصفهانی، محمدحسین؛ [و دیگران]: تأثیر فلور باکتریال سرویکس بر نتایج باروری در مراجعه کنندگان به مرکز باروری و ناباروری اصفهان. فصلنامه پزشکی باروری و ناباروری، ۱۳۸۲؛ دوره ۴ شماره ۴، صص: ۲۸۷-۲۸۰.
7. Fanchin R, Harmas A, Benaoudia F. Microbial Flora of the Cervix Assessed at the Time of Embryo Transfer Adversely Affects in Vitro Fertilization Outcome. *Fertil Steril* 1998; 70(5): 866-70
8. Faro S. Chlamydia Trachomatis: Female Pelvic Infection. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 1767-1770.
9. Raph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of Bacterial Vaginosis on Conception and Miscarriage

- in the First Trimester: Cohort. *BMJ* 1999; 319 (7207): 220-3.
10. Westrom L. Effect of Pelvic Inflammatory Disease on Fertility. *Am J Obstet Gynecol Venereology* 1995; 8(4):219-22
11. Salim R, Ben-Shlomo I, Colodner R, et al. Bacterial Colonization of the Uterine Cervix and Success rate in Assisted Reproduction: Results of a Prospective Survey. *Hum Reprod* 2002; 17(2):337-40.
- ۱۲- بهروزی، رکسانا؛ بادامی، ناصر: بررسی شیوع عفونت‌های کلامیدیایی در زنان باردار بیمارستان‌های دانشگاه علوم پزشکی شهر تهران در سال ۱۳۷۳ (یک مطالعه پیش آزما). *مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مازندران*، ۱۳۷۸، دوره ۹ شماره ۲۳-۲۲، صص: ۳۱-۲۶.
13. Szymanowski K, Szumala-Kakol A, Pawlaczyk M, Laczowska-Pawlaczyk M, Jedrzejczak P. [Bacterial flora of Genital Organs in Women Treated for Infertility]. *Ginekol Pol* 1997; 68(1):41-5.
14. Rovera F, Imperatori A, Militello P, Morri A, Antonini C, Dionigi G, Dominioni L. Infections in 346 Consecutive Video-Assisted Thoracoscopic Procedures. *Surg Infect (Larchmt)* 2003; 4(1):45-51.
15. Andrews WW, Goldenberg RL, Hauth JC, Cliver SP, Conner M, Goepfert AR. Endometrial Microbial Colonization and Plasma cell Endometritis after Spontaneous or Indicated Preterm Versus term Delivery. *Am J Obstet Gynecol* 2005; 193(3 Pt 1): 739-45.
- ۱۶- کریم‌زاده میبدی؛ [و دیگران]: بررسی تأثیر فلور میکروبی سرویکس بر روی نتایج باروری حاصل از سیکل‌های ART. *مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد*، ۱۳۸۲، دوره ۱۱ شماره ۴، صص: ۲۵-۱۸.
17. 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.
18. Wright VC, Schieve LA, Reynolds MA, Jeng G. Assisted Reproductive Technology Surveillance-United States, 2002. *MMWR Surveill Summ* 2005; 54(2):1-24.
19. Wittemer C, Bettahar-Lebugle K, Ohl J, Rongieres C, Viville S, Nisand I. [Abnormal Bacterial Colonisation of the Vagina and Implantation During Assisted Reproduction]. *Gynecol Obstet Fertil* 2004; 32(2):135-9.
20. Witkin SS, Kligman I, Grifo JA. Chlamydia Trachomatis Detected by Polymerase Chain Reaction in Cervices of Culture-Negative Women Correlates with Adverse in Vitro Fertilization Outcome. *J Infect Dis* 1995; 171(6):1657-9.
21. Nishikawa Y. Adherence of Escherichia Coli in Pathogenesis of Endometritis and Effect of Estradiol Examined by Scanning Electron Microscopy. *Infect Immun* 1985; 47(1):318-21.
22. Goudas VT, Hammitt DG, Damarico MA, et al. Blood on the Embryo Transfer Catheter is Associated with Decreased Rates of Embryo Implantation and Clinical Pregnancy with the Use of IVF-ET. *Fertil Steril* 1998; 7(6):878-82.
- ۲۳- قاسمی نژاد، عزیزه؛ ایزدی مود، نرگس؛ پورقاسم، پیمان: بررسی فلور میکروبی سرویکس در هنگام انتقال رویان با پیامد IVF. *مجله علمی - پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی گیلان*، ۱۳۸۴، دوره ۱۴ شماره ۵۴، صص: ۴۵-۴۱.
24. Egbase PE, al-Sharhan M, al-Othman S. Incidence of Microbial Growth from the Tip of the embryo transfer catheter after Embryo Transfer in Relation to Clinical Pregnancy Rate Following in-Vitro Fertilization and Embryo Transfer. *Hum Reprod* 1996; 11(8):1687-9.
25. Prapas Y, Prapas N, Hatziparasidou A, et al. How Homogeneous are Comparison Groups in any Study Evaluating Techniques of Embryo Transfer?. *Human Reproduction* 2002; 17(4): 1130-1131.
26. Egbase PE, Udo EE, Al-Sharhan M, Grudzinskas JG. Prophylactic antibiotics and Endocervical Microbial Inoculation of the Endometrium at Eembryo Ttransfer. *Lancet* 1999; 354 (9179):651-2
- ۲۷- پارسا نژاد، محمد ابراهیم: بررسی جنبه‌های اپیدمیولوژی و اتیولوژی ناباروری در شیراز. *چکیده تحقیقات ناباروری در ایران: تهران: انجمن علمی - تخصصی باروری و ناباروری ایران*، ۱۳۸۱، صص: ۵۲.
- ۲۸- معینی، اشرف؛ [و دیگران]: بررسی علل نازایی در بیماران مراجعه کننده به رویان. *چکیده تحقیقات ناباروری در ایران: تهران: انجمن علمی - تخصصی باروری و ناباروری ایران*، ۱۳۸۱، صص: ۲۲۵.

## Survey of the Effect of Cervix Microbial Flora on Outcome of Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI)

Mehrafza M.(MD), Heidarzadeh A.(MD, MPh), Jafari M.(MD), Oudi M.(BSc), Aram R.(MSc), Tavakol nia R.(MD), Hossieni A.(Ph. D)

### Abstract

**Introduction:** The cervix was colonized by potentially pathogenic microorganism that could be introduced into the uterine cavity or contaminate embryos during (Embryo Transfer). The consequences of this septic milieu on the outcome of embryo implantation is unclear.

**Objective:** Survey the effect of microbial flora of the cervix on ICSI outcome at the time of embryo transfer in infertile women who referred to Mehr infertility institute.

**Materials and Methods:** In this cross sectional descriptive study endo-cervical samples of 260 women were evaluated who under went intra-cytoplasmic sperm injection.

After transferring the embryo were cut, about 3cm of the end of catheters and put in selective culture media. After incubating in special conditions by using current bacteriological methods; bacterias were isolated & characterized. Pregnancy rate was confirmed by measurement of  $\beta$ -hCG in serum after 14 days.

Some confounding variables (sperm quality, age, duration and cause of infertility, embryo quality) were controlled. Data was collected, analysis was carried out with T-test, chi squares test and multiple logistic regressions by using statistical soft ware SPSS.10. ( $P < 0.05$  was considered significant).

**Results:** The results showed that overall PR by ICSI procedure was 40% (104 out of 260 cycles). The mean age of women was  $31.6 \pm 6.2$  years. The most common cause of infertility was related to male factor (46.2%). The mean infertility duration was  $7.7 \pm 5.5$  years. The quality of the most embryos were A (85%). 246 (94.6%) of groups were negative culture and the others 14 (5.4%) were positive culture. The most of research unit's (94.6%) culture were negative in 4.9% of pregnant women and in 5.8 of non pregnant women, results of culture test were positive. Multiple logistic regressions showed no significant effect of female's age, duration of infertility, cause of infertility, sperm parameters (count-morphology- motility), number of oocyte, number of MII, number of cleaved, number of ET, embryo quality & microbial culture in the outcome of ICSI but there was significant relation between female age & pregnancy rate.

**Conclusion:** This study revealed that microbial flora of the cervix didn't influence in poor ICSI-ET outcome.

**Key words:** Cervix Uteri/ Embryo Transfer/ Pregnancy Rate/ Sperm Injections, Intracytoplasmis