

تاثیر کپسول پروبیوتیک واژینال بر کلونیزاسیون واژن و نتایج درمان در مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی

سارا عظیما^۱، سمیه هوشیار^۲، دکتر محمد معتمدی فر^۳، معصومه کاویانی^۱، دکتر نجف زارع^۴

نویسنده‌ی مسئول: گروه مامایی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز azimas@sums.ac.ir

دریافت: ۹۵/۹/۷ پذیرش: ۹۶/۶/۱۴

چکیده

زمینه و هدف: ۷۵ درصد زنان حداقل یک بار در طول زندگی خود ولوواژینیت کاندیدایی را تجربه می‌کنند. هدف این مطالعه تعیین تاثیر کپسول پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس رامنوسوس پس از درمان ولوواژینیت کاندیدایی بر نتایج درمان و کلونیزاسیون واژن بود. **روش بررسی:** این مطالعه یک کارآزمایی بالینی دو سوکور بود و نمونه‌ها شامل ۵۸ زن مبتلا به ولوواژینیت کاندیدایی (بر اساس کشت ترشحات) بودند. پس از درمان همه‌ی بیماران با کرم واژینال کلوتریمازول ۲ درصد، تخصیص تصادفی نمونه‌ها به دو گروه پروبیوتیک و پلاسبو انجام شد (۲۸ نفر پروبیوتیک و ۳۰ نفر پلاسبو). گروه یک از کپسول پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس رامنوسوس به مدت هفت روز، روزی دو بار استفاده نمودند. گروه دوم نیز کپسول پلاسبو واژینال استفاده کردند. قبل ۲ تا ۵ روز و یک ماه بعد از استفاده از پروبیوتیک، نمونه‌ها از نظر منفی شدن کشت ترشحات و کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن، PH واژن و علائم بالینی ولوواژینیت کاندیدایی مورد بررسی قرار گرفتند. از آزمون‌های آماری کای اسکویر، تست دقیق فشر، تحلیل واریانس با اندازه گیری‌های مکرر و آزمون *post hoc* استفاده شد و داده‌ها توسط نرم‌افزار *SPSS* تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: نتایج کشت قارچ کاندیدایزیس در دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. همچنین علیرغم افزایش کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن در گروه پروبیوتیک، بین دو گروه در دوره‌های مختلف زمانی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P=0/255$). مقایسه میانگین تغییرات PH واژن نیز نشان داد که تفاوت معناداری بین دو گروه در دوره‌های مختلف زمانی وجود نداشت ($P=0/480$).

نتیجه گیری: به نظر می‌رسد که استفاده از کپسول پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس رامنوسوس بر کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن در مبتلایان به ولوواژینیت کاندیدایی تا حدودی موثر است. اما بر تغییرات PH واژن و نتایج درمان موثر نیست.

واژگان کلیدی: لاکتوباسیلوس رامنوسوس، پروبیوتیک، ولوواژینیت کاندیدایی، کلونیزاسیون

۱- کارشناس ارشد مامایی، گروه مامایی، دانشکده‌ی پرستاری و مامایی شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

۲- کارشناس ارشد مامایی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

۳- دکترای تخصصی باکتری‌شناسی، استاد مرکز تحقیقات ایدز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

۴- دکترای تخصصی آمار زیستی، استاد مرکز تحقیقات ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز

مقدمه

ولوواژینیت کاندیدیایی دومین عفونت شایع واژن است. ۸۰ تا ۸۵ درصد موارد کاندیدا ناشی از کاندیدا آلبیکانس می‌باشد (۱). در مطالعه‌ای که در شیراز در سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۹ بر میزان بروز و عوامل خطر عفونت‌های تناسلی انجام گرفت، بیشترین میزان عفونت مربوط به کاندیدا (۱۶/۶ درصد موارد) بود (۲). درمان با انواع داروهای ضد قارچ خوراکی و واژینال انجام می‌گیرد اما میزان موفقیت این داروها حدود ۸۰ درصد می‌باشد (۳). از طرف دیگر میزان عود عفونت بالا است، به‌طوری که براساس برخی مطالعات اروپایی و ایالات متحده آمریکا ۱۳ تا ۱۹ درصد موارد ولوواژینیت کاندیدیایی منجر به عفونت راجعه می‌شود (۴).

درمان‌های پیشنهاد شده برای ولوواژینیت کاندیدیایی راجعه مانند درمان با فلوکونازول به مدت ۶ تا ۱۲ ماه میزان عود را کاهش می‌دهد اما ۳۰ تا ۴۰ موارد با قطع درمان دچار عود می‌شوند (۵ و ۶). از طرفی درمان‌های موارد عودی نیز می‌تواند عوارض کبدی و کلیوی داشته باشد و ممکن است باعث ایجاد مقاومت در قارچ‌ها و باکتری‌ها شود (۵). در سال‌های اخیر مصرف پروبیوتیک‌ها به‌عنوان یک استراتژی جدید در برخورد با ولوواژینیت کاندیدیایی و واژینوز باکتریایی (هم در درمان و هم در جلوگیری از ابتلا) مطرح شده است (۶ و ۳). پروبیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که حاوی مقادیر بالای لاکتوباسیل‌های مختلف می‌باشند. لاکتوباسیل‌ها قدرت چسبندگی بالایی به سلول‌های اپیتلیال واژن دارند و این قدرت چسبندگی بالا از رشد بیش از حد عوامل بیماری‌زا جلوگیری می‌کند (۷). اما برخی مطالعات تاثیر این ترکیبات را بر بهبود ولوواژینیت کاندیدیایی تایید نکرده‌اند (۸ و ۷). از آنجایی که واژینیت‌ها یکی از دلایل اصلی مراجعه‌ی افراد به کلینیک‌های زنان و مامایی می‌باشد و با توجه به میزان بروز و عودهای مکرر و عوارض داروهای مصرفی و هزینه‌های درمانی (۹)، این مطالعه با هدف تعیین تاثیر پروبیوتیک

واژینال لاکتوباسیلوس / منوسوس پس از درمان ولوواژینیت کاندیدیایی بر نتایج درمان و کلونیزاسیون واژن انجام شد.

روش بررسی

مطالعه‌ی حاضر یک کارآزمایی بالینی کنترل شده دو سو کور بود. نمونه‌ها زنان مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی بودند که به کلینیک‌های بیماری‌های زنان شهر شیراز مراجعه کرده بودند. این مطالعه از تاریخ اول آبان ۱۳۹۳ لغایت آخر فروردین ۱۳۹۴ به مدت ۷ ماه به طول انجامید. حجم نمونه با توجه به مطالعه‌ی مارتینز و همکاران (۲۰۰۹) (۱۰) و بر اساس فرمول

$$n_1 = \frac{(z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2 (p_1q_1 + p_2q_2)}{(p_1 - p_2)^2}$$

$\alpha=0/05$, $\beta=80$ درصد , $p_1=90$ درصد (درصد بهبودی در گروه پروبیوتیک) و $p_2=60$ درصد (درصد بهبودی در گروه پلاسبو) ۵۸ نفر محاسبه شد.

شرایط ورود به مطالعه عبارت بودند از: تمایل به شرکت در مطالعه، ابتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی (بر اساس کشت قارچ)، سن ۱۸ تا ۴۰ سال، سیکل‌های قاعدگی طبیعی، عدم حساسیت به کلوتریمازول و واژینال، عدم ابتلا به هیچ‌گونه بیماری خاص، عدم خونریزی‌های غیر طبیعی واژینال، عدم استفاده از داروهای خاص و یا هورمون درمانی در سه ماه اخیر، عدم مقاربت با استفاده از دارو و یا دوش واژینال طی ۴۸ ساعت قبل از معاینه و عدم ابتلا به سایر عفونت‌های واژینال در معاینه‌ی بالینی. شرایط خروج از مطالعه عبارت بودند از: انصراف نمونه‌ها از ادامه‌ی شرکت در مطالعه، وقوع حاملگی در طی مطالعه، مصرف آنتی‌بیوتیک، علائم حساسیت به کلوتریمازول و واژینال و بروز علائم حساسیت به پروبیوتیک واژینال یا پلاسبو. پس از گرفتن شرح حال و توضیحات در خصوص مطالعه و کسب رضایت، از بیمارانی که مشکوک به عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی بودند، جهت معاینه در

خواست شد در وضعیت لیتاتومی بر روی تخت معاینه قرار بگیرند و ناحیه‌ی ولو از نظر علائمی چون التهاب و ادم مورد مشاهده دقیق قرار گرفت. سپس اسپیکولوم یکبار مصرف، بدون استفاده از لوبریکانت گذاشته شد و واژن و سرویکس از نظر چگونگی ترشحات و علائم بیمار با دید مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. جهت تشخیص کاندیدا، پس از مشاهده‌ی نواحی ملتهب در ناحیه ولو و گذاشتن اسپیکولوم استریل و دیدن ترشحات پنی‌ری شکل، جهت تایید کاندیدا با استفاده از دو سواب استریل پنبه‌ای نمونه از ناحیه‌ی فورنیکس خلفی گرفته شد و در دو لوله استریل حاوی یک سی سی نرمال سالین گذاشته شد و به‌منظور انجام کشت قارچ به آزمایشگاه تحویل داده شد. کشت بر روی محیط کشت سابورو دکستروز آگار انجام گرفت و در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت هفت روز، انکوبه گردید. پس از این مدت نمونه‌های کشت شده توسط متخصص مربوطه مورد بررسی قرار گرفته و نتیجه گزارش شد.

ولوواژینیت کاندیدیایی با مثبت شدن کشت تشخیص داده شد. بیماران به مدت هفت روز تحت درمان با کرم واژینال کلوتریمازول ۲ درصد ساخت شرکت پارس دارو-ایران قرار گرفتند. ۲ تا ۵ روز پس از اتمام دارو بیماران تحت معاینه قرار گرفتند و کشت ترشحات (به منظور تشخیص کاندیدازیس) مجدد انجام شد. اندازه‌گیری PH واژن توسط کاغذ PH سنج انجام شد. جهت بررسی کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن، نمونه‌ای توسط سواب پنبه‌ای استریل از ناحیه‌ی فورنیکس خلفی (جهت هماهنگ نمودن نحوه نمونه‌گیری، در تمام بیماران در ناحیه‌ی فورنیکس خلفی یک منطقه حدودی یک در دو سانتی‌متر در نظر گرفته شد که نمونه از این ناحیه گرفته شد) گرفته و با رعایت کامل اصول استریلیتی برای ممانعت از ورود آلودگی محیطی به نمونه، سواب در محیط انتقالی (محیط Thioglycolate) به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده‌ی پزشکی انتقال داده شد. با توجه به نظر متخصص

بخش میکروب شناسی، به‌منظور کشت و شمارش کلونی (viable count) لاکتوباسیل‌ها از روش تهیه‌ی Serial dilution (به منظور رسیدن به غلظت مناسب برای کشت) استفاده شد (۱۱). با استفاده از لوله L شکل ۱۰ لاند از نمونه با رقت ۱:۱۰۰۰ برداشته شد و به محیط اختصاصی کشت لاکتوباسیل‌ها (lactobacilli MRS agar) انتقال و سپس پلیت‌ها در جار بی‌هوازی قرار داده شد و به مدت هفت روز در انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. پس از هفت روز محیط کشت از نظر رشد باکتری و تعداد کلونی توسط متخصص میکروب شناسی بررسی شد. پس از اتمام درمان با کرم واژینال کلوتریمازول، بیماران به‌صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. گروه بندی افراد بر اساس جدول اعداد تصادفی صورت گرفت. از ۵۸ نمونه، ۲۸ نفر در گروه پروبیوتیک و ۳۰ نفر در گروه پلاسبو قرار گرفتند. گروه درمانی یک، از کپسول پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس/امنوسوس حاوی 10^9 کلونی از لاکتوباسیل با نام تجاری ژینوفیلوس ساخت شرکت Lyocentre -فرانسه به مدت هفت روز، روزی دو بار استفاده کردند. گروه دوم نیز کپسول پلاسبو واژینال حاوی نشاسته ساخت همان شرکت دارویی و در شکل و اندازه‌ی یکسان با همان روش استفاده نمودند. ۲ تا ۵ روز پس از اتمام پروبیوتیک یا پلاسبو، بیماران مورد معاینه‌ی مجدد قرار گرفتند و از نظر کشت قارچ بررسی شدند. بهبودی در ولوواژینیت کاندیدیایی به‌صورت منفی شدن نتیجه‌ی کشت قارچ تعریف شد. همچنین نمونه‌ای توسط سواب پنبه‌ای استریل جهت بررسی لاکتوباسیل‌های واژن (طبق روش گفته شده) گرفته شد. ۲ تا ۵ روز پس از اتمام سیکل قاعدگی بعدی (حدود یک ماه پس از تجویز پروبیوتیک) نمونه‌ها برای چهارمین بار (از زمان ورود به مطالعه) از نظر کشت قارچ و کشت لاکتوباسیل‌ها و سنجش PH واژن، مورد بررسی مجدد قرار گرفتند. علائم بالینی بیماران نیز با توجه به اظهارات فردی و نیز توسط

گردید. جهت مقایسه‌ی میانگین شمارش کلونی لاکتوباسیل‌ها و PH در دو گروه از آزمون تحلیل واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر استفاده شد. اطلاعات، داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. پس از اخذ کد کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز با شماره CT-9362-6992 و ثبت مطالعه در مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی با کد JRCT2014050617603N1 تکمیل فرم رضایت نامه در ابتدای ورود به مطالعه و درج تمامی حقوق افراد شرکت کننده در فرم رضایت نامه، پژوهش حاضر انجام پذیرفت.

یافته‌ها

مطالعه‌ی حاضر روی ۵۸ زن مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی مراجعه کننده به کلینیک‌های بیماری‌های زنان شهر شیراز انجام شد. پس از حذف ۶ نفر از نمونه‌ها به دلایل ذکر شده، نتایج مطالعه نشان داد که بین گروه‌ها از نظر برخی خصوصیات دموگرافیک تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

پرسشنامه‌ای که براساس اهداف مطالعه طراحی شده بود، سنجیده شدند. این علائم شامل ترشحات، خارش و اریتم ولو و واژن بود. با توجه به اینکه مطالعه دوسوکور بود، پروبیوتیک و پلاسبو توسط کمک پژوهشگر کدگذاری شده و به صورت گروه‌های درمانی ۱ و ۲ در اختیار پژوهشگر قرار گرفت. پس از اتمام نمونه‌گیری و جمع‌آوری اطلاعات، کد گروه‌ها در اختیار پژوهشگر قرار داده شد. در ابتدای مطالعه نیز به بیمار توضیح داده شد که در گروه درمانی ۱ یا ۲ قرار می‌گیرد که ممکن است شامل کپسول پروبیوتیک واژینال و یا پلاسبو باشد. در طی مطالعه ۲ نفر از گروه پروبیوتیک (یک نفر به دلیل انصراف از ادامه‌ی شرکت در مطالعه و یک نفر به دلیل بارداری) و ۴ نفر از گروه پلاسبو (دو نفر به دلیل بارداری و ۲ نفر عدم مراجعه) از مطالعه خارج شدند و مطالعه با ۵۲ نفر (۲۶ نفر در هر گروه) ادامه یافت. در طی مطالعه کلیه‌ی نمونه‌ها از کاندوم استفاده کردند.

آنالیز آماری: جهت مقایسه‌ی میزان بهبودی علائم بیماران در دو گروه درمانی از تست کای دو و یا تست دقیق فیشراستفاده

جدول ۱: نتایج کشت قارچ کاندیدیازیس در دو گروه

کشت قارچ کاندیدا	نتیجه درمان	پروبیوتیک	پلاسبو	(P value)
قبل از استفاده از کپسول پروبیوتیک یا پلاسبو	درمان شده [*]	۲۴	۲۴	۱/۰۰۰
	درمان نشده	۲	۲	
مجموع		۲۶	۲۶	
۲-۵ روز بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک یا پلاسبو	درمان شده	۲۴	۲۱	۰/۴۱۹
	درمان نشده	۲	۵	
مجموع		۲۶	۲۶	
یک ماه بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک یا پلاسبو	درمان شده	۲۶	۲۵	۱/۰۰۰
	درمان نشده	۰	۱	
مجموع		۲۶	۲۶	

* براساس نتایج کشت قارچ ولوواژینیت کاندیدیایی درمان شده است

میانگین سن نمونه‌ها در گروه پروبیوتیک واژینال $34/4 \pm 6/2$ و در گروه پلاسبو $33/4 \pm 6/9$ بود ($P=0/895$). همچنین از نظر میانگین تعداد حاملگی ($P=0/252$)، تعداد زایمان ($P=0/625$)، میزان تحصیلات ($P=0/109$) و روش پیشگیری از بارداری ($P=0/341$) تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد. قبل از تجویز پروبیوتیک واژینال مشاهده شد که از مجموع ۵۲ بیمار، ۲۴ نفر با استفاده از کرم واژینال کلوتریمازول درمان شده (۲۲ نفر از گروه پروبیوتیک و ۲ نفر از گروه پلاسبو) و از هر دو گروه ۲ نفر با توجه به

نتایج کشت قارچ درمان نشده بودند (جدول ۱). با استفاده از تست دقیق فیشر، نتایج کشت قارچ کاندیدایزیس در دو گروه نشان داد که در دوره‌های مختلف زمانی بین دو گروه تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۱). مقایسه‌ی میانگین کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن با استفاده از آزمون تحلیل واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر نیز نشان داد که علیرغم افزایش کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن در گروه پروبیوتیک، بین دو گروه در دوره‌های مختلف زمانی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت ($P=0/255$) (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه‌ی میانگین کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن قبل، ۲ تا ۵ روز و یک ماه بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک واژینال در دو گروه

دوره زمانی	گروه	میانگین	انحراف معیار	p-value
قبل از استفاده از کپسول پروبیوتیک	آزمایش	$8/5 \times 10^6$	$7/9 \times 10^6$	0/255
	کنترل	$8/6 \times 10^6$	$7/5 \times 10^6$	
۲-۵ روز بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک	آزمایش	$1/3 \times 10^7$	$7/9 \times 10^6$	
کپسول پروبیوتیک	کنترل	$7/5 \times 10^6$	$4/6 \times 10^6$	
	آزمایش	$1/3 \times 10^7$	$7/6 \times 10^6$	
یک ماه بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک	کنترل	$7/7 \times 10^6$	$5/8 \times 10^6$	

همچنین نتیجه‌ی آزمون تحلیل واریانس اندازه‌گیری‌های مکرر جهت مقایسه میانگین تغییرات PH واژن نشان داد که تفاوت معناداری بین دو گروه در دوره‌های مختلف زمانی وجود نداشت ($P=0/480$) (جدول ۳).

به‌منظور مقایسه‌ی علائم بالینی ولوواژینیت کاندیدیایی در دو گروه از آزمون کای دو استفاده شد و نتایج نشان داد که

ترشحات کاندیدیایی در ۲ تا ۵ روز پس از مصرف پروبیوتیک کاهش معنی‌داری داشته است ($P=0/033$) (جدول ۴). اما یک ماه پس از مداخله این تفاوت معنی‌دار نبود ($P=0/202$). در بررسی سایر علائم بالینی ولوواژینیت کاندیدیایی، تفاوت آماری معناداری بین دو گروه در دوره‌های زمانی مختلف دیده نشد (جدول ۴).

جدول ۳: مقایسه‌ی میانگین تغییرات PH واژن قبل، ۲ تا ۵ روز و یک ماه بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک واژینال در دو گروه

P-value	انحراف معیار	میانگین	گروه	دوره زمانی
۰/۴۸۰	۰/۷۴	۴/۰۷	آزمایش	قبل از استفاده از کپسول پروبیوتیک
	۰/۷۰	۳/۸۳	کنترل	
	۰/۳۹	۴/۰۷	آزمایش	۲ تا ۵ روز بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک
	۰/۵۸	۴	کنترل	
	۰/۶۲	۴/۰۷	آزمایش	یک ماه بعد از استفاده از کپسول پروبیوتیک
	۰/۵۸	۴/۰۸	کنترل	

جدول ۴: مقایسه علائم بالینی در ولوواژینیت کاندیدیایی در گروه پروبیوتیک و پلاسبو

P value	گروه		نتایج	دوره زمانی (مصرف پروبیوتیک یا پلاسبو)	متغیر
	پلاسبو	پروبیوتیک			
۱	۱۸	۱۸	دارد	قبل از مصرف	ترشحات
	۸	۸	ندارد		
۰/۰۳۳	۱۳	۶	دارد	۲-۵ روز پس از مصرف	
	۱۲	۲۰	ندارد		
۰/۲۰۲	۵	۲	دارد	یک ماه پس از مصرف	
	۲۰	۲۴	ندارد		
	×۲۵	۲۶			
۰/۲۲۹	۲۰	۱۶	دارد	قبل از مصرف	خارش
	۶	۱۰	ندارد		
۰/۶۲۹	۸	۱۰	دارد	۲-۵ روز پس از مصرف	
	۱۷	۱۶	ندارد		
۰/۴۳۹	۶	۴	دارد	یک ماه پس از مصرف	
	۱۹	۲۲	ندارد		
	×۲۵	۲۶		مجموع	
۰/۱۰۹	۹	۴	دارد	قبل از مصرف	اریتم
	۱۷	۲۲	ندارد		
۰/۲۰۲	۵	۲	دارد	۲-۵ روز پس از مصرف	
	۲۰	۲۴	ندارد		
۰/۵۲۹	۲	۱	دارد	یک ماه پس از مصرف	
	۲۳	۲۵	ندارد		
	×۲۵	۲۶		مجموع	

* یک مورد در دوره ۲ تا ۵ روز و یک مورد در دوره یک ماه پس از مصرف در گروه پلاسبو مراجعه نکرده‌اند.

بحث

ناحیه‌ی واژن حاوی مجموعه میکروبی پیچیده و پویایی است و لاکتوباسیل‌ها، باکتری غالب در این منطقه می‌باشند. لاکتوباسیل‌ها در ناحیه‌ی ادراری تناسلی مانند یک سد دفاعی عمل می‌کنند و در حفظ و نگهداری ترکیب میکروبی واژن از طرق مختلف از جمله رقابت با دیگر میکروارگانیسم‌ها (که ممکن است پتانسیل بیماری‌زایی داشته باشند) در اتصال به سلول‌های اپیتلیال و جلوگیری از رشد پاتوژن‌ها کمک می‌کنند (۷ و ۱۲). هدف این مطالعه تعیین تاثیر پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* پس از درمان ولوواژینیت کاندیدیایی (با استفاده از کرم واژینال کلوتریمازول) بر نتایج درمان و کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن بود. نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش کلونیزاسیون لاکتوباسیل‌های واژن پس از مصرف پروبیوتیک واژینال وجود داشت اما این افزایش معنی‌دار نبود. در مطالعه‌ی اریسترون و همکاران (۲۰۱۰) که به بررسی کلونی انواع لاکتوباسیل‌ها در ۹۵ زن مبتلا به واژینوز یا ولوواژینیت کاندیدیایی پس از مصرف پروبیوتیک واژینال در ۵ مرحله‌ی زمانی پرداخت، افزایش انواع کلونی لاکتوباسیل‌های واژن تا شش ماه پس از مداخله مشاهده شد (۱۲). مورینا و همکاران (۲۰۱۱) نیز در مطالعه خود به بررسی تاثیر ترکیب فلوکونازول و پروبیوتیک بر روی عفونت کاندیدا پرداختند و به این نتیجه رسیدند که درمان ترکیبی فلوکونازول با پروبیوتیک اثر هم افزایی دارند و باعث حفظ هموستاز و تعادل در فلور واژن می‌شود (۱۳). تعداد کمتر نمونه و استفاده از پروبیوتیک پس از درمان بیماران با کرم واژینال کلوتریمازول و استفاده تنها از یک نوع لاکتوباسیل، از تفاوت‌های مطالعه‌ی حاضر با مطالعات ذکر شده است. اما به‌طور کلی یکی از مزایای استفاده از نوع واژینال پروبیوتیک‌ها این است که متابولیت‌های حاصل از آن می‌توانند میزان پاتوژن‌ها را کاهش داده و در نتیجه به بهبود

عملکرد درمان‌های دارویی واژینیت کمک کند. همچنین عوارض احتمالی گوارشی نیز ایجاد نمی‌گردد (۱۴). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که مصرف پروبیوتیک واژینال بر نتایج کشت قارچ کاندیدازیس و PH واژن تاثیری نداشت. در مطالعه‌ی نورایی و همکاران (۲۰۱۲) با هدف مقایسه‌ی فلوکونازول با ترکیب فلوکونازول و پروتکسین در درمان ولوواژینیت کاندیدیایی، ۹۰ زن مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که از نظر از بین رفتن علائم و نشانه‌های بیماری، بین دو گروه اختلافی دیده نشد و میزان مثبت شدن کشت در دو گروه از نظر آماری معنادار نبود (۳) که این نتیجه با مطالعه‌ی حاضر همسو است. تفاوت این دو مطالعه در استفاده از ترکیب همزمان داروی ضدقارچ و پروبیوتیک است. در مطالعه‌ای که توسط پیروتا و همکاران (۲۰۰۴) بر روی تاثیر پروبیوتیک واژینال و یا خوراکی بر میزان بروز عفونت ولوواژینیت کاندیدیایی پس از درمان آنتی بیوتیکی انجام گرفت، ۴۹۶ زن از پروبیوتیک خوراکی یا واژینال یا هر دو به‌مدت ۴ روز استفاده کردند. نتایج نشان داد که مصرف پروبیوتیک پس از مصرف آنتی بیوتیک، بر میزان ابتلای به عفونت کاندیدیایی متعاقب درمان آنتی بیوتیکی تاثیری نداشته است (۸) که نتایج این پژوهش نیز با نتایج مطالعه‌ی حاضر همسو است. اگرچه از نظر حجم نمونه تنوع پروبیوتیک مورد استفاده و طول مدت درمان با مطالعه‌ی حاضر متفاوت است. اما در مقابل در مطالعه‌ی مارتینز و همکاران (۲۰۰۹) به‌مدت چهار هفته پروبیوتیک خوراکی حاوی لاکتوباسیلوس *رامنوسوس* و لاکتوباسیلوس *روتاری* پس از درمان با فلوکونازول استفاده شد. نتایج نشان داد که استفاده از پروبیوتیک بر کشت قارچ موثر بوده است (۱۰). نتایج این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر همسو نیست. نوع لاکتوباسیل مصرفی و مدت زمان استفاده ممکن است یکی از علت‌های عدم همخوانی باشد. در

مطالعه ما همسو است. در این مطالعه در دریافت کنندگان پروبیوتیک هیچ گونه عارضه جانبی مشاهده نشد. طبق مطالعات فالآگاس و همکاران (۲۰۰۶) پروبیوتیکها برای استفاده در انسان مناسب و بی خطر است و در بیماران مبتلا به ولوواژینیت کاندیدیایی که به هر دلیلی داروهای دیگر قابل استفاده نیست و یا عوارض جانبی داروها مانع استفاده از درمان های رایج می شود، از پروبیوتیکها به راحتی می توان استفاده نمود (۹). برخی مطالعات دیگر نیز این نتایج را تایید نمودند (۱۹ و ۱۵).

در مطالعه جعفرزاده و همکاران (۲۰۱۱) عوارض جانبی گزارش شده کم بودند و کاربرد شیاف حاوی لاکتوباسیل در بیماران مبتلا به واژینوز باکتریایی ایمن بود (۱۵) که نتایج کلیه مطالعات فوق با مطالعه حاضر همخوانی دارد. اگرچه در پژوهش دیگری موارد نادری از خارش و خونریزی واژینال به دنبال مصرف پروبیوتیک، مشاهده شده بود (۱۲). از محدودیت های این مطالعه می توان به استفاده از یک نوع لاکتوباسیل، عدم پیگیری طولانی مدت درمان و حجم کم نمونه اشاره نمود.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج این مطالعه به نظر می رسد که استفاده از پروبیوتیک واژینال لاکتوباسیلوس رامنوسوس پس از درمان قارچ کاندیدیایی، تاثیر اندکی بر افزایش کلونیزاسیون لاکتوباسیل های واژن و بهبود علائم بالینی ولوواژینیت کاندیدیایی داشته و بر کشت قارچ و PH واژن موثر نمی باشد. اما با توجه به شیوع نسبتا بالای ولوواژینیت کاندیدیایی و عدم درمان تمام موارد عفونت و میزان بالای عود و عوارض درمان عود بر کبد و کلیه می توان مصرف پروبیوتیک را در درمان حفظ فلور طبیعی واژن توصیه نمود. انجام مطالعات با حجم نمونه بیشتر، استفاده از چند نوع لاکتوباسیل و پیگیری طولانی مدت تر پیشنهاد می شود.

مطالعه ای اریسترون و همکاران (۲۰۱۰) بررسی PH واژن نشان داد که مصرف پروبیوتیک واژینال پس از درمان معمول ولوواژینیت کاندیدیایی قبل، بلافاصله بعد و یک ماه پس از مصرف پروبیوتیک موثر نبوده است (۱۲). در مطالعه جعفرزاده و همکاران (۲۰۱۱) نیز که شیاف واژینال لاکتوباسیل را با قرص واژینال مترونیدازول در بیماران مبتلا به واژینوز باکتریال مقایسه نموده بود، مشاهده کرد که PH در گروه لاکتوباسیل نسبت به گروه مترونیدازول کاهش بیشتری داشت ولی اختلاف بین دو گروه از نظر آماری معنی دار نبوده است (۱۵) که نتایج هر دو مطالعه با پژوهش حاضر همسو است.

اما در مطالعه دیگری که از پروبیوتیک واژینال در مبتلایان به واژینوز باکتریایی استفاده کرده بودند، گزارش نمودند که دو ماه پس از استفاده از پروبیوتیک، PH واژن کاهش معنی داری داشت (۱۶) که این نتیجه با مطالعه ما همخوانی ندارد. لاکتوباسیلها با ترشح اسید لاکتیک و مواد دیگر سبب حفظ PH واژن در سطح پایین می شود (۹). از طرفی نوع لاکتوباسیل به کار رفته در پروبیوتیک نیز بر روی PH واژن موثر است (۱۷ و ۱۵). در محیط آزمایشگاه مشاهده شده که برخی از انواع لاکتوباسیل می توانند مانع چسبیدن و همین طور جلوگیری از رشد کاندیدا/آلبیکانس شود، اما این مکانیسم ضرورتا به بدن انسان قابل تعمیم نمی باشد (۱۸ و ۹).

در خصوص علائم بالینی در این مطالعه مشاهده شد که ترشحات کاندیدیایی در ۲ تا ۵ روز پس از مصرف پروبیوتیک واژینال کاهش معنی داری داشت. اما سایر علائم بالینی نظیر اریتم و خارش بین دو گروه متفاوت نبود. در مطالعه رید و همکاران (۲۰۰۳) که به بررسی تاثیر مصرف پروبیوتیک خوراکی بر فلور واژن پرداختند، به این نتیجه رسیدند که مصرف خوراکی پروبیوتیک حاوی لاکتوباسیلوس رامنوسوس و لاکتوباسیلوس فرمنتوس می تواند در کاهش علائم افراد درمان شده موثر باشد (۱۴) که در مورد کاهش ترشحات با

تشکر و قدردانی

مطالعه‌ی حاضر از پایان نامه خانم سمیه هوشیار به شماره طرح ۶۹۹۲ منتج شده است. بدین وسیله

نویسندگان از حمایت‌های معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شیراز تشکر می‌نمایند.

References

- 1- Parma M, Dindelli M, Caputo L, Redaelli A, Quaranta L, Candiani M. The role of vaginal *Lactobacillus Rhamnosus* (Normogin(R)) in preventing bacterial vaginosis in women with history of recurrences, undergoing surgical menopause: a prospective pilot study. *Europ Rev Med Pharmacol Sci*. 2013; 17: 1399-403.
- 2- Maharlouei N, Barooti E, Sharif F, Hosseini H, Lankarani KB. Prevalence and risk factors of reproductive tract infections among a defined population of Iranian women. *Sexual Health*. 2013; 10: 311-5.
- 3- Nouraei S, Amir Ali Akbari S, Jorjani M, et al. Comparison between fluconazole with oral protexin combination and fluconazole in the treatment of vulvovaginal candidiasis. *ISRN Obstet Gynecol*. 2012; 2012: 375806.
- 4- Foxman B, Muraglia R, Dietz JP, Sobel JD, Wagner J. Prevalence of recurrent vulvovaginal candidiasis in 5 European countries and the United States: results from an internet panel survey. *J Lower Genital Tract Dis*. 2013; 17: 340-5.
- 5- Mastromarino P, Vitali B, Mosca L. Bacterial vaginosis: a review on clinical trials with probiotics. *New Microbiol*. 2013; 36: 229-38.
- 6- Vicariotto F, Del Piano M, Mogna L, Mogna G. Effectiveness of the association of 2 probiotic strains formulated in a slow release vaginal product, in women affected by vulvovaginal candidiasis: a pilot study. *J Clin Gastroenterol*. 2012; 46: S73-80.
- 7- Coudeyras S, Jugie G, Vermerie M, Forestier C. Adhesion of human probiotic *Lactobacillus rhamnosus* to cervical and vaginal cells and interaction with vaginosis-associated pathogens. *Infect Diseases Obstetrics Gynecol*. 2008.
- 8- Pirota M, Gunn J, Chondros P, et al. Effect of lactobacillus in preventing post-antibiotic vulvovaginal candidiasis: a randomised controlled trial. *BMJ*. 2004; 329: 548.
- 9- Falagas ME, Betsi GI, Athanasiou S. Probiotics for prevention of recurrent vulvovaginal candidiasis: a review. *J Antimicrob Chemother*. 2006; 58: 266-72.
- 10- Martinez R, Franceschini S, Patta M, et al. Improved treatment of vulvovaginal candidiasis with fluconazole plus probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GR - 1 and *Lactobacillus reuteri* RC - 14. *Letter Apply Microbiol*. 2009; 48: 269-74.
- 11- Abbaszadegan A, Khayat A, Motamedifar M. Comparison of antimicrobial efficacy of IKI and

- NaOCl irrigants in infected root canals: An in vivo study. *Iran Endodontic J.* 2010; 5: 101.
- 12- Ehrstrom S, Daroczy K, Rylander E, et al. Lactic acid bacteria colonization and clinical outcome after probiotic supplementation in conventionally treated bacterial vaginosis and vulvovaginal candidiasis. *Microbes and infection.* 2010; 12: 691-9.
- 13- Murina F, Graziottin A, Felice R, Radici G, Di Francesco S. The recurrent vulvovaginal candidiasis: proposal of a personalized therapeutic protocol. *Int Scholar Res Notic.* 2011; 2011.
- 14- Reid G, Charbonneau D, Erb J, et al. Oral use of *Lactobacillus rhamnosus* GR - 1 and *L. fermentum* RC - 14 significantly alters vaginal flora: randomized ,placebo - controlled trial in 64 healthy women. *FEMS Immunol Medical Microbiol.* 2003; 35: 131-4.
- 15- Jafarzadeh H, Ivanbagha R, Hasanzadeh D, Soroush Barhaghi MH, Sayyah Melli M, Mohamad Poorasl A. Comparsion of the effect of *Lactobacillus Acidophilus* suppository and metronidazol vaginal tablet on bacterial vaginosis. *Hayat.* 2011; 17: 5-14.
- 16- Ya W, Reifer C, Miller LE. Efficacy of vaginal probiotic capsules for recurrent bacterial vaginosis: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Am J Obstet Gynecol.* 2010; 203: 120. e1-. e6.
- 17- Vejdani R, Zali M. Probiotics and their mechanism of action in prevention and treatment of human disease. *Res Med Sci.* 2003; 27: 313-8.
- 18- Ronnqvist D, Forsgren-Brusk U, Husmark U, Grahn-Hakansson E. *Lactobacillus fermentum* Ess-1 with unique growth inhibition of vulvo-vaginal candidiasis pathogens. *J Med Microbiol.* 2007; 56: 1500-4.
- 19- Eriksson K, Carlsson B, Forsum U, Larsson PG. A double-blind treatment study of bacterial vaginosis with normal vaginal lactobacilli after an open treatment with vaginal clindamycin ovules. *Acta Derm Venereol.* 2005; 85: 42-6.

The Effect of Vaginal Probiotic Capsule on Vaginal Colonization and Treatment Results in Patients with Vulvar and Vaginal Candidiasis

Azima S¹, Houshyar S², Motamedi Far M³, Kaviani M¹, Zare N⁴

¹Dept Midwifery, Faculty of Nursing and Midwifery, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

²Student Research Committee, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

³AIDS Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

⁴Infertility Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Corresponding Author: Azima S, Dept. of Midwifery, Faculty of Nursing and Midwifery, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

E-mail: azimas@sums.ac.ir

Received: 27 Nov 2016 **Accepted:** 5 Sep 2017

Background and Objective: Generally, 75% of women experience vaginal candidiasis at least once in their lifetime. This study aimed to determine the effect of *lactobacillus rhamnosus* vaginal probiotic capsule on vaginal colonization and treatment results after treating vulvar and vaginal candidiasis.

Materials and Methods: This double-blind clinical trial was conducted in 58 women suffering from vulvar and vaginal candidiasis (based on swab cultures). After treating the patients with clotrimazole 2% vaginal cream, the samples were randomly assigned to probiotic (n=28) and placebo (n=30) groups. While first group took *lactobacillus rhamnosus* vaginal probiotic capsules twice a day for one week, the second group used vaginal placebo capsules. The patients were examined regarding swab cultures, vaginal lactobacillus colonization, vaginal pH, and clinical symptoms of vulvar and vaginal candidiasis 2-5 days before and 1 month after taking the capsules. Then, the data were fed to SPSS and analyzed using Chi-square, Fisher's exact test, repeated measures ANOVA, and post-hoc test.

Results: The results showed no significant difference between the two groups concerning the results of fungal culture. Moreover, despite the increase in vaginal lactobacillus colonization in the probiotic group, no significant difference was found between the two groups at different time periods ($p=0.255$). The results also showed no significant difference between the two groups regarding the mean change of vaginal pH at different time periods ($p=0.480$).

Conclusion: It seems that using vaginal *lactobacillus rhamnosus* probiotic capsules was somewhat effective in vaginal lactobacilli colonization in patients with vaginal candidiasis. However, it was not effective in pH changes and treatment results.

Keywords: *Lactobacillus rhamnosus*, Probiotics, Vulvar and Vaginal candidiasis, Colonization