

Dorina Savoschin
**FRECVENȚA INFECTĂRII CU BACTERIILE ATIPICE
(*Chlamydomphila pneumoniae* și *Mycoplasma pneumoniae*) ȘI PARTICULARITĂȚILE CLINICE
LA COPIII CU SINDROM BRONHOOBSTRUCTIV
IMSP Institutul Mamei și Copilului (Director – dr. șt. med., conf. univ. S. Gladun)**

SUMMARY

**THE FREQUENCY OF INFECTIONS WITH ATYPICAL BACTERIA (*Chlamydomphila pneumoniae* și *Mycoplasma pneumoniae*)
AND CLINICAL PARTICULARITIES IN CHILDREN WITH BRONCHIAL OBSTRUCTION SYNDROME**

Key-words: children, bronchial obstruction, *Chlamydomphila pneumoniae* *Mycoplasma pneumoniae*, wheeze.

Background. There is a significant list of bacteria and viruses associated with the pathologies, the major clinical manifestation of which is the bronchial obstruction syndrome. Some studies suggest that some of these pathogens, particularly the atypical bacteria *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) and *Chlamydomphila pneumoniae* (*C. pneumoniae*), are strongly related to the development of bronchial obstruction syndrome and the exacerbation of bronchial asthma in both children and adults. Most research studies suggest that the highest rate of infections with *M. pneumoniae* and *C. pneumoniae* is recorded in school-aged children and young adults. There are also scientific articles that confirm that these infections may also occur in children under 5 years of age.

Purpose of the study. The determination of the rate (frequency) and the estimation of clinically-evolutive peculiarities of broncho-obstructive diseases in children infected with *C. pneumoniae* and *M. pneumoniae* in the group of patients under 5 years of age with acute infections of the lower respiratory tract.

Material and methods. Materials and methods. The prospective-type study involved 150 children, aged between 3 months and 5 years, admitted to the Pneumology Clinic of PMSI IMC. The criteria of eligibility were the presence of bronchial obstruction syndrome and an age of under 5 years. The current episode of bronchial obstruction has been thoroughly analyzed using the specially developed questionnaire, the medical paperwork, and also by performing the complex medical examination of the children. The detection of the pathogens studied was performed by using two parallel methods to ensure a higher quality of the study. Detection of bacterial DNA from the nasopharyngeal exudate was assessed by chain polymerization reaction method (CPR), and the assessment of IgA, IgM and IgG specific antibodies in the patient's serum samples was performed using the Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA). The data collected in the study was collected into a digital chart through the Microsoft Office Excell 2007 program. The results obtained were processed using EXCEL, GraphPad Software.

Results. Acute infections of the lower respiratory tract with the presence of bronchial obstructive syndrome were caused by atypical bacteria: *C. pneumoniae* and *M. pneumoniae* in 49 patients (32.7% cases). The mean age of children positively-diagnosed with the researched infections was 19.9 months.

Atypical bacteria were detected as mono-infections with the following frequency: *M. pneumoniae* - in 5.3% of cases; *C. pneumoniae* - in 24.7% of cases. Thus, in our study, the *C. pneumoniae* pathogen, practically 4.7 times more common than *M. pneumoniae*, was associated with the development of bronchial obstructive syndrome in children under 5 years of age.

The association of both pathogens in the current episode of bronchial obstruction (co-infection) in hospitalized children was only identified in 2.7% of cases.

Conclusions. Within the study, the association of acute infection with atypical *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* and the development of bronchial obstruction was determined in children of the first 5 years of life hospitalized with respiratory diseases.

The three most common clinical signs in children diagnosed with the investigated infections: *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* were the following: dyspnoea - 100% cases; followed by dry cough - 89.8% cases, and wheezing - 71.4% cases.

РЕЗЮМЕ

**ЧАСТОТА ИНФИЦИРОВАНИЯ АТИПИЧНЫМИ БАКТЕРИЯМИ (*Chlamydomphila pneumoniae* и *Mycoplasma pneumoniae*)
И ОСОБЕННОСТИ КЛИНИЧЕСКОГО ТЕЧЕНИЯ БРОНХОБСТРУКТИВНОГО СИНДРОМА У ДЕТЕЙ**

Ключевые слова: дети, бронхообструктивный синдром, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydomphila pneumoniae*, визинг.

Актуальность. На сегодняшний день известны многочисленные бактерии и вирусы ассоциированные с болезнями, основными клиническими проявлениями которых является бронхообструктивный синдром. Резуль-

таты проведенных исследований указывают на тот факт, что некоторые из этих патогенов, особенно атипичные бактерии *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) и *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*), часто связаны с развитием синдрома бронхиальной обструкции и обострениями бронхиальной астмы у детей и взрослых. Считается что самый высокий показатель инфицирования *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* отмечается среди детей школьного и подросткового возраста. Также, существует ряд опубликованных научных работ, которые подтверждают возникновение данных инфекций у детей в возрасте до 5 лет.

Цель исследования. Определить частоту, а также оценить особенности клинические проявления и течение бронхообструктивного синдрома при заболеваниях у детей в возрасте до 5 лет, инфицированных *C. pneumoniae* и *M. pneumoniae*.

Материалы и методы. Исследование включило 150 детей с бронхообструктивным синдромом, госпитализированных в специализированное отделение Института Матери и Ребенка с острыми инфекциями нижних дыхательных путей. Текущий эпизод бронхиальной обструкции был тщательно проанализирован с использованием специально разработанной анкеты, медицинской документации, а также комплексного медицинского обследования детей. Исследуемые патогены были диагностированы с одновременным использованием двух методов: 1) обнаружение бактериального ДНК в экссудате носоглотки с помощью метода полимеразной цепной реакции (ПЦР); 2) определение уровня специфических антител IgA, IgM и IgG к изучаемым инфекциям в сыворотке пациентов при помощи иммуноферментного анализа ELISA. Для создания базы данных использовался специально разработанный опросник. Статистическая обработка материала была выполнена с применением программного набора EXCEL, GraphPad Software.

Результаты и обсуждение. По результатам исследования, острые инфекции нижних дыхательных путей, проявляющиеся бронхообструктивным синдромом, были вызваны атипичными бактериями (*C. pneumoniae* и *M. pneumoniae*) у 49 пациентов – в 32,7% случаев. Средний возраст детей с положительным диагнозом изучаемых инфекций составил 19,9 месяца. Атипичные бактерии были обнаружены как моноинфекции со следующей частотой: *M. pneumoniae* - в 5,3% случаев; *C. pneumoniae* - в 24,7% случаев. Таким образом, в нашем исследовании возбудитель *C. pneumoniae* был ассоциирован с развитием бронхообструктивного синдрома у детей в возрасте до 5 лет почти в 4,7 раза чаще, чем *M. pneumoniae*.

Выводы. Результаты исследования указывают на ассоциацию острых инфекций провоцируемых атипичными возбудителями *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* с развитием бронхиальной обструкции у детей первых 5 лет жизни. Наиболее распространенные клинические признаки включали одышку во всех случаях, сухой кашель в 89,8% случаев, а также визинг в 71,4% случаев.

Introducere. Există o listă impunătoare de bacterii și viruși asociate cu patologiile a căror principala manifestare clinică este sindromul bronhoobstructiv. Unele studii ne sugerează faptul că unii din acești agenți patogeni, în special bacteriile atipice *Chlamydia pneumoniae* (*C. pneumoniae*) și *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*) sunt puternic legate cu dezvoltarea sindromului bronhoobstructiv și exacerbarea astmului bronșic, atât la copii cât și la adulți. Majoritatea cercetătorilor afirmă că rata cea mai mare de infecții cu *C. pneumoniae* și *M. pneumoniae* este înregistrată la copiii de vârstă școlară și adulții tineri [2,9,11,13]. Totodată, există și publicații științifice care confirmă că aceste infecții pot să apară și la copiii cu vârsta sub 5 ani, [4,5,12] la care cel mai des produce o afecțiune ușoară cu coriză și wheezing. *C. pneumoniae* este un agent patogen respirator relativ nou, descoperit în 1986, caracterizat prin tendința sa de a provoca infecții cronice, inaparente. Studiile serologice indică faptul că este considerabil răspândit în toată lumea [7]. Imunitatea creată prin infectare cu *C. pneumoniae* pare să fie de scurtă durată și numai parțială, de aceea și infecțiile recurente sunt frecvente. În plus, ratele de persistență a *C. pneumoniae* posttratament ating intervalul de 13-56% [10]. Este cunoscut faptul că *C. pneumoniae* joacă un rol semnificativ în

dezvoltarea bolilor respiratorii la copii și adulți. *C. pneumoniae* posedă o mai largă specificitate către celulele gazdei decât *Chlamydia trachomatis*, deoarece se poate multiplica în celule endoteliale și celule musculare netede și monocite, care sunt fagocite profesionale. *M. pneumoniae* produce peroxizi cu efect citolitic asupra celulei gazdă, fapt ce duce la oprirea mișcărilor cililor respiratori, aceste mișcări având un rol important în drenarea secrețiilor respiratorii, inhibarea lor determină stagnarea secrețiilor și favorizează apariția infecției. *M. pneumoniae* este implicată în infecțiile tractului respirator dobândite în comunitate la copii și adulți, incluzând pneumonia, pneumonita interstițială, bronșita, bronșiolita și faringita [6].

Scopul studiului. Stabilirea ratei și estimarea particularităților clinic-evolutive ale maladiilor bronhoobstructive la copiii infectați cu *C. pneumoniae*, și *M. pneumoniae* în grupul pacienților sub 5 ani, cu infecții acute ale căilor respiratorii inferioare.

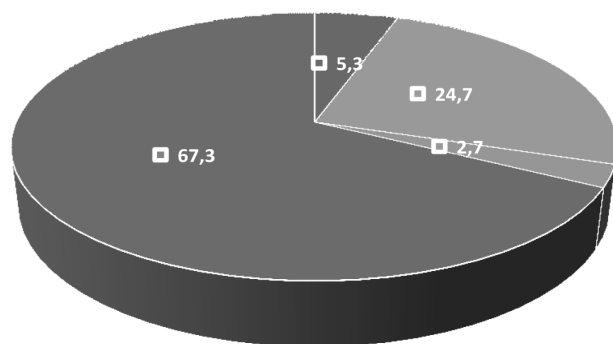
Material și metode. Studiul, de tip prospectiv, a inclus 150 de copii cu vârsta cuprinsă între 3 luni - 5 ani, internați în clinica de Pneumologie al IMSP IMȘIC. În calitate de criteriu de eligibilitate a servit prezența sindromului bronhoobstructiv și vârsta sub 5 ani. Criteriile de excludere a pacienților din cercetare au fost: refuzul părinților/îngrijitorilor de înrolare a

copilului în studiu, prezența malformațiilor congenitale ale sistemului bronhopulmonar, cardiovascular, prezența proceselor cronice bronhopulmonare (astm bronșic, fibroză chistică, displazie bronhopulmonară ș.a.). Prezența și gravitatea sindromului bronhoobstructiv a fost apreciată prin utilizarea scorului clinic RDAI (*Respiratory Distress Assessment Instrument*) modificat [1]. Actualul episod de obstrucție bronșică a fost analizat minuțios utilizând chestionarul special elaborat, documentația medicală și efectuând examenul medical complex al copiilor.

Depistarea agenților patogeni studiați s-a efectuat prin utilizarea în paralel a două metode pentru a asigura o mai mare calitate a studiului. Detectarea ADN-ului bacterian din exudatul nazo-faringian a fost apreciat prin metoda reacției de polimerizare în lanț (RPL) iar aprecierea anticorpilor specifici IgA, IgM și IgG către infecțiile studiate în serul pacienților s-a efectuat utilizând metoda imunoenzimatică ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay). **Datele** colectate în studiu au fost introduse în tabelul electronic prin intermediul programului Microsoft Office Excell 2007. Rezultatele obținute au fost prelucrate cu ajutorul programelor EXCEL, GraphPad Software. Pentru compararea diferențelor dintre loturi, au fost aplicate testul Fisher, criteriul χ^2 (chi-patrat), p – proporția sau cea mai bună estimare despre valoarea proporției cercetate. **Pragul de semnificație a fost considerat valoarea $p < 0,05$.**

Rezultatele obținute. Mai mult de 1/2 din cei 150 de copii admiși în cadrul instituției noastre cu infecții acute ale căilor respiratorii inferioare manifestate prin prezența sindromului bronhoobstructiv au fost băieți 104 (69,3%), iar raportul între băieți și fete a fost de 2,3 :1. Vârsta medie a copiilor incluși în studiu a fost de $17,8 \pm 1,2$ luni.

Infecțiile acute ale căilor respiratorii inferioare manifestate prin prezența sindromului bronhoobstructiv au fost cauzate de bacteriile atipice: *C. pneumoniae* și *M.pneumoniae* la 49 de pacienți (32,7% cazuri). Vârsta medie a copiilor diagnosticați pozitiv la infec-



■ MPN ■ CPN ■ Asocierea CPN+MPN ■ Lipsa infecției cercetate

Figura 1. Rata infecțiilor acute cu *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* și asocierea acestora la copiii cercetați (%)

țiile studiate a fost de 19,9 luni.

Bacteriile atipice au fost depistate în calitate de monoinfecții cu următoarea frecvență: *M.pneumoniae* – în 5,3% din cazuri; *C. pneumoniae* – în 24,7% din cazuri. Astfel, în studiul nostru agentul patogen *C. pneumoniae*, practic de 4,7 ori mai frecvent decât *M.pneumoniae* a fost asociat cu dezvoltarea sindromului bronhoobstructiv la copiii sub 5 ani.

Asocierea ambilor agenți patogeni în cadrul episodului de obstrucție bronșică studiat (co-infecția) la copiii internați a fost remarcată în doar 2,7% cazuri.

Raportându-ne la grupele de vârstă folosite în literatura de specialitate ca limite clasice de vârstă pentru definirea perioadelor copilăriei (tabel 1), am observat că infecția acută determinată de bacteriile atipice *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* se întâlnește în toate grupele de vârstă, inclusiv la sugari. Totodată, în cadrul cercetării noastre agentul patogen *C. pneumoniae* a fost mai frecvent depistat, comparativ cu *M. pneumoniae* în toate grupele de vârstă studiate, iar printre sugari și antepreșcolari această diferență a fost confirmată statistic (tabel 1).

Tabel. 1

Frecvența infectării cu *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* la copiii cu sindrom obstructiv bronșic raportată la grupele de vârstă (%)

Vârsta	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	X^2, p, gl	Co-infecție	Lipsa infecției cercetate
	<i>n/total</i> (%)	<i>n/total</i> (%)		<i>n/total</i> (%)	<i>n/total</i> (%)
<1 an	3/69(4,3%)	17/69(24,6%)	$X^2=9,3; gl=1; p^*=0,0023$	1/69(1,4%)	48/69 (69,6%)
1-3 ani	3/57 (5,3%)	13/57(22,8%)	$X^2=6,1; gl=1; p=0,0136$	2/57(3,5%)	39/57(68,4%)
3-5 ani	2/24 (8,3%)	7/24(29,2%)	$X^2=2,2; gl=1; p=0,13$	1/24(4,1%)	14/24(58,3%)
Total	8/150 (5,3%)	37/150(24,7%)	$X^2=20,5; gl=1 p^*<0,0001^*$	4/15(2,7%)	101/150(67,3%)

Analizând rezultatele obținute, am constatat că rata depistării agenților patogeni studiați crește odată cu vârsta. Astfel, printre copiii de vârstă preșcolară sindromul bronhoobstructiv asociat infecției acute cu *M. pneumoniae* este diagnosticat în 8,3% cazuri, practic de 2 ori mai frecvent decât printre sugari, la care se depistează în doar 4,3% cazuri. Pentru agentul patogen *C. pneumoniae* această creștere este caracteristică, însă nu este atât de manifestă, rata depistării infecției acute cu acest patogen printre sugari fiind de 24,6% cazuri, iar printre preșcolari de 29,2% cazuri. În studiul nostru, intervalul de timp în care se manifestă cel mai frecvent sindromul bronhoobstructiv de genăză infecțioasă, cauzat de bacteriile atipice *C.pneumoniae*, *M. pneumoniae* este cea de 3-5 ani.

Manifestări clinice. În cadrul studiului nostru nu au fost constatate diferențe semnificative în tabloul clinic între pacienții infectați cu *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* și cei ce prezentau asocierea acestor infecții, ceea ce e în conformitate cu datele prezentate în literatura de specialitate [3]. Pentru stabilirea particularităților specifice obstrucției bronșice determinate de infecția cu agenții patogeni atipici am comparat manifestările clinice în grupul pacienților diagnosticați pozitiv și cei a căror investigații au relevat lipsa infecțiilor studiate. Astfel, la pacienții cu infecții acute ale căilor respiratorii cauzate de *M. pneumoniae*, *C.*

pneumoniae triada celor mai frecvente semne clinice prezente a fost următoarea: dispneea – 100% cazuri; urmată de tuse uscată – 89,8% cazuri, și wheezingul – 71,4% cazuri. În grupul pacienților la care nu a fost diagnosticată prezența agenților patogeni atipici studiați triada celor mai frecvente semne clinice prezente a fost: dispneea- 97% cazuri, febra – 76,2% cazuri și respectiv tusea uscată, care a fost determinată în 75,2% cazuri (tabel 2).

Unul dintre semnele de bază ale sindromului bronhoobstructiv – *wheezingul*, a fost relatat cu o frecvență statistic veridică mai des printre copiii ce prezentau asocierea sindromului obstructiv bronșic și infecțiile acute: *M. pneumoniae* și/ sau *C. pneumoniae* fiind prezent la 71,4% dintre aceștia și în doar 52,5% printre copiii diagnosticați negativ la infecțiile cercetate ($p<0,05$) (tabel 2).

Analizând datele ce reflectă tropismul infecției către căile respiratorii superioare, am constatat că pacienții cu obstrucție bronșică diagnosticați pozitiv cu *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* prezintă mai frecvent infecții acute ale căilor respiratorii superioare, astfel în 91,8% cazuri fiind diagnosticate sub formă de: faringită, amigdalită, laringo-traheită, comparativ cu 67,3% cazuri la pacienții fără infecțiile atipice studiate ($p<0,05$) (tabel 2).

Tabel. 2

Manifestările clinice la copiii cu sindrom bronhoobstructiv determinat de *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* și asocierea acestora vs copiii diagnosticați negativ la infecțiile cercetate (%)

Semne	Prezența infecțiilor acute cu <i>M. pneumoniae</i> , <i>C. pneumoniae</i> și asocierea acestora	Lipsa infecțiilor cercetate	p
Wheezing	35(71,4%)	53(52,5%)	$p< 0,05$
Tusea uscată	44(89,8%)	76(75,2%)	$p>0,05$
Tusea nocturnă în accese	12(24,5%)	24(23,8%)	$p>0,05$
Tuse umedă	9(18,4%)	22(21,7%)	$p>0,05$
Dispnee	49(100%)	98(97%)	$p>0,05$
Febră	30(61,2%)	77(76,2%)	$p>0,05$
Copil somnolent, letargic	13(26,5%)	39(38,6%)	$p>0,05$
Copil agitat, excitat	17 (34,7%)	35 (34,7%)	$p>0,05$
Tulburări gastrointestinale	20(40,8%)	69(68,3%)	$p< 0,05$
Infecții acute ale căilor respiratorii superioare	45(91,8%)	68(67,3%)	$p< 0,05$
Bronșiolită	7(14,3%)	17(16,8%)	$p>0,05$
Pneumonie	17 (34,7%)	56(55,4%)	$p< 0,05$

Concluzii.

În cadrul studiului a fost determinată asocierea infecției acute cu bacteriile atipice *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* și dezvoltarea sindromului bronhoobstructiv la copiii sub 5 ani de viață spitalizați cu afecțiuni respiratorii.

Triada celor mai frecvente semne clinice prezente la copiii diagnosticați pozitiv cu infecțiile cercetate: *M. pneumoniae*, *C. pneumoniae* a fost următoarea:

dispneea – 100% cazuri; urmată de tuse uscată – 89,8% cazuri, și wheezing în 71,4% cazuri.

Bibliografie

1. Protocol clinic național Bronșita acută obstructivă la copil, Chișinău, 2009 p.21
2. Chalker V., Stocki T., Litt D., Bermingham A, et al. Increased detection of Mycoplasma pneumoniae infection in children in England and Wales, October 2011

to January 2012. Euro Surveill. 2012;17(6): pii=20081. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/>

3. Chen Z., Ji W., Wang Y. et al. Epidemiology and associations with climatic conditions of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae infections among Chinese children hospitalized with acute respiratory infections Italian Journal of Pediatrics 2013, 39:34

4. Defilippi A, Silvestri M, Tacchella A, Giacchino R, Melioli G, Di Marco E, et al. Epidemiology and clinical features of Mycoplasma pneumoniae infection in children. Respir Med. 2008;102(12):1762-81

5. Elkholy A, Elkaraksy H, Fattouh A. et al. Acute lower respiratory tract infection due to Chlamydia and Mycoplasma spp. in Egyptian children under 5 years of age. J Trop Pediatr. 2009 Jun;55(3):195-7. doi:10.1093/tropej/fmn102. Epub 2009 Feb 12.

6. Foy HM. Infections caused by Mycoplasma pneumoniae and possible carrier state in different populations of patients. Clin Infect Dis 1993;17:S37-S46.

7. Juvonen R., Bloigu A., Paladins M., Peitso A., Silvennoinen-Kassinen S., Harju T., M. Leinone, P. Saikku Acute Chlamydia pneumoniae infections in asthmatic and non-asthmatic military conscripts during a non-epidemic period Clinical Microbiology and Infection Volume 14, Issue 3, pages 207–212, March 2008.

8. Kern D., Neill M., Schachter J. A seroepidemiologic study of Chlamydia pneumoniae in Rhode Island: evidence of serologic cross-reactivity. Chest 1993;104:208–213.

9. Kishaba T. Community-Acquired Pneumonia Caused by Mycoplasma pneumoniae: How Physical and Radiological Examination Contribute to Successful Diagnosis. Front Med (Lausanne). 2016 Jun 13;3:28. doi: 10.3389/fmed.2016.00028. collection 2016.

10. Kraft M., Cassel G., Pak J, et al. Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in asthma. Chest. 2002;121:1782–1788.

11. Nelson CT. Mycoplasma and Chlamydia pneumoniae in pediatrics. Seminars in Respiratory Infections 2002;17(1):10-4.

12. Principi N, Esposito S. Emerging role of Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae in pediatric respiratory-tract infections. Lancet Infectious Diseases 2001; 1:334-44.

13. Rudolph C., Rudolph A., Hostetter M., et al. Rudolph's Pediatrics. 21st Edition. USA: McGraw-Hill Medical Publishing Division, 2003.

© Elena Visternicean, V. Moșin, Alina Hotineanu A. Crețu

Elena Visternicean, V. Moșin, Alina Hotineanu A. Crețu
**IMPLICAȚIILE HOMOCISTEINEI, VITAMINELOR GRUPULUI B ȘI
POLIMORFISMUL MTHFR C677T ÎN AVORTUL SPONTAN RECURENT**
*USMF „Nicolae Testemițanu”, Catedra Obstetrică și Ginecologie FECMF
(Șef catedră – prof.univ., dr. hab. med. Olga Cernetechi)
Centrul medical „Repromed”*

SUMMARY

IMPLICATIONS OF THE MTHFR C677T POLYMORPHISM, HOMOCYSTEINE AND SERUM B VITAMINS IN THE RECURRENT MISCARRIAGES

Keywords: homocysteine, MTHFR, recurrent miscarriage, folate, vitamin B₁₂

Introduction. Elevated total serum homocysteine concentration is known to be related to many adverse pregnancy outcomes including birth defects, preeclampsia, placental abruption, spontaneous abortion, low birth weight and other maternal or fetal complications. Homocysteine is influenced by the status of B vitamins and nutritional adequacy of these vitamins is essential to maintain the plasma homocysteine levels within a normal homeostatic range. In addition, genetic polymorphism of the enzyme methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), which catalyzes the irreversible conversion of 5,10-methylenetetrahydrofolate (5,10-MTHF) to 5-MTHF in the folate cycle, is known to influence homocysteine metabolism resulting in hyperhomocysteinemia. Objective: The purpose of this study was to investigate the effect of the interaction between the C677T mutation in the MTHFR genotypes and serum levels of vitamin B₁₂ and folic acid on serum homocysteine levels in women with recurrent miscarriages.