Quarterly of the Horizon of Medical Sciences
Volume 20, Issue 4, Winter 2015
Pages: 223-229
Type: Original Research

Analysis the Prevalence of *Trichomonas vaginalis* in Women Clinics of Tehran City's Referents by PCR

Safayi delouyi Z.[1] *MSc*, Valadkhani Z.* *PhD*, Sohrabi M.[2] *PhD*

*Parasitology Department, Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran
[1]Microbiology Department, Basic Sciences Faculty, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran
[2]Biology Department, Basic Sciences Faculty, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran

Abstract

Aims: Trichomoniasis is the most common sexually-transmitted disease in the world. This study aimed to investigate the prevalence of *Trichomonas vaginalis* by PCR referred to the women clinics of Tehran City.

Materials & Methods: This cross-sectional study was done on 140 women admitted to Tehran Loghman and Shahid Shoorideh clinics hospital from November 2013 to December 2014. Demographic data were collected by a questionnaire. Using 2 swabs, from the posterior fornix of the vagina, secretions were collected with a swab to examine in the vaginal TYI-S-33 culture and another for molecular detection placed in a tube containing 2ml of sterile saline and transferred to the laboratory. Data were analyzed by SPSS 11 and One-sample T test.

Findings: Of 46 suspected patients with *Trichomonas vaginalis* infection, vaginal secretions of 11 (7.8%) patients and urine samples of 4 (2.8%) patients by PCR, vaginal secretions of 6 (4.2%) and urine sample of 1 (0.5%) were reported positive in culture. There was a significant correlation between education and husbands' job and *Trichomonas vaginalis* infection ($p<0.05$). There was not a significant correlation between contraception and prevalence of *Trichomonas vaginalis* ($p>0.05$).

Conclusion: Employing new molecular methods based on PCR is recommended as a supplement or alternative to current methods for detection of *Trichomonas vaginalis*.

Keywords

Trichomonas Vaginalis [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68014246];
Prevalence [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68015995];
Diagnosis [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68003933];
Polymerase Chain Reaction [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/68016133]

* Corresponding Author
Tel: +982164112267
Fax: +982166968855
Address: Parasitology Department, Pasteur Institute of Iran, 12th of Farvardin Street, Tehran, Iran
valad.zarrin@gmail.com
Received: July 8, 2014 Accepted: November 8, 2014 ePublished: February 19, 2015

بررسی شیوع *تریکوموناس واژینالیس* در مراجعان به درمانگاه‌های زنان شهر تهران با واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی

زهرا صفایی دلویی MSc
گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران
زرین‌تاج ولدخانی* PhD
گروه انگل‌شناسی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
مجتبی سهرابی PhD
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد قم، دانشگاه آزاد اسلامی، قم، ایران

چکیده
اهداف: تریکومونیازیس، شایع‌ترین بیماری منتقل‌شونده از طریق جنسی در دنیاست. این مطالعه با هدف بررسی شیوع *تریکوموناس واژینالیس* به‌روش PCR در مراجعان به درمانگاه‌های زنان شهر تهران انجام شد.
مواد و روش‌ها: این مطالعه توصیفی- تحلیلی روی ۱۴۰ زن مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان بیمارستان لقمان و شهید شوریده تهران از آبان ۹۲ تا اردیبهشت ۹۳، انجام شد. اطلاعات جمعیت‌شناختی زنان از طریق پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. با استفاده از ۲ سواب استریل، از قسمت خلفی فورنیکس واژن، مقداری از ترشحات جمع‌آوری شد که یک سواب برای بررسی در محیط کشت TYI-S-33 واژینال و دیگری برای انجام روش مولکولی در لوله آزمایش حاوی۲میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شد. در روش PCR از پرایمرهای اختصاصی ژن P270 استفاده شد. داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 11 و آزمون آماری T تک‌نمونه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.
یافته‌ها: از ۴۶ بیمار مشکوک به عفونت با *تریکوموناس واژینالیس*، نمونه ترشحات واژن ۱۱ نفر (۷/۸٪) و نمونه ادرار ۴ نفر (۲/۸٪) با روش PCR، نمونه ترشحات واژن ۶ نفر (۴/۲٪) و نمونه ادرار ۱ نفر (۰/۵٪) با روش کشت، مثبت گزارش شد. بین تحصیلات مراجعان و شغل همسر و آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* رابطه معنی‌دار آماری وجود داشت ($p<0/05$). بین روش پیشگیری از بارداری و آلودگی به انگل تریکوموناس واژینالیس رابطه معنی‌داری آماری وجود نداشت ($p>0/05$).
نتیجه‌گیری: استفاده از روش‌های جدید مولکولی مبتنی بر PCR، به‌عنوان روشی مکمل یا جایگزین روش‌های فعلی برای تشخیص انگل *تریکوموناس واژینالیس* پیشنهاد می‌شود.
کلیدواژه‌ها: *تریکوموناس واژینالیس*؛ شیوع؛ تشخیص؛ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۱۷
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۸/۱۷
*نویسنده مسئول: valad.zarrin@gmail.com

مقدمه
تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) تک‌یاخته‌ای متحرک با چهار تاژک، یک هسته قدامی و یک پرده مواج و عامل بیماری تریکومونیازیس، شایع‌ترین بیماری منتقل‌شونده جنسی غیرویروسی است. انسان تنها میزبان شناخته‌شده این انگل است که فقط به‌شکل تروفوزوئیت زندگی می‌کند و هنگام مقاربت از فرد آلوده به دیگری منتقل می‌شود[1]. به‌همین دلیل جزء بیماری‌های مقاربتی محسوب شده که سالیانه ۱۸۰میلیون نفر در جهان را به مبتلا می‌کند[2].

این انگل در واژن زنان به‌خصوص در قسمت سرویکس و در مجاری اورتر و غده پروستات مردان زندگی می‌کند. تصور می‌شود که خاصیت اکسیداتیو دستگاه تناسلی مردان می‌تواند عوامل بیماری‌زای معینی از انگل را مهار نماید. برای مثال، عنصر روی موجود در مایع پروستات دارای خاصیت مسمومیت سلولی برای انگل است[3]. *تریکوموناس واژینالیس* در pH طبیعی واژن قادر به زنده‌ماندن نیست[4]. باسیلی به نام *لاکتوباسیلوس دودرلاین*، فلور طبیعی واژن را تشکیل می‌دهد و قادر است از گلیکوژن سلول‌های اپیتلیال واژن تغذیه و با تولید اسیدلاکتیک باعث افزایش اسیدیته محیط واژن شود و محیط را برای رشد *تریکوموناس واژینالیس* نامساعد سازد.

با افزایش تعداد لاکتوباسیلوس‌ها، مواد غذایی واژن مصرف شده و در اثر کاهش گلیکوژن واژن، رشد و تولیدمثل لاکتوباسیلوس‌ها کاهش و در نتیجه اسیدیته واژن کم و محیط برای رشد تریکوموناس‌ها مساعد می‌شود. در ضمن، این انگل باکتری‌های موجود در محیط را می‌بلعد، بنابراین هر عاملی که موجب کاهش اسیدیته واژن شود، می‌تواند زمینه‌ساز رشد انگل باشد[4]. عوارض ناشی از تریکومونیازیس در زنان شامل ناراحتی‌های التهابی مختلف در دستگاه تناسلی، سرطان گردن رحم و نازایی است. از عوارض قبل از زایمان، پارگی زودهنگام غشای جنینی است که منجر به زایمان زودرس و تولد نوزادانی با وزن کم می‌شود[4, 5]. *تریکوموناس واژینالیس* نقش بالقوه‌ای در ایجاد عفونت‌های ثانویه با ویروس نقص ایمنی اکتسابی و ویروس پاپیلومای انسانی دارد[6].

تشخیص این بیماری بر اساس علایم و عوارض آن، چندان حساس نیست. تهیه گسترش مرطوب نیز علیرغم سریع و ارزان‌بودن، حساسیتی حدود ۶۰٪ دارد[7]. محیط‌های کشت گوناگونی از جمله محیط کشت تریکوسل- کوپفربرگ، محیط کشت تغییریافته دیاموند و سایر محیط‌های کشت نیز مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند [8, 7]. گرچه روش استاندارد تشخیص این بیماری کشت است ولی به‌دلیل حساس‌بودن شرایط برای کشت انگل، کارآیی آنها تحت تاثیر زمان‌های انکوباسیون، شرایط دمای محیط نگهداری و انتقال انگل به آزمایشگاه قرار می‌گیرد. یکی از مشکلات استفاده از محیط‌های کشت، زمان‌گیربودن و نیز عدم امکان بررسی سریع و دقیق آن است که کمتر مورد توجه پزشکان قرار گرفته است.

رنگ‌آمیزی با آکریدین اورنج و گیمسا می‌تواند برای تشخیص *تریکوموناس واژینالیس* مورد استفاده قرار گیرد. روش‌های ملکولی

مبتنی بر PCR برای تشخیص تریکومونیازیس با حساسیت و ویژگی بالا گزارش شده است[9]. در این روش، ژن‌های مختلفی از قبیل β-Tubulin، P270، 18srRNA، 5.8srRNA، 28srRNA مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند[10-13]. یکی از پرایمرهای قابل استفاده در روش PCR، پرایمر P270 است. بر اساس اطلاعات موجود، تا به حال در ایران استفاده از این پرایمر گزارش نشده است. P270، پروتئین ایمنوژنی است که از همه ایزوله‌های مورد بررسی گزارش شده است[13].

میزان شیوع عفونت با استفاده از کشت در تبریز ۹/۲٪[14]، در اردکان، میبد و یزد، در زنان مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی- درمانی با استفاده از کشت، به‌ترتیب ۵/۹، ۵ و ۲٪[15] و در آمل، در زنان مراجعه‌کننده به کلینیک زنان با استفاده از کشت، ۰/۹٪[16] مثبت گزارش شده است. شیوع تریکومونیازیس در محکومین زن ندامتگاه‌های استان تهران نیز با استفاده از کشت ۱۰/۲٪ گزارش شده است[17]. شیوع آن در همدان، با استفاده از روش کشت، ۲/۱ و ۱/۷٪ از طریق لام مرطوب[18] و در زنجان، میزان شیوع عفونت ۳/۳٪ به‌روش کشت[19] عنوان شده است. در مطالعه *ولدخانی* و همکاران[17] که روی ۱۶۱ نمونه منفی از نظر *تریکوموناس واژینالیس* به‌روش‌های کشت و لام مستقیم انجام شده است، با استفاده از روش PCR، ۷ نمونه (۴/۳٪) از نظر عفونت مثبت گزارش شده است. *دلیمی* و همکاران[20] روش تشخیص *تریکوموناس واژینالیس* با استفاده از تکثیر ژن 18srRNA به‌روش PCR را دارای حساسیت بالا گزارش نموده‌اند.

بنابراین برای کاهش ایجاد عفونت و جلوگیری از انتقال انگل به شریک جنسی فرد مبتلا و همچنین تشخیص حاملین فاقد علایم بالینی و جلوگیری از انتقال ویروس‌هایی مانند HIV نیاز است که یک روش تشخیص دقیق مانند PCR در مورد این انگل مورد استفاده قرار گیرد. حساسیت این روش به حدی است که قادر به تکثیر تعداد کم انگل تریکوموناس نیز است[۲۱]. امروزه، گسترش موج چهارم بیماری ایدز در ایران، توجه محققین را به‌سمت بیماری‌های منتقل‌شونده از طریق روابط جنسی معطوف کرده است. این موج که تلفیقی از روابط جنسی ناسالم و تزریق مشترک است، مسئولین حوزه سلامت را به تکاپو انداخته است. به دلیل اینکه *تریکوموناس واژینالیس* با بلعیدن میکروفلوراهای طبیعی واژن باعث افزایش pH محیط می‌شود و در نتیجه کاهش میکروفلوراها، رادیکال‌های آزاد محیط کاهش می‌یابد، لذا باعث مناسب‌شدن شرایط محیط در انتقال ویروس HIV و در نتیجه بیماری ایدز می‌شود[22].

تاکنون مطالعات زیادی در جهان و ایران روی این تک‌یاخته انجام شده است. با توجه به شیوع آلودگی به این انگل در ایران، انجام مطالعات بیشتر در زمینه عوامل موثر در درمان و بیماریزایی انگل دارای اهمیت است. بنابراین، برای کاهش ایجاد عفونت و جلوگیری از انتقال انگل به شریک جنسی فرد مبتلا و همچنین تشخیص حاملین فاقد علایم بالینی و جلوگیری از انتقال ویروس‌هایی مانند HIV روش تشخیص دقیقی مانند PCR در مورد این انگل ضروری به نظر می‌رسد.

این مطالعه با هدف بررسی شیوع *تریکوموناس واژینالیس* به‌روش PCR در مراجعین به درمانگاه زنان شهر تهران انجام شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه توصیفی- تحلیلی روی زنانی که به درمانگاه‌های زنان بیمارستان لقمان و شهید شوریده تهران از آبان ۹۲ تا اردیبهشت ۹۳ مراجعه کرده بودند، انجام شد. نمونه‌گیری به‌روش تصادفی صورت گرفت. حجم نمونه با استفاده از فرمول فرمول کوکران، ۱۳۷ نفر برآورد شد. ترشحات واژن و ادرار ۱۴۰ مراجعه‌کننده به‌روش مولکولی مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری از افرادی که به علت ناراحتی‌های زنان یا برای انجام آزمون پاپ‌اسمیر به درمانگاه مراجعه کرده بودند انجام گرفت. زنان حامله، بیمارانی که در ۴۸ساعت منتهی به مطالعه از داروهای موضعی استفاده کرده بودند و نیز زنانی که در دوران عادت ماهیانه بودند از مطالعه حذف شدند.

اطلاعات جمعیت‌شناختی زنان از طریق پرسش‌نامه‌ای که در آن فرم رضایتمندی نیز درج شده بود جمع‌آوری شد. کد مربوط به هر فرد به همراه مشخصات وی از جمله سن، میزان تحصیلات، شغل، شغل همسر، سابقه سقط، روش پیشگیری از بارداری، تشخیص بالینی متخصص زنان و نیز نتایج حاصل از کشت و PCR به‌تفکیک ثبت شد. درضمن شماره تماسی نیز از آنان دریافت شد که در صورت آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* بتوان برای مراجعه به پزشک و شروع درمان و همچنین بررسی بعد از درمان با آنان تماس گرفته شود.

نمونه ادرار بیماران در لوله‌های فالکون استریل (۱۵میلی‌لیتر) ریخته شد. با استفاده از ۲ سواب استریل، از قسمت خلفی فورنیکس واژن، مقداری از ترشحات جمع‌آوری شد که یک سواب برای بررسی در محیط کشت TYI-S-33 و دیگری برای انجام روش مولکولی در لوله آزمایش حاوی۲میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی استریل قرار داده و به آزمایشگاه منتقل شد. برای بررسی نمونه‌ها به‌روش مولکولی، نمونه ادرار و ترشحات موجود در سرم فیزیولوژی با ۳۵۰۰دور در دقیقه به‌مدت ۵دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از خارج‌کردن مایع رویی، رسوب آنها برای استخراج DNA و انجام روش PCR در دمای ۲۰°C- قرار گرفتند. مقداری از رسوب ادرار نیز به محیط کشت اضافه شد. محیط‌های کشت حاوی نمونه‌های بیماران داخل انکوباتور ۳۷°C به‌مدت ۷روز نگهداری و روزانه زیر میکروسکوپ معکوس مشاهده می‌شد[5].

برای استخراج DNA انگل، ابتدا محلول DNG™ Plus (Gen Cinna؛ ایران) به دمای ۳۷°C رسانده شد، سپس

۳۰۰میکرولیتر از این محلول به ۱۰۰میکرولیتر از نمونه اضافه شد. پس از انجام ورتکس به‌مدت ۱۵ثانیه و اضافه‌نمودن ۳۰۰میکرولیتر ایزوپروپانول، نمونه نیم‌ساعت در دمای ۲۰°C- قرار گرفت. سپس به‌مدت ۱۰دقیقه با ۱۲۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ و پس از خارج‌کردن محلول رویی، ۱میلی‌لیتر اتانل ۷۵٪ به رسوب نمونه اضافه شد و حدود ۵دقیقه با ۱۲۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. مرحله شست‌وشو با اتانل ۲بار تکرار شد. پس از خشک‌شدن نمونه‌ها در دمای اتاق، ۵۰میکرولیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد و به‌مدت ۵دقیقه در دمای ۶۵°C قرار داده شد تا DNA کاملاً در آب مقطر حل شود و تا زمان انجام PCR در یخچال قرار گرفت [5].

برای آزمایش نمونه‌ها به‌روش PCR از جفت پرایمرهای ژن P270 استفاده شد که ترادف نوکلئوتیدی آن به‌صورت زیر است.

رفت: ACAAGGAAATGATCAACCAGAATCAAA

برگشت: CTTGAGATTTCTTGCAAAACACAAAGT

واکنش‌های PCR در حجم ۳۰میکرولیتر انجام شدند که شامل ۳میکرولیتر (۱۰X) بافر PCR، ۰/۰۹میکرولیتر $MgCl_2$، ۳میکرولیتر DNA الگو، ۰/۰۲میکرولیتر تکDNAپلیمراز، ۰/۰۳میکرولیتر DNTP و ۲میکرولیتر از هر پرایمر و مابقی آن آب مقطر استریل اضافه شد. هر واکنش PCR که در دستگاه ترموسایکلر (Bio-RAD؛ ایالات متحده) انجام شد، شامل ۳۰چرخه بود؛ پیش از چرخه اصلی، یک مرحله انکوباسیون در۹۴°C به‌مدت ۵دقیقه انجام شد. واسرشت در ۹۴°C به‌مدت ۳۰ثانیه، آنیلینگ در ۵۲°C به‌مدت ۳۰ثانیه و طویل‌سازی در۷۲°C به‌مدت ۳۰ثانیه انجام پذیرفت. در انتها، انکوباسیون نهایی در ۵دقیقه در دمای ۷۲°C انجام شد.

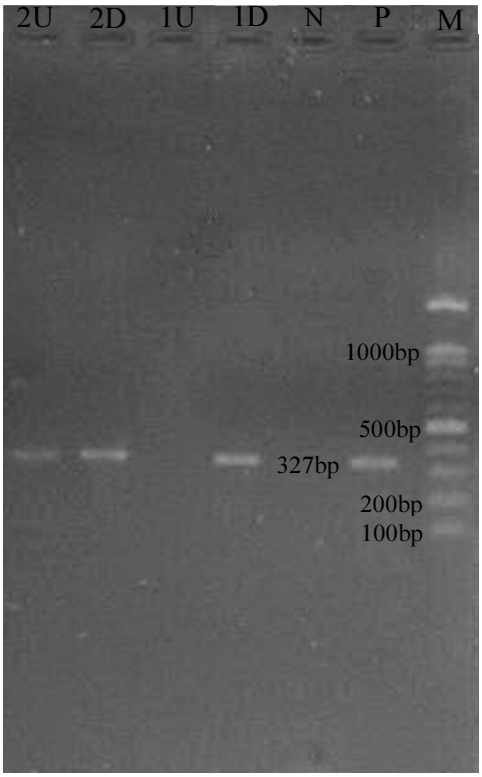
از محصول PCR هر نمونه، ۳میکرولیتر روی چاهک‌های ژل آگاروز ۱/۵٪ حاوی پاور لود KBC (Cinna Clon؛ ایران) الکتروفورز شد. الکتروفورز در بافر تریس- استات اتیلن‌دی‌آمین (TAE) در جریان ثابت ۸۰ولت انجام پذیرفت. در هر آزمایش در کنار نمونه‌ها، کنترل مثبت، کنترل منفی و نشانگر نیز قرار می‌گرفت. پس از مدت زمان لازم برای حرکت نمونه‌ها، ژل توسط دستگاه ژل‌داکت بررسی و عکس‌برداری شد.

داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS 11 و آزمون آماری T تک‌نمونه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تعیین حساسیت از فرمول تقسیم مقدار مثبت حقیقی بر مجموع مقادیر منفی کاذب و مثبت حقیقی ضرب در ۱۰۰، و برای تعیین ویژگی از فرمول تقسیم مقدار منفی حقیقی بر مجموع مقادیر مثبت کاذب و منفی حقیقی ضرب در ۱۰۰ استفاده شد. همچنین ارزش اخباری مثبت تحقیق از فرمول تقسیم مقدار مثبت حقیقی بر مجموع مقادیر مثبت کاذب و حقیقی و ارزش اخباری منفی حقیقی از فرمول تقسیم مقدار منفی حقیقی بی‌مجموع مقادیر منفی کاذب و حقیقی محاسبه شدند.

یافته‌ها

۴۶ بیمار در زمان معاینات بالینی توسط پزشک مشکوک به عفونت *تریکوموناس واژینالیس* گزارش شدند که از این میان، فقط نمونه واژینال ۱۱ نفر (۷/۸٪) به‌روش PCR با توجه به کنترل مثبت تایید شدند که ارزش اخباری مثبت آن، ۲۳٪ و ارزش اخباری منفی آن ۵۷٪ محاسبه شد. حساسیت روش PCR ۵۴٪ و ویژگی آن ۱۰۰٪ محاسبه شد.

در بیمارانی که نمونه ادرار آنها مثبت گزارش شده بود، مثبت‌بودن نمونه ترشحات واژینال نیز تایید شد. باند تشکیل‌شده در همه نمونه‌ها دارای وزن ۳۲۷کیلوباز بود (شکل ۱).



شکل ۱) بیمار شماره ۱ دارای ترشح واژن مثبت و نمونه ادرار منفی بود. نمونه واژن و ادرار بیمار شماره ۲ هر دو مثبت بود. در این شکل برای نمونه تنها باندهای DNA استخراج‌شده انگل از ترشحات ۲ بیمار آمده است (M: نشانگر ۱۰۰جفت بازی؛ P: کنترل مثبت؛ N: کنترل منفی؛ U: ادرار؛ D: ترشح واژن).

شایع‌ترین علامت بیماران مبتلا به تریکومونیازیس خارش و ترشح (۴ مورد) گزارش شد. بیشترین آلودگی (۷ مورد) در سنین ۲۹-۲۰ وجود داشت. ۳۴ نفر از نمونه‌ها (۲۴/۲٪) بی‌سواد و ۸۵ نفر (۶۰/۷٪) زیر دیپلم و یا دیپلم و ۲۱ نفر (۱۵٪) بالای دیپلم بودند. بین تحصیلات مراجعان و آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* رابطه معنی‌دار آماری وجود داشت ($p<0/05$). بیشترین میزان آلودگی مربوط به افراد بی‌سواد (۵۴٪)، و بعد از آن مربوط به افراد زیر دیپلم (۳۶٪) و کمترین میزان آلودگی در افراد با تحصیلات

دانشگاهی (۹٪) بود. بین شغل همسر و آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* رابطه معنی‌دار آماری وجود داشت (p<۰/۰۵). بیشترین میزان آلودگی (۴۵/۴٪) در زنانی بود که همسران‌شان به شغل رانندگی مشغول بودند و پس از آن به‌ترتیب همسرانی با شغل‌های کارگری (۲۷/۲٪) و آزاد (۱۸/۱٪) بیشترین آلودگی به *تریکوموناس واژینالیس* را نشان دادند. کمترین میزان آلودگی (۹٪) مربوط به زنانی بود که همسران‌شان کارمند بودند. بین روش پیشگیری از بارداری و آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* رابطه معنی‌داری آماری وجود نداشت (p>۰/۰۵). بیشترین میزان آلودگی (۴۵/۴٪) مربوط به افرادی بود که از روش طبیعی استفاده می‌کردند.

بحث

عفونت تریکومونیازیس در تمام نقاط دنیا شیوع دارد. میزان شیوع آن در ایالات متحده میزان از حدود ۱۰٪ در خانم‌های بدون علایم بالینی تا بیش از ۳۰٪ در بیمارانی که به درمانگاه‌های بیماری‌های مقاربتی مراجعه می‌کنند، گزارش شده است[23]. استفاده از روش کشت، گسترش مرطوب و PCR، شیوع ۲۸درصدی انگل *تریکوموناس واژینالیس* در ترشحات واژینال، از نمونه‌های ادرار و واژن با حساسیت PCR برای نمونه‌های واژن ۸۹٪ و برای نمونه‌های ادرار ۶۴٪ را نشان می‌دهد[23].

در مطالعه *آنورلا* و همکاران نیز، در خانم‌های دارای علایم بالینی تریکومونیازیس، شیوع ۱۵درصدی عفونت به روش کشت گزارش می‌شود[24]. همچنین *لوپزمونتون* و همکاران، در یک مطالعه مقطعی از ۲۵۲ بیمار برای شناسایی *تریکوموناس واژینالیس* به‌روش PCR، نمونه‌برداری انجام دادند، که شیوع ۲۳/۴۱٪ برای *تریکوموناس واژینالیس* اعلام گزارش شده است[25].

در بررسی روی ۲۹۷ زن، ۲۵۲ نفر (۸۴/۸٪) توسط گسترش مرطوب، ۲۵۷ نفر (۸۶/۵٪) با روش آگلوتیناسیون لاتکس، ۲۵۳ نفر (۸۵/۲٪) با استفاده از محیط کشت دیاموند و ۲۵۳ نفر (۸۵/۲٪) به‌روش PCR برای *تریکوموناس واژینالیس* مثبت گزارش شده‌اند[7]. مقایسه نتایج ذکرشده با نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که میزان آلودگی در کشورهای مذکور به‌علت بی‌بندوباری‌های جنسی، استفاده از شریک‌های جنسی متعدد و وجود مراکز فساد، در سطح بالایی نسبت به ایران قرار دارد.

شیوع آلودگی به انگل *تریکوموناس واژینالیس* در ایران در گروه‌های مختلف جامعه بین ۰/۵٪ الی ۳۰٪ گزارش می‌شود[26, 27]. در مطالعه حاضر، ۷/۸٪ ابتلا به تریکومونیازیس گزارش شد که با توجه به نوع روش مورد استفاده و جامعه مورد مطالعه با گزارش دیگر مطالعات هم‌خوانی دارد. در بررسی به‌روش‌های کشت و لام مستقیم روی ۱۶۱ نمونه منفی از نظر *تریکوموناس واژینالیس*، ۷ نمونه (۴/۳٪) با استفاده از روش PCR مثبت هستند[5]. همچنین، در مطالعه *دلیمی* و همکاران[20] نیز که تشخیص *تریکوموناس واژینالیس* با استفاده از تکثیر ژن 18srRNA به‌روش PCR انجام شده است این روش را با حساسیت و ویژگی بالایی گزارش نمودند. میزان شیوع واژینیت تریکومونیایی در مطالعات انجام‌گرفته در مراجعین به مراکز تنظیم خانواده در تهران به‌روش کشت و دید مستقیم میکروسکوپی۳/۶٪[28]، در مراجعین به مراکز بهداشتی شهر ساری به‌روش ملکولی ۲۲/۵٪[29]، در مراجعین به کلینیک زنان در گرگان به‌روش کشت و دید مستقیم میکروسکوپی ۲٪[30]، و در مراجعین به مراکز بهداشتی شهر تبریز به‌روش کشت و دید مستقیم میکروسکوپی ۴/۶۷٪[31] گزارش می‌شود.

در این مطالعه، ۷/۸٪ ابتلا به تریکومونیازیس گزارش شد که با توجه به نوع روش مورد استفاده و جامعه مورد مطالعه با سایر گزارش‌ها هم‌خوانی دارد. در ایران درصد پایین آلودگی به *تریکوموناس واژینالیس* در زنان عادی نشان می‌دهد که در مقایسه با دیگر کشورها، گسترش این بیماری از سطح پایین‌تری برخوردار است. بیشترین میزان آلودگی مربوط به گروه سنی ۲۹-۲۱سال بود که ۶۳/۶٪ جمعیت مبتلایان را شامل می‌شود. مطالعات مشابه حداکثر آلودگی را در سنینی که فعالیت‌های جنسی بالاست گزارش کرده‌اند[34, 35]. بیشترین میزان آلودگی مربوط به افراد بی‌سواد بود که با نتایج در همدان، تهران و سیرجان مطابقت دارد[18, 28, 34].

بیشترین افراد شرکت‌کننده در این تحقیق از روش طبیعی به‌عنوان روش پیشگیری از بارداری استفاده می‌کردند در حالی که افرادی که از کاندوم به‌عنوان روش جلوگیری استفاده کرده‌اند کمترین میزان آلودگی به تریکوموناس را داشتند. این موضوع با یافته‌های محققین قبلی هم‌خوانی دارد[34, 35].

تحقیقات انجام‌شده در مرکز پزشکی کلرادو نشان می‌دهد در خانم‌هایی که برای جلوگیری از بارداری، همسرانشان از کاندوم استفاده می‌کردند، میزان آلودگی به *تریکوموناس واژینالیس* ۲۰٪ از بقیه کمتر است[36]. بیشترین میزان آلودگی در بین افرادی بود که همسرانشان به شغل رانندگی مشغول بودند. در مطالعه مشابهی، بین شغل همسر و آلودگی با *تریکوموناس واژینالیس* رابطه معنی‌دار آماری دیده می‌شود و در افرادی که همسرانشان کارگر هستند بیشترین میزان شیوع گزارش می‌شود[28]. در تحقیق حاضر افرادی که همسرانشان کارمند بودند، کمترین میزان آلودگی را نشان دادند، که شاید علت آن آگاهی‌های بهداشتی افراد تحصیل‌کرده باشد.

در بررسی حاضر وجود آلودگی همراه با سوزش، خارش و ترشح ارتباط معنی‌دار آماری داشت. طبق تحقیقات مشابه که در سیرجان و تهران انجام شده است، از نظر علایم بالینی بین سوزش، خارش و افزایش ترشحات واژن با میزان آلودگی ارتباط معنی‌دار آماری وجود دارد[28, 34].

باتوجه به عوارض ناشی از آلودگی زنان به تریکومونیازیس به‌خصوص در دوران بارداری، تشخیص سریع و درمان به‌موقع

آلودگی دارای اهمیت زیادی است. روش‌های مختلفی برای تشخیص تریکومونیازیس ارزیابی شده است. روش تشخیص قطعی با استفاده از تست‌های آزمایشگاهی شامل مطالعه گسترش مرطوب، گسترش سلول‌شناسی پاپ‌اسمیر و تست‌های سرم‌شناسی است که حساسیت کمتری نسبت به روش‌های مولکولی دارند[32].

در آزمایشگاه‌های تشخیص طبی روش گسترش مرطوب متداول‌ترین روش برای تشخیص *تریکوموناس واژینالیس* در بیماران است. چون *تریکوموناس واژینالیس* به‌سرعت حرکت خود را از دست می‌دهد، باید نمونه سریعاً مورد بررسی قرار گیرد، در غیر این صورت مورد مثبت به‌عنوان منفی کاذب گزارش خواهد شد[20]. در آلودگی خفیف نیز موارد منفی کاذب وجود دارد. در روش کشت، نمونه‌ها تا ۷روز از نظر وجود انگل زنده و متحرک بررسی می‌شوند. این روش به‌علت عدم دسترسی در تمامی آزمایشگاه‌ها و مدت‌زمان طولانی برای تشخیص انگل و نیز احتمال گزارش منفی کاذب در آلودگی‌های خفیف دارای حساسیت کمتر از ۹۰٪ است[20]. از جمله این محیط‌ها به محیط کشت دور ۳، دیاموند و TYI-S-33 می‌توان اشاره نمود که از جمله روش‌های مورد تایید در تشخیص این بیماری به‌شمار می‌روند. امروزه با پیشرفت تکنولوژی، روش‌های مولکولی در تشخیص و تعیین هویت انگل‌ها که حتی انگل غیرزنده و معیوب هم قابل شناسایی است کاربردهای فراوانی دارند.

در مطالعات انجام‌شده توسط محققین مختلف این مزیت‌ها به‌وضوح نشان داده شده است[24]. نتایج مطالعه حاضر حاکی از بالابودن حساسیت و ویژگی روش PCR در مقایسه با تشخیص کلینیکی است. بنابراین تنها استناد به علایم بالینی در تشخیص کلینیکی و درمان عفونت ناشی از *تریکوموناس واژینالیس* کافی نبوده زیرا آلودگی محیط واژن با بعضی از میکروارگانیسم‌ها علایم بالینی مشابهی دارند[33]، لذا درخواست حداقل یک تست آزمایشگاهی در کنار علایم بالینی می‌تواند به تشخیص درست بیماری بسیار کمک نماید. به دلیل جمع‌آوری راحت‌تر، ادرار غالباً به جای ترشحات واژن مورد استفاده قرار می‌گیرد، ولی نتایج این تحقیق نیز نشان می‌دهد که ادرار، نمونه قابل اطمینانی برای تشخیص نیست. بنابراین بهترین نمونه برای شناسایی *تریکوموناس واژینالیس* ترشحات واژن و بهترین روش استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز است.

از محدودیت‌های این مطالعه عدم همکاری برخی بیماران برای انجام نمونه‌گیری ادرار بود که سعی بر آن شد که از اکثریت بیماران نمونه‌گیری ادرار انجام پذیرد. همچنین، نمونه باید در کمترین زمان به آزمایشگاه منتقل می‌شد تا عوامل محیطی از جمله دما روی آن بی‌تاثیر باشد زیرا در دمای کمتر یا بیشتر از ۳۷ $^{\circ}$C انگل به‌سرعت از بین می‌رود. از دیگر محدودیت‌ها می‌توان به ناآشنابودن خانم‌ها به میزان ترشحات طبیعی در طول یک سیکل قائدگی اشاره کرد که گاهاً موجب شکایت بیمار از شدت ترشحات می‌شد. پیشنهاد می‌شود نمونه ترشحات واژینال زنان مراجعه‌کننده به درمانگاه‌های زنان که دارای علایم واژینیت هستند به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ارسال و در اسرع وقت با تهیه گسترش مرطوب یا با روش PCR مورد مطالعه قرار گیرند.

امکان همزمان مشاهده گسترش مرطوب و مشاهده ترشحات واژینال بیمارانی که شک بالینی به تریکومونیازیس برای آنها وجود دارد در کلینیک‌ها و وجود یک دستگاه میکروسکوپ در کلینیک‌های زنان ضروری به‌نظر می‌رسد. با کاهش هزینه‌های آزمایشگاهی و درمانی می‌توان از روش‌های مطمئن‌تری برای تشخیص بیماری‌ها استفاده کرد. درمان همزمان بیمار و همسر و دقت در یافته‌های فیزیکی و توجه به شکایات بیمار ضروری است. آموزش خانم‌ها در زمینه شیوع و خطرات و راه‌های انتقال تریکوموناس واژینالیس (مقاربت جنسی، استخر، لوازم بهداشتی فردی و غیره) و توصیه آنها به مراجعه به‌موقع و اجرای صحیح درمان پیشنهاد می‌شود.

نتیجه‌گیری

استفاده از روش‌های جدید مولکولی مبتنی بر PCR، به‌عنوان روشی مکمل و یا جایگزین روش‌های فعلی برای تشخیص انگل *تریکوموناس واژینالیس* پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی: این مطالعه بخشی از پایان‌نامه بوده که با حمایت حوزه معاونت پژوهشی و بخش انگل‌شناسی انستیتو پاستور ایران انجام گرفته است و بدین‌وسیله ازمسئولین مربوطه تشکر و قدردانی می‌شود. همچنین از سرکار خانم *نیره حسن*، *زهره عقیقی* و نیز متخصصین محترم درمانگاه‌های زنان بیمارستان لقمان، شهید شوریده و بیمارانی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند تقدیر و تشکر می‌شود.

تاییدیه اخلاقی: مطالعات شیوع چون به‌صورت مداخله‌ای نیستند کارآزمایی بالینی محسوب نشده و ثبت آن در مراکز ثبت بین‌المللی کارآزمایی بالینی ضروری نیست.

تعارض منافع: موردی توسط نویسندگان مطرح نشده است.

منابع مالی: این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی انستیتو پاستور ایران انجام گرفته است.

منابع

1- Ovalle A, Martínez MA, de la Fuente F, Falcon N, Feliú F, Fuentealba F, et al. Prevalence of sexually transmitted infections in pregnant women attending a public hospital in Chile. Rev Chilena Infectol. 2012;29(5):517-20.

2- Queza MI, Rivera WL. Diagnosis and molecular characterization of Trichomonas vaginalis in sex workers in the Philippines. Pathog Glob Health. 2013;107(3):136-40.

3- Pattman RS. Recalcitrant vaginal trichomoniasis. Sex Transm Infect. 1999;75(2):127-8.

4- Miranda AE, Pinto VM, Gaydos CA. Trichomonas vaginalis infection among young pregnant women in Brazil. Braz J Infect Dis. 2014;18(6):669-71.
5- Valadkhani Z, Kazemi F, Assmar M, Amirkhani A, Esfandeari B, Lotfi M, et al. Molecular diagnosis of trichomoniasis in negative samples examined by direct smear and culture. Iran J Parasitol. 2010;5(4):31-6.
6- Francis SC, Ao TT, Vanobberghen FM, Chilongani J, Hashim R, Andreasen A, et al. Epidemiology of curable sexually transmitted infections among women at increased risk for HIV in northwestern Tanzania: Inadequacy of syndromic management. PLoS One. 2014;15;9(7):101221.
7- Saleh AM, Abdalla HS, Satti AB, Babiker SM, Gasim GI, Adam I. Diagnosis of Trichomonous vaginalis by microscopy, latex agglutination, diamond's media, and PCR in symptomatic women, Khartoum, Sudan. Diagn Pathol. 2014;9;9:49.
8- Madico G, Quinn TC, Rompalo A, Mackee KT, Gaydos CA. Diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR using vaginal swab samples. J Clin Microbiol. 1998;36(11):3205-10.
9- Paul H, Peter D, Pulimood SA, Abraham OC, Mathai E, Prasad JH, et al. Role of polymerase chain reaction in the diagnosis of Trichomonas vaginalis infection in human immunodeficiency virus-infected individuals from India (South). Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2012;78(3):323-7.
10- Felleisen R. Comparative sequence analysis of 5.8S rRNA genes and internal transcribed spacers (ITS) regions of trichomonadid protozoa. Parasitology. 1997;115(Pt 2):111-9.
11- Lin PR, Shaio MF, Liu JY. One-tube, nested-PCR assay for the detection of Trichomonas vaginalis in vaginal discharges. Ann Trop Med Parasitol. 1997;91(1):61-5.
12- van Der Schee C, van Belkum A, Zwijgers L, van Der Brugge E, O'neill EL, Luijendijk A, et al. Improved diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR using vaginal swabs and urine specimens compared to diagnosis by wet mount microscopy, culture, and fluorescent staining. J Clin Microbiol. 1999;37(12):4127-30.
13- Musatovova O, Alderete JF. The Trichomonas vaginalis phenotypically varying P270 immunogen is highly conserved except for numbers of repeated elements. Microb Pathog. 1999; 27(2):93-104.
14- Mazloumi AS, Namazi A, Sehhati F. prevalence & risk factores of trichomoniasis among women in Tabriz. Iran J Clin Infect Dis. 2008;3(2):67-71.
15- Bafghi AF, Aflatoonian A, Barzegar K, Ghafourzadeh M, Nabipour S. Frequency distribution of trichomoniasis in pregnant women referred to health centers of Ardakan, Meibod and Yazd, Iran. Jondishapour J Microbiol. 2009;2(4):132-9.
16- Valadkhani Z, Asmar M, Esfandiari B, Amirkhani A, Hassan N, Lotfi M. Trichomoniasis in Asymptomatic patients. Iran J Public Health. 2008;37(3):113-7.
17- Valadkhani Z, Asmar M, Hassan N, Aghigh Z, Amirkhani A, Kazemi F, et al. Prevalence of trichomoniasis in high-risk behavior group women attending penitentiaries clinic of Tehran province. Giornale Italiano di Medicina Tropicale. 2010;14(1-4):43-6.
18- Matini M, Rezaie S, Mohebali M, Maghsood A, Rabiee S, Fallah M, Rezaeian M. Prevalence of Trichomonas vaginalis Infection in Hamadan City, Western Iran. Iran J Parasitol. 2012; 7(2):67-72.
19- Nourian A, Shabani N, Fazaeli A, Mousavinasab N. Prevalence of Trichomonas vaginalis in Pregnant Women in Zanjan, Northwest of Iran. Jundishapur J Microbiol. 2013;6(8):7258.
20- Dalimi Asl A, Shirbazoo Sh, Ghaffari far F, Jorjani A. Molecular detection of Trichomonas vaginalis using gene amplification of 18srRNA by PCR. Kowsar Medical Journal. 2008.3:179-84.
21- Katiyar SK, Edlind TD. Beta-tubulin genes of Trichomonas vaginalis. Mol Biochem Parasitol. 1994;64(1):33-42.
22- Secor WE, Meites E, Starr MC, Workowski KA. Neglected parasitic infections in the United States: trichomoniasis. Am J Trop Med Hyg. 2014;90(5):800-4.
23- Lawing LF, Hedges SR, Schwebke JR. Detection of trichomonosis in vaginal and urine specimens from women by culture and PCR. J Clin Microbiol. 2000;38(10):3585-8.
24- Anorlu R, Imosemi D, Odunukwe N, Abudu O, Otuonye M. Prevalence of trichomonas vaginalis in patients with vaginah discharge in hagos, Nigeria. J Natl Med Assoc. 2004;96(3):367-71.
25- López-Monteon A, Gómez-Figueroa FS, Ramos-Poceros G, Guzmán-Gómez D, Ramos-Ligonio A. Codetection of Trichomonas vaginalis and Candida albicans by PCR in urine samples in a low-risk population attended in a clinic first level in central Veracruz, Mexico. Biomed Res Int. 2013;281892.
26- Mazloumi AS, Namazi A, Sehhati F. prevalence & risk factores of trichomoniasis among women in Tabriz. Iran J Clin Infect Dis. 2008;3(2):67-71.
27- Moshfe A, Hosseini S. Comparison of clinical & microscopis diagnosis of trichomoniasis refferd to the Yasouj women clinics. J Armaghan e Danesh.2004;9(33):81-5.
28- Farahmand M, Rezaeian M. The prevalence of trichomoniasis in women attending family planning clinics using medium and direct observation in Tehran. J Med Pur. 1996;22:27-31. [Persian]
29- Rashdi S, Ziaee H, Yaqhoubi T. Health behaviors of women with trichomoniasis treatment centers in Sari. National Congress of Nursing and Midwifery Care. J School Nurs Midwifery Allied Kermanshah. 2002;1:50. [Persian]
30- Bakhshandeh S, Ghaemi A, Behnam pour N, Rezaee M. Etiologic agents of vaginal infections in women attending a gynecology clinic Daryan Hospital in Gorgan. J Secrets. 2003;3:58-64. [Persian]
31- Jamali R, Zaree kar B, Yousofi S, Ghazanchaee A. Comparison of visual sensitivity of direct microscopy and culture methods for detection of T. vaginalis vaginalis referring to Tabriz health centers. J Lorestan Univ Med Sci. 2006;3:79-84. [Persian]
32- Mayta H, Gilman RH, Calderon MM, Gottlieb A, Soto G, Tuero I, et al. 18S ribosomal DNA-based PCR for diagnosis of Trichomonas vaginalis. J Clin Microbiol. 2000;38(7):2683-87.
33- Rabbani M, Saberi B, Mardanian F. Diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR method. J Med Sci Shahre kord. 2010;5:4-9. [Persian]
34- Sharifi I, Khatami M, Tahmores, Kermani E. Prevalence of Trichomonas Vaginalis in women referred to Vali-Asr polyclinic and the health center number 3 in Sirjan city. J Kerman Univ Med Sci.1994;1(3):125-32.
35- Sharbatdaran M, Shefaei Sh, Sami H, Haji Ahmadi M, Ramezanpour R, Mersadi N, et al. Comparison of clinical presentations, wet smear, Papanicolaou smear with Dorset's culture for diagnosis of Trichomonas Vaginalis in doubtful women to Trichomoniasis. J Babol Univ Med Sci. 2005;7(3)46-9.
36- Rosenberg MJ, Davidson AJ, Chen JH, Judson FN, Douglas JM. Barrier Contraceptives & sexual transmitted Disease. Am J Public Health. 1992;82(5):669-74.