

عفونت دستگاه تناسلی ناشی از تریکوموناس واژینالیس در زنان مراجعه کننده به بیمارستان زنان شهر قم

زمینه و هدف: تریکوموناس واژینالیس از شایع‌ترین عفونت‌های مقاربتی زنان و مردان در جهان است. براساس دانسته‌های مؤلفان آمار مستندی از شیوع تریکومونیازیس و عوارض آن در زنان استان قم وجود ندارد.

روش اجرا: در این مطالعه‌ی مقطعی با دو روش مشاهده‌ی گسترش مرطوب (wet mount) و ITS-PCR عفونت با ت. واژینالیس در نمونه‌ی تهیه‌شده با سواب از کانال واژینال زنان مراجعه کننده به بیمارستان زنان شهر قم مورد بررسی قرار گرفت. هم‌چنین، بررسی میکروسکوپی سلول‌ها و باکتری‌ها روی گسترش رنگ‌آمیزی شده انجام شد.

یافته‌ها: از مجموع ۳۰۰ نمونه‌ی تهیه‌شده از داوطلبان مراجعه کننده به بیمارستان زنان ۷ نمونه (۲/۶۷٪) با روش گسترش مرطوب و ۳۴ نمونه (۱۱/۳٪) با روش ITS-PCR مثبت شدند. صحت نتایج PCR با توالی‌یابی قطعه‌ی ژنی ITS ت. واژینالیس در محصول PCR تأیید شد. در مقایسه‌ی انجام‌شده با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک دوتایی بین افراد مبتلا و غیرمبتلا به تریکومونیازیس و با محاسبه‌ی نسبت شانس (Odds ratio [OR]) و فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪، وجود سابقه‌ی تولد نوزاد نارس (OR=۶۷۱/۹، ۹۵٪ CI: ۲/۸-۴۳/۳)، سابقه‌ی سقط جنین (OR=۲۱/۸، ۹۵٪ CI: ۱۵/۸-۵۴۴/۲)، پارگی زودهنگام کیسه‌ی آب (OR=۲۲۲/۹، ۹۵٪ CI: ۲/۱-۲۲۲/۹)، احتمال مشاهده‌ی سلول‌های اپیتلیال (OR=۱۹۷/۳، ۹۵٪ CI: ۶/۹-۳۶۹/۹) و گلبول سفید (OR=۴۳/۳، ۹۵٪ CI: ۲/۸-۶۶۵/۲) در گسترش رنگ‌آمیزی شده، در مبتلایان بیش از غیرمبتلایان به تریکومونیازیس بود.

نتیجه‌گیری: در مقایسه با گسترش مرطوب، آزمایش ITS-PCR روشی حساس و قابل اطمینان در ردیابی عفونت ت. واژینالیس در زنان است. فراوانی قابل توجه تریکومونیازیس بر اهمیت برنامه‌ی غربالگری در زنان استان قم تأکید می‌نماید. با مراجعه‌ی به موقع و تشخیص صحیح تریکومونیازیس به‌ویژه در زنان میانسال می‌توان از عوارض احتمالی آن بر بارداری پیشگیری کرد.

کلیدواژه‌ها: تریکوموناس واژینالیس، فراوانی عفونت، تشخیص، ITS-PCR

دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۸/۰۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۰۱

پوست و زیبایی؛ زمستان ۱۳۹۴، دوره‌ی ۶ (۴): ۱۹۹-۱۹۰

اعظم حبیبی^۱

دکتر محمود ناطقی رستمی^۲

دکتر معصومه دورقی^۳

معصومه دولتی^۴

دکتر بتول حسین رشیدی^۵

دکتر رقیه آهنگری^۶

۱. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک، اراک، ایران

۲. گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۴. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

۵. مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولی عصر، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۶. گروه زنان و زایمان، دانشگاه علوم پزشکی قم، قم، ایران

نویسنده‌ی مسئول:

دکتر محمود ناطقی رستمی

قم، دانشگاه علوم پزشکی قم، دانشکده‌ی پزشکی، گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی. پست الکترونیک:

rostami52@yahoo.com

تعارض منافع: ندارد.

مقدمه

تریکومونیازیس از شایع‌ترین بیماری‌های منتقله‌ی جنسی غیروروسی در جهان است و به‌عنوان یک عامل خطر ساز برای عوارض بارداری شناخته شده

و انتقال ویروس نقص ایمنی اکتسابی (Human Immunodeficiency Virus [HIV]) را تسهیل می‌کند^۱. تریکوموناس واژینالیس تک‌یاخته‌ی تاژک‌داری است که اپیتلیوم سنگ‌فرشی دستگاه ادراری، مهبل، پیشابراه و غدد اطراف آن (پارااورترال)

است که ۹۵/۱٪ آن‌ها در مناطق شهری و ۴/۹٪ در مناطق روستایی ساکن هستند. شهر قم در حال حاضر بزرگترین مرکز برای تحصیل علوم دینی شیعیان در جهان است. مرکز این استان شهر قم است که در ۱۲۰ کیلومتری جنوب غرب تهران واقع شده است. این استان به دلیل مهاجرپذیری بودن اهمیت ویژه‌ای از نظر مسائل بهداشتی دارد. تخمین زده می‌شود حدود پنجاه هزار طلبه‌ی علوم دینی از بیش از ۷۰ کشور از آفریقا، آسیا، خاورمیانه و دیگر نقاط جهان در قم سکونت دارند. هزاران تن از مهاجران از کشورهای همسایه از جمله عراق، افغانستان و پاکستان به‌طور متناوب به ایران سفر می‌کنند. مهاجرپذیری این استان از جنبه‌ی انتقال و انتشار بیماری‌های عفونی حائز اهمیت است.

براساس دانسته‌های مؤلفان، آمار مستندی از میزان شیوع عفونت با ت. واژینالیس در زنان استان قم وجود نداشته لذا هدف از انجام این پژوهش بررسی فراوانی عفونت با ت. واژینالیس در شهر قم، مرکز استان قم بود.

روش اجرا

مطالعه‌ی مقطعی حاضر از ابتدای مهرماه ۱۳۹۲ تا ابتدای تیرماه ۱۳۹۳ از زنان ۱۸ تا ۴۵ ساله‌ی علامت‌دار یا بدون علامت بوده که برای آزمایش دوره‌ای پاپ اسمیر به بیمارستان زنان و زایمان شهر قم مراجعه کرده بودند، انجام شد. معیار ورود داوطلبین به تحقیق حداقل سن ۱۸ و حداکثر سن ۴۵ سال بود و معیار واردنشدن داوطلبین مصرف آنتی‌بیوتیک در دو هفته‌ی اخیر بود. نخست به مراجعه‌کنندگان درباره‌ی اهداف و نحوه‌ی اجرای پژوهش اطلاع‌رسانی و در صورت موافقت فرد برای شرکت در این پژوهش، رضایت‌نامه‌ی آگاهانه از آن‌ها دریافت شد. سپس اطلاعات دموگرافیک و بالینی افراد (سن، وضعیت تأهل و تعداد فرزندان) در پرسش‌نامه‌ای که برای جمع‌آوری این داده‌ها تدوین شده بود، ثبت گردید.

را آلوده می‌کند^۱. سازمان جهانی بهداشت (WHO) فراوانی تریکومونیاژیس را سالانه بیش از ۱۷۰ میلیون مورد بیان کرده است که با توجه به وضعیت بهداشتی و فرهنگی - اجتماعی فراوانی آلودگی به این تک‌یاخته در مناطق مختلف می‌تواند متفاوت باشد^۲. تریکومونیاژیس دارای تظاهرات بالینی متفاوتی است به‌گونه‌ای که از شکل بدون علامت تا شکلی از بیماری که به‌صورت یک عفونت حاد چرکی تظاهر می‌کند، مشاهده می‌گردد. از علائم مشخصه‌ی عفونت می‌توان به ترشحات فراوان زرد مایل به سبز با ظاهری کف‌آلود و متعفن و هم‌چنین وجود نقاط میکروسکوپی خون‌ریزی در گردن رحم که به نمای توت‌فرنگی (colpitis macularis or strawberry cervix) معروف است، اشاره کرد^۳. مطالعات بسیاری بر این امر دلالت دارند که آلودگی زنان باردار به این انگل موجب تولد زودرس نوزاد، پارگی کیسه‌ی آب و به‌دنیا آمدن نوزاد با وزن پایین شود. از عوارض شدیدتر تریکومونیاژیس می‌توان به ناباروری، بیماری التهابی لگن، سرطان گردن رحم و افزایش احتمال انتقال HIV اشاره کرد^{۴-۷}. گزارش‌های مختلف شیوع آلودگی را در زنان ایرانی بین ۲٪ تا ۸٪ نشان می‌دهد اما با توجه به وضعیت فرهنگی - اجتماعی ممکن است به بیشتر از ۳۰٪ نیز برسد^{۸-۱۰}. در ایالات متحده، شیوع ت. واژینالیس در زنان فعال جنسی سالانه ۳-۲ میلیون عفونت علامت‌دار گزارش شده است^{۱۱}.

استان قم از استان‌های مرکزی ایران بوده که در مجاورت استان تهران قرار دارد. این استان محل گذر به قریب نیمی از استان‌های ایران بوده و سالانه بیش از ۱۴ میلیون نفر به این استان سفر یا از آن عبور می‌کنند. حدود دو میلیون نفر از این مسافران زائرانی هستند که ممکن است برای مدتی در این شهر اقامت کنند. استان قم دارای یک شهر، ۵ شهرستان، ۹ دهستان و ۲۵۶ روستا است. براساس سرشماری سال ۱۳۹۰ این استان دارای جمعیت حدود ۱۲۰۰۰۰۰ نفر

نمونه با شعله، رنگ آمیزی با کریستال ویوله به مدت ۱ دقیقه، تثبیت نمونه با لوگل به مدت ۱ دقیقه، رنگ بری با اتانول ۷۰٪ و رنگ آمیزی با فوشین به مدت ۳۰ ثانیه انجام شد. پس از هر مرحله لام‌ها با آب شست‌وشو شدند.

برای تشخیص مولکولی ت. واژینالیس با روش PCR ابتدا استخراج DNA تک‌یاخته با روش فنل کلروفرم انجام گرفت. برای انجام PCR از مناطق محافظت‌شده‌ی قطعه‌ی ITS1/5.8s/ITS2 که بیشترین یکسانی (homology) را در سویه‌های مختلف ت. واژینالیس داشته‌اند برای طراحی پرایمر استفاده گردید. پرایمرهای مورد استفاده در این تحقیق از منابع منتشرشده انتخاب گردیدند. توالی پرایمر Forward به صورت ITS-S: 5' CGG TAG GTG AAC CTG CCG TTG G 3' و توالی پرایمر Reverse به صورت ITS-As: 5' AGT TCA GCG GGT CTT CCT GCG 3' بود.

هماندسازی ژن هدف در حجم کل ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل ۱۲/۵ میکرولیتر Master mix (شرکت سیناژن، ایران)، ۲ میکرولیتر DNA، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر Forward، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر Reverse و ۹/۵ میکرولیتر آب دیونیزه بود. چرخه‌ی PCR با واسرشت (دنا تورا سیون) اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد آغاز شد، سپس ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در ۶۱ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد تکرار گردید. طول‌سازی (اکستنشن) نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد و محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز و با دستگاه doc Gel (شرکت UvTec) و با لامپ UV مشاهده شد.

با توجه به اینکه تعداد نمونه‌های مثبت ت. واژینالیس قابل توجه بود از این‌رو برای تأیید صحت تشخیص مولکولی، بخشی از محصول PCR نمونه‌های مثبت داوطلبان برای تعیین توالی

برای تهیه‌ی نمونه، از هر فرد با استفاده از سه سواب پنبه‌ای استریل از ترشحات کانال واژینال توسط پزشک متخصص زنان و زایمان نمونه‌گیری شد. از سواب اول برای تهیه‌ی گسترش به‌منظور رنگ آمیزی و از سواب دوم برای تهیه‌ی گسترش مرطوب بر روی لام استفاده شد. سواب سوم برای استخراج DNA و آزمایش PCR به محیط انتقالی حاوی phosphate buffered saline (PBS) استریل با pH برابر ۷/۴ منتقل شد. بلافاصله پس از پایان نمونه‌گیری و در همان روز، نمونه‌ها به آزمایشگاه سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قم منتقل شدند. با توجه به اینکه در ابتدای مطالعه نتایج مطلوبی از کشت نمونه در محیط Dorset به‌دست نیامد، نتایج بررسی با این محیط کشت از مطالعه حذف گردید. هم‌چنین، نمونه‌ی بیماران از نظر کلامیدیا، نیسریا گونوره‌آ و استریپتوکوک آگالاکتیه مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مثبت‌بودن در مقایسه‌ی عوارض بین زنان مبتلا و غیرمبتلا به تریکومونیاژیس از تحلیل آماری حذف شدند.

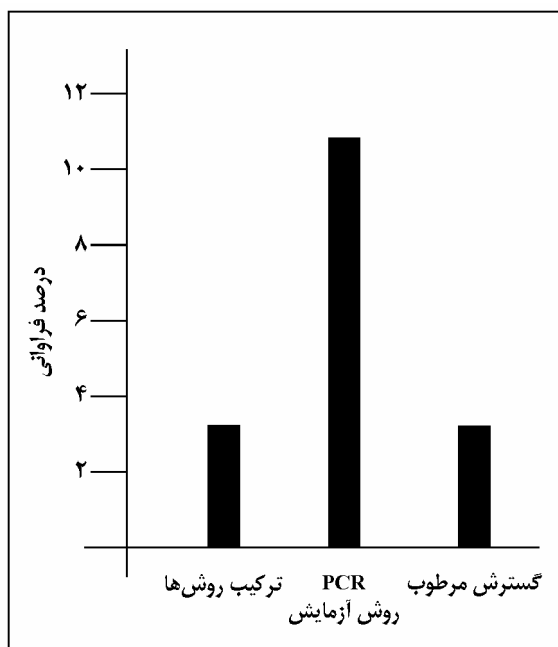
در تشخیص با استفاده از روش گسترش مرطوب (wet mount)، برای تشخیص تک‌یاخته‌ی زنده‌ی متحرک، لام‌های گسترش مرطوب بلافاصله در محل نمونه‌گیری با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی عدسی شیئی (objective) ۱۰ و ۴۰ برابر بزرگتر مشاهده و بررسی شدند. سلول گرد بیضی با اندازه‌ی حدود ۱۵ میکرومتر، تاژکدار و متحرک با حرکت سریع و نامنظم به‌عنوان تروفوزوئیت ت. واژینالیس در نظر گرفته شد.

در ارزیابی از نظر ریخت‌شناسی سلولی (cellular morphology) علاوه‌بر تشخیص تک‌یاخته، ریخت‌شناسی و نوع سلول‌های دفعی و باکتری‌های همراه ترشحات در گسترش‌ها از نظر میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند. دو گسترش مستقیم از هر نمونه‌ی بیمار تهیه و با روش‌های Gram و Giemsa رنگ آمیزی شد. در رنگ آمیزی گرم پس از ثابت کردن

(۴۱٪) دارای ترشحات بدبو، ۱۱۵ نفر (۳۸٫۳٪) خارش در محل دستگاه تناسلی، ۶۶ نفر (۲۲٪) سوزش ادراری، ۱۸۲ نفر (۶۰٫۷٪) درد زیر شکم و ۱۱۱ نفر (۳۷٪) مقاربت دردناک بودند. هم‌چنین ۴۵ نفر (۱۵٪) دارای سابقه‌ی کورتاژ و ۶۵ نفر (۲۱٫۷٪) دارای سابقه‌ی سقط جنین بوده‌اند.

در بررسی میکروسکوپی بیشترین سلول مورد مشاهده در ترشحات اندوسرویکس بیماران سلول‌های اپیتلیال با ۱۲۷ مورد (۴۲٫۳٪) بود. در گسترش رنگ‌آمیزی شده با Gram بیشترین تعداد باکتری‌ها مربوط به باسیل‌های گرم مثبت بود که در ۱۴۹ مورد (۴۹٫۶٪) از نمونه‌های داوطلبان مشاهده شد.

در بررسی فراوانی آلودگی به *T. واژینالیس* در آزمایش گسترش مرطوب از مجموع نمونه‌های مورد بررسی ۷ نمونه (۲٫۶۷٪) مثبت تشخیص داده شد. (نمودار ۱). در PCR براساس پرایمرهای طراحی شده برای ناحیه‌ی ژن ITS در اثر تکثیر باند ۳۶۱ جفت بازی در واکنش PCR مشاهده شد (شکل ۱). از میان



نمودار ۱: توزیع فراوانی موارد تریکوموناس واژینالیس در آزمایش گسترش مرطوب، PCR و ترکیب روش‌ها در زنان مورد بررسی

(sequencing) ارسال شد. نتایج حاصل از تعیین توالی در پایگاه داده‌های NCBI جست‌وجو شده و با توالی‌های مشابه ثبت‌شده، Blast شد.

داده‌های دموگرافیک، اطلاعات بالینی و یافته‌های مربوط به بررسی مولکولی با استفاده از نسخه‌ی ۱۶ نرم‌افزار SPSS (SPSS, Inc. Chicago, IL, USA) از نظر آماری توصیف و تحلیل شدند. اطلاعات توصیفی داوطلبان به شکل جداول و نمودارهای حاوی پارامترهای میانگین و درصد ارائه شده است. برای مقایسه‌ی بیماران مبتلا به تریکومونیاژیس با افراد غیرمبتلا از نظر متغیرهای مورد بررسی، از آزمون‌های مربع کای و دقیق Fisher و به‌منظور تعیین نسبت شانس (odds ratio=OR) در بررسی عوامل خطر ابتلا از تحلیل رگرسیون لجستیک دوتایی (binary logistic regression) استفاده شد. سطح معنی‌داری برابر ۵٪ تعیین و نتایج با استفاده از فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪ گزارش شدند.

یافته‌ها

در بازه‌ی زمانی بیان‌شده، ۳۰۰ داوطلب وارد این مطالعه شدند. میانگین و انحراف معیار سن افراد مورد مطالعه 33.49 ± 8.03 سال بود. ۱۳ نفر از شرکت‌کنندگان در پژوهش باردار بودند. چهل و سه نفر (۱۴٫۳٪) از افراد مورد مطالعه دارای بیماری‌های زمینه‌ای مزمن بودند. در بین این افراد، دیابت ملیتوس بیشترین فراوانی نسبی (۲۸٫۶٪) را دارا بود. از افراد مورد بررسی ۲۶۶ نفر (۸۸٫۷٪) دارای علائم بالینی مرتبط بوده و ۵۱ نفر (۱۷٪) سابقه‌ی مصرف آنتی‌بیوتیک داشتند که بیشترین آنتی‌بیوتیک مصرف‌شده آموکسی‌سیلین بود. دویست و بیست و پنج نفر (۷۵٪) از افراد مورد مطالعه از یک روش پیشگیری از بارداری استفاده کرده بودند که بیشترین مورد مربوط به روش پیشگیری منقطع (withdrawal) در ۷۲ نفر (۳۱٫۹٪) بود. در بررسی علائم بالینی ۱۲۳ نفر

از نظر سابقه‌ی سوزش ادراری ($P=0.01$)، وجود علائم بالینی ($P<0.01$)، درد زیر شکم ($P=0.013$)، سابقه‌ی سقط جنین ($P=0.01$)، خارش ناحیه‌ی تناسلی ($P=0.002$) و سابقه‌ی تولد نوزاد نارس ($P=0.05$) اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. هم‌چنین، در مقایسه‌ی بین مبتلایان و افراد غیرمبتلا به تریکومونیاژیس از نظر ریخت‌شناسی سلولی در گسترش مستقیم ($P<0.01$) اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد.

بحث

از مجموع ۳۰۰ بیمار مورد مطالعه در این بررسی، فراوانی کلی تریکومونیاژیس در زنان مراجعه‌کننده با روش گسترش مرطوب ۲/۶۷٪ و با آزمایش PCR ۱۱/۳٪ نشان داده شد. گرچه این بررسی بر روی جمعیت خاصی از زنان مراجعه‌کننده به بیمارستان انجام شده است و تعمیم آن به کل جمعیت استان قم باید با احتیاط صورت گیرد، اما اغلب زنان مراجعه‌کننده نه به‌علت بروز بیماری بلکه برای آزمایش‌های دوره‌ای مراجعه کرده بودند؛ بنابراین شیوع تریکوموناس در زنان استان قم به‌نظر می‌رسد قابل توجه باشد. در بسیاری از مطالعات مشابه دامنه‌ی موارد مثبت تریکوموناس بسیار متغیر بوده و به‌نظر می‌رسد به‌خصوص به نوع روش آزمایش به‌کارگرفته‌شده بستگی داشته است. در مطالعه‌ی طالاری و همکاران روی ترشحات جمع‌آوری‌شده‌ی ۳۵۰۰ زن با روش‌های لام مستقیم، کشت و PCR ۱۴۰ مورد مبتلا به ت. واژینالیس تشخیص داده شدند.^{۱۲} در مطالعه‌ی طالاری و همکاران، ۱۳۳ نمونه با روش PCR، ۶۲ نمونه با هر سه روش تشخیصی، ۱۲ نمونه با ترکیب روش لام مستقیم و PCR و ۵۶ نمونه با روش کشت و PCR و ۳ نمونه فقط با روش PCR مثبت تشخیص داده شدند.^{۱۲} در مطالعه‌ی ربانی در اصفهان که با روش‌های تشخیص بالینی، گسترش



شکل ۱: نتایج الکتروفورز محصول PCR بر روی نمونه‌ی DNA سواب واژینال برای تشخیص ت. واژینالیس. مارکر ۱۰۰ جفت باز در کنار، ستون ۱ تا ۱۳ نمونه‌ی داوطلبان، ستون ۱۴ سویه‌ی استاندارد (کنترل مثبت) و ستون ۱۵ کنترل منفی بدون DNA.

نمونه‌های مورد بررسی ۳۴ نمونه (۱۱/۳٪) واجد باند موردنظر در الکتروفورز و مثبت تشخیص داده شدند. (نمودار ۱). هفت مورد (۲/۶۷٪) از نمونه‌های داوطلبان مورد مطالعه با ترکیب هر دو روش از نظر آلودگی به ت. واژینالیس مثبت تشخیص داده شدند (نمودار ۱).

محصول PCR نمونه‌های مثبت داوطلبان برای تعیین توالی به شرکت مربوطه ارسال شد. نتایج تعیین توالی محصول PCR با قطعه‌ی ژنی ITS سویه‌های مختلف ت. واژینالیس ثبت‌شده در پایگاه NCBI هم‌خوانی داشت؛ بنابراین صحت تشخیص مولکولی تأیید شد و این توالی در Gene Bank با شماره‌ی Accession Number: KP221674 ثبت شد.

داوطلبان براساس نتیجه‌ی آزمایش PCR به دو گروه مبتلا (تریکومونیاژیس مثبت) و غیرمبتلا (تریکومونیاژیس منفی) تقسیم شده و فراوانی، فراوانی نسبی و نتایج مقایسه‌های انجام‌شده در مورد علائم بالینی، عوارض بارداری، بیماری‌های زمینه‌ای، روش‌های پیشگیری از بارداری، ریخت‌شناسی سلولی و با استفاده از مقادیر P و فاصله‌ی اطمینان ۹۵٪ در جدول ۱ نمایش داده شده است.

بین مبتلایان و افراد غیر مبتلا به تریکومونیاژیس،

جدول ۱: نسبت شانس (OR) با استفاده از تحلیل رگرسیون لجستیک دوتایی براساس ابتلا به ت. واژینالیس

ویژگی	تریگومونیاژیس مثبت	تریگومونیاژیس منفی	نسبت شانس (OR)	حدود اطمینان ۹۵٪	P
بروز علائم بالینی	دارد	۲۱ (٪۶۱٫۸)	۰٫۰۰۰	۰٫۰۰۰ - ۰٫۰۰۱	۱٫۰۰۰
	ندارد	۱۳ (٪۳۸٫۲)			
ترشحات بدبو	دارد	۱۲ (٪۳۵٫۳)	۶٫۳	۰٫۹ - ۴۱٫۳	۰٫۰۵۵
	ندارد	۲۲ (٪۶۴٫۷)			
خارش	دارد	۸ (٪۲۳٫۵)	۱٫۲	۰٫۳ - ۹٫۷	۰٫۸۸۴
	ندارد	۲۶ (٪۷۶٫۵)			
سوزش	دارد	۰ (٪۰٫۰)	۰٫۰۰۰	۰٫۰۰۰ - ۰	۰٫۹۹۵
	ندارد	۳۴ (٪۱۰۰)			
علائم بالینی	دارد	۰ (٪۰٫۰)	۰٫۰۰۰	۰٫۰۰۰ - ۰	۰٫۹۹۸
	ندارد	۳۴ (٪۱۰۰)			
درد زیر شکم	دارد	۱۴ (٪۴۱٫۲)	۰٫۴	۰٫۱ - ۲٫۳	۰٫۳۰۹
	ندارد	۲۰ (٪۵۸٫۸)			
مقایرت دردناک	دارد	۹ (٪۲۶٫۵)	۱٫۵	۰٫۲ - ۹٫۶	۰٫۶۹۵
	ندارد	۲۵ (٪۷۳٫۵)			
ناباروری	دارد	۱ (٪۲٫۹)	۰٫۰۰۰	۰٫۰۰۰ - ۰	۰٫۹۹۸
	ندارد	۳۳ (٪۹۷٫۱)			
حاملگی	دارد	۲ (٪۵٫۹)	۰٫۰۰۰	۰٫۰۰۰ - ۰	۰٫۹۹۷
	ندارد	۳۲ (٪۹۴٫۱)			
نوزاد مرده	بلی	۱ (٪۲٫۹)	۰٫۱	۰٫۰۱ - ۱۲٫۵	۰٫۳۵۸
	خیر	۳۳ (٪۹۷٫۱)			
عوارض بارداری	بلی	۳ (٪۸٫۸)	۴۳٫۳	۲٫۸ - ۶۷۱٫۹	۰٫۰۰۷
	خیر	۳۱ (٪۹۱٫۲)			
سقط جنین	بلی	۱۵ (٪۴۴٫۱)	۹۱٫۸	۱۵٫۵ - ۵۴۴٫۲	<۰٫۰۰۱
	خیر	۱۹ (٪۵۵٫۹)			
پارگی کیسه‌ی آب	بلی	۵ (٪۱۴٫۷)	۲۱٫۸	۲٫۱ - ۲۲۲٫۹	۰٫۰۰۹
	خیر	۲۹ (٪۸۵٫۳)			
کورتاژ	بلی	۴ (٪۱۱٫۸)	۰٫۰۳	۰٫۰۰۳ - ۰٫۳۷	۰٫۰۱۰
	خیر	۳۰ (٪۸۸٫۲)			
بیماری زمینه‌ای	دارد	۳ (٪۸٫۸)	۵٫۶	۰٫۳ - ۲۲٫۹	۰٫۰۷۷
	ندارد	۳۱ (٪۹۱٫۲)			
پیشگیری از بارداری	بلی	۲۵ (٪۷۳٫۵)	۱٫۵	۰٫۳ - ۷٫۲	۰٫۶۳۴
	خیر	۹ (٪۲۶٫۵)			
ریخت‌شناسی سلولی	بدون سلول	۴ (٪۱۱٫۸)	۵۵٫۷	-----	-----
	سلول اپیتلیال	۲۲ (٪۶۴٫۷)	۳۶٫۹	۶٫۹ - ۱۹۷٫۳	<۰٫۰۰۰
جمع کل	گلبول سفید	۳ (٪۸٫۸)	۴۳٫۳	۲٫۸ - ۶۶۵٫۲	۰٫۰۰۷
		۳۴ (٪۱۰۰)			

مورد با تشخیص بالینی مثبت شدند^{۱۳}. در مطالعه‌ی مراغی در شهر اهواز برای جداسازی ت. واژینالیس با روش‌های تشخیصی مستقیم، نوار تشخیصی و PCR انجام شد ۱۴٪ با روش‌های مستقیم

مرطوب و PCR انجام شد از ۲۴ زن مراجعه‌کننده ۸ نمونه با روش گسترش مرطوب و PCR مثبت تشخیص داده شدند و ۱۶ نمونه با تشخیص بالینی و PCR بررسی شدند که ۹ نمونه با روش PCR و ۸

یادشده متفاوت بوده است اما در مطالعه‌ی حاضر PCR بر روی یکی از ژن‌های متداول یعنی ITS-PCR انجام شده است. تشخیص ۱۱/۳٪ از ۳۰۰ نمونه‌ی موردبررسی در مقایسه با ۲/۶۷٪ گسترش مستقیم حساسیت بالاتر ITS-PCR را در مقایسه با روش سنتی معمول گسترش مرطوب نشان می‌دهد. اگرچه مشاهده‌ی مستقیم میکروسکوپی امروزه در دسترس‌ترین و راحت‌ترین روش جهت تشخیص ت. واژینالیس است اما دارای حساسیت پایینی است. در اغلب آزمایشگاه‌ها روش گسترش مرطوب برای تشخیص ت. واژینالیس مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به مطالعه‌ی حاضر و مطالعات انجام‌شده در این زمینه و مزایا و معایب روش‌های بررسی‌شده، می‌توان روش مولکولی PCR مبتنی بر ناحیه‌ی ITS را به‌عنوان یک روش مناسب برای شناسایی تریکوموناس واژینالیس در ترشحات واژن در زنان معرفی کرد.

تمامی زنان داوطلب متأهل با میانگین $\pm 8/03$ سال ۳۳/۴۹ سال بودند. به‌نظر می‌رسد ابتدای میانسالی سن فعال عفونت‌های مقاربتی باشد. در مقایسه‌ی بین گروه مبتلا و غیرمبتلا به تریکومونیاژیس بروز سوزش، علائم بیماری، درد زیر شکم، سابقه‌ی سقط جنین، سابقه‌ی حاملگی خارج رحمی و سابقه‌ی تولد نوزاد نارس اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. اکثر مبتلایان به تریکومونیاژیس علامت نداشتند و تعداد کمی از مبتلایان دارای علائم خارش، ترشحات بدبو، ترشحات، درد زیر شکم، مقاربت دردناک و ناباروری بودند. از میان مبتلایان هیچ کدام علائم سوزش و التهاب را نداشتند. بدون علامت‌بودن اکثر مبتلایان نشان می‌دهد که عفونت ت. واژینالیس اغلب علائم بالینی واضحی ندارند و فرد برای درمان مراجعه نمی‌کند و این امر به انتشار عفونت از ناقلان به افراد سالم کمک می‌کند. مطالعه‌ی ما نشان داد که علائم و نشانه‌های بالینی در افراد مبتلا کمتر بوده ولی میزان عوارض

و نوار تشخیصی مثبت بودند و ۲۱٪ با روش PCR با پرایمرهای TVK7 و TVK3 و ۱۹٪ با پرایمرهای TVA5 و TVA6 مثبت تشخیص داده شدند.^{۱۴} در مطالعه‌ی جمالی و همکاران از ۲۶۳۰ زن مراجعه‌کننده به مراکز بهداشتی تبریز که با دو روش مشاهده‌ی مستقیم و کشت بررسی شدند از مجموع نمونه‌ها، ۳/۴۶٪ با روش مشاهده‌ی مستقیم مثبت بودند.^{۱۵} در مطالعه‌ی در سال ۱۳۸۹، ۳۲۸ زن علامتدار با روش مشاهده‌ی مستقیم گسترش مرطوب از لحاظ عفونت تریکومونیاژیس تحت آزمایش قرار گرفتند. میزان شیوع ۶/۴٪ بود.^{۱۶} در سال ۱۳۹۱ مطالعه‌ی که جهت تشخیص تریکومونیاژیس در کلینیک‌های زنان شهرهای همدان و تهران توسط متینی با استفاده از روش‌های گسترش مرطوب، کشت و علائم بالینی انجام گرفت از بین ۷۵۰ نمونه‌ی گرفته‌شده، ۱/۷٪ با روش مستقیم مثبت تشخیص داده شدند.^{۱۷} در مطالعات دیگری نیز روش گسترش مرطوب مورد استفاده قرار گرفت. در سال ۱۳۹۱ مطالعه‌ی بر روی ۴۰۰ نمونه، شیوع را ۶/۷۵٪، در سال ۱۳۸۳ مطالعه‌ی در تبریز بر روی ۱۰۰۰ نمونه شیوع را ۳/۱٪ و در سال ۱۳۸۳ مطالعه‌ی در همدان بر روی ۴۰۰ نمونه شیوع را ۲٪ گزارش کردند.^{۱۶،۱۸،۱۹}

در مطالعه‌ی حاضر فراوانی تریکومونیاژیس ۱۱/۳٪ بوده است. تفاوت به‌دست‌آمده در این مطالعه با سایر مطالعات در زمینه‌ی شیوع عوامل عفونی می‌تواند ناشی از به‌کارگیری روش‌های مختلف تشخیصی، تفاوت در حجم نمونه و شرایط فرهنگی اجتماعی بیماران باشد. در هر صورت هم در مطالعه‌ی حاضر و هم در سایر مطالعات مورد اشاره همواره شیوع عفونت با روش PCR بالاتر از روش گسترش مرطوب و حتی کشت به‌دست آمده است. آزمون PCR یک روش تشخیصی پرکاربرد و دقیق است که حساسیت بالایی در تشخیص تریکوموناس نشان داده است؛ حتی در افرادی که علائم بالینی ندارند. نقاط هدف تکثیر در PCR در مطالعات

این اختلاف ناشی از روش‌های مختلف تشخیصی، جمعیت‌های متفاوت، تفاوت‌های اقتصادی، اجتماعی و مسائل فرهنگی می‌باشد. با توجه به اینکه در این مطالعه شیوع تریکومونیاژیس در زنان مراجعه‌کننده با روش PCR ۱۱/۳٪ بوده است، بر اهمیت فوق‌العاده‌ی غربالگری عفونت در زنان استان و مطالعه‌ی گسترده‌تر تأکید می‌نماید. در این مطالعه با بررسی روش مولکولی ITS-PCR ردیابی تریکوموناس واژینالیس در ترشحات دستگاه تناسلی زنان به‌ویژه زنان بدون علامت امکان‌پذیر گشت و روشی مقرون به‌صرفه، حساس و با اطمینان بالا در مقایسه با گسترش مرطوب راه‌اندازی شد. با توجه به اینکه عوارض بارداری با ابتلای به عفونت‌های مقاربتی نظیر ت. واژینالیس همراهی دارد، لازم است با مراجعه‌ی به‌موقع و تشخیص صحیح به‌ویژه در زنان سنین میان‌سالی از این عوارض پیشگیری گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه در قالب یک طرح پژوهشی مشترک تصویب و با حمایت مالی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قم و مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولی‌عصر، دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. از کارکنان مامایی بیمارستان زنان و زایمان شهر قم به‌خاطر همکاری در نمونه‌گیری سپاس‌گزاری می‌گردد.

بارداری در افراد مبتلا به ت. واژینالیس بیشتر مشاهده شد. البته باید توجه کرد که در این مطالعه زنان از نظر سایر عفونت‌های شایع مقاربتی نظیر کلامیدوز و سوزاک نیز مورد بررسی قرار گرفتند و موارد مثبت از مقایسه حذف شدند. ممکن است بروز عوارض بارداری مورد اشاره به‌علت عفونت‌های ویروسی یا بیماری‌های خاص دستگاه تناسلی باشد که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفت. در بین مبتلایان به تریکومونیاژیس پارگی زود هنگام کیسه‌ی آب، سابقه‌ی تولد نوزاد نارس و سقط جنین بیشتر از افراد غیرمبتلا بود که احتمال ارتباط ت. واژینالیس با عوارضی نظیر سقط جنین را مطرح می‌کند ولی تأیید این امر نیازمند مطالعات با طراحی و اجرای مناسب تر است.

در مقایسه‌ی بین گروه مبتلا و غیرمبتلا به تریکومونیاژیس از نظر ریخت‌شناسی سلولی در گسترش مستقیم اختلاف معنی‌داری وجود داشت و در افراد غیرمبتلا گسترش‌های بدون سلول بیشتر بود و اغلب زنان مبتلا به تریکومونیاژیس در گسترش مستقیم سلول شامل گلبول سفید و اپیتلیال داشتند و وجود این سلول‌ها در گسترش مستقیم بیماران نشان‌دهنده‌ی این است که عفونت ت. واژینالیس باعث تخریب مخاط و ریزش سلول‌های اپیتلیال می‌شود و از طرف دیگر با تحریک سیستم ایمنی باعث ایجاد التهاب موضعی و ارتشاح گلبول‌های سفید چندهسته‌ای می‌گردد.

در ایران شیوع ت. واژینالیس از استانی به استان دیگر و از جمعیتی به جمعیت دیگر متفاوت است که

References

1. Kissinger P. Trichomonas vaginalis: a review of epidemiologic, clinical and treatment issues. BMC Infect Dis 2015;15:307.
2. World Health Organization. 1995. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted diseases: overview and estimates. WHO, Geneva, Switzerland.
3. Schwebke JR & Burgess D. Trichomoniasis. Clin Microbiol Rev 2004;17:794-803.
4. Xiao JC, Xie LF, Fang SL, et al. Symbiosis of Mycoplasma hominis in Trichomonas vaginalis may link metronidazole resistance in vitro. Parasitol Res 2006;100:123-30.
5. Sorvillo F, Smith L, Kerndt P, Ash L. Trichomonas vaginalis, HIV, and African-Americans. Emerg Infect Dis 2001;7:927-32.

6. Ali V, Nozaki T. Current therapeutics, their problems, and sulfur-containing-amino-acid metabolism as a novel target against infections by “amitochondriate” protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev* 2007;20:164-87.
7. Wright JM, Dunn LA, Kazimierzuk Z, et al. Susceptibility in vitro of clinically metronidazole- resistant *Trichomonas vaginalis* to nitazoxanide, toyocamycin, and 2- fluoro-2'-deoxyadenosine. *Parasitol Res* 2010;107:847-53.
8. Edrissian GH, Rezaeian M, Ghorbani M, et al. (eds.). [Medical parasitology]. 1st Ed. Tehran. Tehran University of Medical Sciences; 2007. [Persian]
9. Rezaeian M, Vatanshenassan M, Rezaie S, et al. Prevalence of trichomonas vaginalis using parasitological methods in Tehran. *Iran J Parasitol* 2009;4:43-7.
10. Rabiee S, Fallah M, Zahabi F. Frequency of trichomoniasis in patients admitted to outpatient clinics in Hamadan (2007) and relationship between clinical diagnosis and laboratory findings. *J Res Health Sci* 2010;10:31-5.
11. John DT, Petri WA (eds.). *Markell and Voge's medical parasitology*. 9th Ed. St. Louis: Saunders 2006; 22-78.
12. Talari SA, Kazemi A, Hooshyar H, et al. [Detection of drug resistance gene in trichomonas vaginalis by PCR]. *J Kashan Univ Med Sci* 2011; 15:47-52. [Persian]
13. Rabani M, Saberi B, Jatarian A, Mardanian F. [Diagnosis of trichomonas vaginalis by PCR method]. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2003; 5:4-9. [Persian]
14. Maraghi S, Khosravi A, Kardouni T, et al. Evaluation of an immunochromatographic strip (Xenostrip-Tv) test for diagnosis of vaginal trichomoniasis compared with wet mount and PCR assay. *Iran J Parasitol* 2008;3(3):11-17.
15. Jamali R, Zareikar B, Yousefee S, Ghazanchaei A. [Comparison of direct microscopic examination and culture methods sensitivity for diagnosis of trichomonas vaginalis in Tabriz health care centers visitors]. *Quarterly J Res Lorestan Univ Med Sci* 2007; 8:63-8. [Persian]
16. Salmani R, Baghchesaraie H, Amini B. Prevalence of trichomonas vaginalis infection among women referred to laboratories in Zanjan, 2010. *Preventive Care in Nursing and Midwifery* 2011;9: 69-75. [Persian]
17. Matini M, Rezaie S, Mohebbali M, Maghsood AH. Prevalence of trichomonas vaginalis infection in Hamadan City, Western Iran. *Iran J Parasitol* 2012;7:67-72.
18. Namazi A, Sehati F, Mazloumi AS, et al. Prevalence, risk factors and clinical findings of trichomoniasis and [Candidiasis in women referred to selected health center in Tabriz in 2004]. *Tabriz Nursing and Midwifery Journal* 2006; 1: 19-27. [Persian]
19. Habibipour R, Amirkhani A, Matinnia N. Contamination rate of trichomonas vaginalis in females referring to Taamin Ejtemayi hospitals in Hamedan in 2005. *Zahedan Univ Med Sci J* 2007;8:245-51.

Frequency of genital infection with *Trichomonas vaginalis* in women referred to gynecology hospital of the city of Qom

Azam Habibi, BSc¹
 Mahmoud Nateghi Rostami, PhD²
 Masoumeh Douraghi, PhD³
 Masoumeh Dolati, MSc⁴
 Batool Hossein Rashidi, MD⁵
 Roghaye Ahangari, MD⁶

1. Islamic Azad University of Arak, Arak, Iran
2. Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
3. Department of Pathobiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
4. Cellular and Molecular Research Center, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
5. Department of Obstetrics and Gynecology, Vali-Asr Reproductive Health Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
6. Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran

Corresponding Author:

Mahmoud Nateghi Rostami, PhD

Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Qom University of Medical Sciences, Qom, Iran
 Email: rostami52@yahoo.com

Conflict of interest: None to declare

Background and Aim: *Trichomonas vaginalis* infection is one of the most common sexually transmitted diseases of women and men in the world. To the best of our knowledge, there has been no previous report of the prevalence and complications of trichomoniasis in women of Qom.

Methods: In this cross-sectional study, the prevalence of *T. vaginalis* in women whom were admitted to a referral gynecology clinic in the city of Qom. For this purpose, two diagnostic methods, wet mount and ITS-PCR, were used to examine the vaginal swabs taken from the participants. Microscopic examination of cellular morphology and bacteria was also conducted on the stained smear.

Results: Three hundred volunteers were enrolled. Of 300 specimens, 7 (2.67%) by wet mount and 34 (11.3%) by ITS-PCR method were positive. The positive results of ITS-PCR were confirmed by sequencing of PCR products. In comparison with women without *T. vaginalis* infection, infection with *T. vaginalis* was associated with increased the risks of low birth weight (OR=43.3; 95% CI=2.8-671.9), in women with history of abortion (OR=91.8; 95% CI=15.5-544.2), and in women with premature rupture of membrane (PROM) (OR=21.6; 95% CI=2.1-22.9). Probability of finding of epithelial cells (OR=36.9; 95% CI=6.9-197.3) and white blood cells (OR=43.3; 95% CI=2.8-665.1) in stained smear were higher in women with *T. vaginalis* compared to those without *T. vaginalis*.

Conclusion: Comparing with wet mount, ITS-PCR seems to be a more sensitive and reliable technique in detection of *T. vaginalis* infection in women. The high prevalence of trichomoniasis emphasizes the need for screening of women in Qom. Early examination and accurate diagnosis of *T. vaginalis*, especially in middle-aged women, could prevent pregnancy-related complications of *T. vaginalis*.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, diagnosis, infection, ITS-PCR

Received: Oct 29, 2015 Accepted: Nov 22, 2015

Dermatology and Cosmetic 2015; 6 (4): 190-199