

مقایسه حساسیت روشهای دید مستقیم میکروسکوپی و کشت در تشخیص تریکوموناس واژینالیس مراجعه کنندگان به مراکز بهداشتی شهر تبریز

رسول جمالی^۱، بی تا زرعی کار^۲، صابر یوسفی^۳، اردوان قازانچائی^۴

۱- دانشیار و رییس بخش انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۲- کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۳- کارشناس ارشد باکتری شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

۴- کارشناس ارشد انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

یافته / دوره هشتم / شماره 4 / زمستان 85 / مسلسل 30

چکیده

دریافت مقاله: 85/5/5، پذیرش مقاله: 85/8/23

مقدمه: تریکوموناس واژینالیس یک پاتوژن شایع در سراسر جهان می باشد که سالانه 180 میلیون نفر را در جهان مبتلا می کند. این بیماری با واژینیت، سرویسیت، وزن کم نوزادان هنگام تولد و زایمان زودرس در زنان حامله مرتبط است. همچنین عاملی برای انتقال عفونت HIV می باشد. تشخیص تریکومونیاژیس اغلب با دید مستقیم میکروسکوپی و مشاهده انگل زنده متحرک در ترشحات واژن صورت می گیرد که حساسیت این روش 85-38% می باشد. روش استاندارد طلائی برای تشخیص انگل، کشت در محیط اختصاصی می باشد که دارای حساسیتی در حدود 95-85% می باشد. در این مطالعه از دو روش کشت و دید مستقیم برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس استفاده شده است.

مواد و روشها: از 2630 خانم مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرستان تبریز پس از اخذ رضایت و ثبت علائم بالینی با استفاده از 2 سوپا پنجه دار نمونه برداری شد. سوپا اول بلافاصله در زیر میکروسکوپ از نظر وجود انگل فعال مورد بررسی قرار گرفت و از سوپا دوم جهت کشت نمونه ها در محیط کوپفربرگ استفاده شد.

یافته ها: معاینه بالینی از 2630 مراجعه کننده به مراکز بهداشتی نشان داد که 1575 نفر (59/88%) دارای علائم واژینیت و 1055 نفر (40/11%) فاقد علائم بالینی بودند. در بیماران مبتلا به تریکوموناس واژینالیس شایعترین علامت ترشحات واژینال بود. با روش دید مستقیم میکروسکوپی از مجموع 2630 مراجعه کننده، 91 نفر (3/46%) از نظر تریکوموناس واژینالیس مثبت بودند. رشد انگل در محیط کشت در 120 نفر (4/56%) نمونه مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری: اگرچه دید مستقیم میکروسکوپی امروزه در دسترس ترین روش جهت تشخیص تریکومونیاژیس است اما دارای حساسیت پائینی می باشد. در مطالعه حاضر روش کشت به عنوان استاندارد طلائی در نظر گرفته شد و حساسیت دید مستقیم میکروسکوپی 73/33% و ویژگی آن 99/88% بدست آمد با توجه به نتایج به نظر می رسد که کشت می تواند روش انتخابی مناسبی برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس همراه با روش متداول دید مستقیم باشد.

واژه های کلیدی: تریکوموناس واژینالیس، تریکومونیاژیس، کشت کوپفربرگ

مقدمه

در سال 1836 آلفرد دان¹ در آزمایش ترشحات واژن از زنان یک توده میکروسکوپی مشاهده کرده و ارگانیسمیهای تاژکدار را گزارش کرد. وی این تاژکدار را تریکوموناس واژینالیس نامگذاری کرد. در سال 1916 Hohne که یک ژنیکولوژیست آلمانی بود نقش تریکوموناس واژینالیس را در ایجاد علائم کلینیکی گزارش کرد. در سال 1947 شکل کلاسیک انگل بوسیله Trussel نوشته شد و بوسیله سایر مولفین کشت ارگانیسیم، اپیدمیولوژی، تشخیص کلینیکی و درمان توضیح داده شد(1). تریکوموناس واژینالیس یک تک یاخته انسانی است که در سلسله پروتیستا و شاخه سارکوماستیگوفورا قرار دارد. این تک یاخته به علت داشتن یک یا چند تاژک در مرحله تروفوزوئیتی و تقسیم دوتائی در تحت شاخه تاژکداران، به علت عدم دارا بودن کلروپلاست در رده زوئوماستیگوفورا و به علت داشتن 4 یا 6 تاژک که بطور آزاد یا چسبیده به پرده موج هستند در راسته تریکومونادیدا قرار دارد. وجود سیتوستوم، 3 تا 4 تاژک آزاد و اکسوستیل که در سراسر سلول ادامه دارد این تک یاخته را در خانواده تریکومونادیده قرار می دهد، که در این خانواده در جنس تریکوموناس که مرحله کیستی ندارد و گونه تریکوموناس واژینالیس قرار می گیرد (1و2). سیر تکاملی تریکوموناس واژینالیس ساده و تنها راه ابتلا، انتقال مستقیم و بوسیله تروفوزوئیت است. نظیر برخی از تک یاخته ها فاقد مرحله کیستی است. تروفوزوئیتها با تقسیم دوتائی طولی تکثیر پیدا می کنند(3). انتقال تریکوموناس واژینالیس از طریق تماس جنسی کاملاً واضح و روشن است. چهار دلیل مبنی بر انتقال جنسی تریکوموناس واژینالیس وجود دارد:

1- مهمترین دلیل عفونت در مرد شریک جنسی زنان آلوده است.

2- تریکوموناس واژینالیس در زنان مراجعه کننده به درمانگاههای بیماریهای منتقله در اثر تماس جنسی¹ به فراوانی وجود دارد.

3- در زنان با فعالیت جنسی بیشتر از زنان یائسه و دوشیزگان دیده می شود.

4- در خارج از بدن این تاژکدار می میرد مگر اینکه از خشک شدن آن جلوگیری شود.

به نظر می رسد انتقال بیشتر از طریق مردان به زنان صورت می گیرد. در نوزادان متولد شده از مادران آلوده به تریکوموناس واژینالیس گاهی تریکوموناس واژینالیس را از دستگاه ادراری یا از واژنیت مادر کسب می کنند(4).

این انگل دارای انتشار جهانی بوده و در تمام گروههای نژادی، اجتماعی و اقتصادی وجود دارد. بیش از 180 میلیون مورد تریکوموناس واژینالیس از سراسر دنیا بطور تخمینی گزارش شده است(5). فرم اپیدمیولوژیکی تریکوموناس واژینالیس عموماً در ارتباط با بیماریهای منتقله در اثر تماس جنسی است و 56% عفونت بیماران مراجعه کننده به درمانگاه STD را تشکیل می دهد(6). مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان می دهد که شیوع آن درمقایسه با سایر بیماریهای STD که در سنین (25-15) سال است در این بیماری در سنین بالا (45-20) بیشتر دیده می شود(7). مطالعات انجام شده بر روی کشت ترشحات مردان در یکی از کلینیکهای STD در آمریکا شیوع آن را در مردان 3-12% نشان داده است(8). در ایران مطالعات مختلف شیوع تریکوموناس واژینالیس را در گروههای مختلف بین 30- 0/5% گزارش نموده اند (9، 10 و 11).

تریکومونیازیس الگوی کلینیکی متفاوت و وسیعی دارد. این بیماری در سنین باروری بیشتر دیده می شود(3) و برحسب حساسیت فرد مبتلا به عفونت در سه فرم حاد، مزمن و بدون علائم دیده می شود. در فرم حاد بیماری ترشحات

1. Sexual Transmitted disease (STD)

2. Alfred Donne

مرگ ارگانسیم در حین انتقال به محیط کشت دارای نقایصی است(14). محیط کشتهای مورد استفاده شامل: Dorse, Diamonde, Johnson CPLM, Feinberg, Kupferberg بوده اند. با پیشرفت تکنولوژی و روشهای مولکولی امروزه از این روشها بیشتر در تشخیص و تعیین هویت انگلها استفاده می شود. که از بین آنها PCR دارای بیشترین کاربرد می باشد در این روش حتی ارگانیسهای غیر زنده و معیوب هم قابل شناسائی است از این رو دارای حساسیت و ویژگی بالائی می باشد(12).

مواد و روشها

در مدت ده ماه از اردیبهشت ماه سال 1383 لغایت اسفند ماه همان سال از 2630 خانم مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرستان تبریز پس از اخذ رضایت و تکمیل فرم پرسشنامه نمونه برداری از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس انجام گرفت. مراجعه کنندگانی که دارای علائم ترشحات واژن، خارش و سوزش ادرار بودند به عنوان بیماران علامت دار و کسانی که فاقد هرگونه علامت بودند به عنوان بیماران فاقد علامت در نظر گرفته شدند. نمونه با استفاده از دو سواپ پنبه دار استریل از قسمت خلفی فونیکس واژن گرفته شد. سواپ اول بلافاصله در زیر میکروسکوپ نوری از نظر وجود احتمالی تریکوموناس واژینالیس مورد مطالعه قرار گرفت و نتیجه یادداشت گردید. سواپ دوم در شرایط استریل به محیط کشت کوپفربرگ تریکوموناس که قبلا آماده شده بود، منتقل گردید.

الف) مشاهده مستقیم: نمونه اخذ شده از مراجعه کنندگان روی لام تمیز با یک قطره سرم فیزیولوژی به آرامی مخلوط و پس از قرار دادن لامل بر روی آن در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی 40x از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس مورد مطالعه قرار گرفت.

ب) کشت انگل: محیط کشت پس از آماده سازی مطابق بروشور کارخانه سازنده در حرارت 121 °C به مدت 15 دقیقه اتوکلاو گردید. پس از سرد کردن محیط کشت تا حرارت

(لکوره) زیاد دیده می شود. این ترشحات کف دار و به رنگ زرد یا سبز بوده و در بیش از نیمی از مبتلایان دیده می شوند. pH واژن بیش از 4/5 و اغلب بیشتر از 6 است(12). علامت اختصاصی دیگر سرویکس توت فرنگی است (2). بعضی از زنان مبتلا علائم سوزش ادرار، خارش واژن، درد هنگام نزدیکی و به ندرت درد در ناحیه پایین شکم را دارند(6). در عفونت های مزمن علائم بیماری ملایم همراه با خارش و درد هنگام نزدیکی با ترشحات کم همراه با موکوس است. این فرم از بیماری در مطالعات اپیدمیولوژیکی دارای اهمیت زیادی است چرا که این افراد منبع عمده انتقال انگل هستند(2 و 3). تشخیص قطعی با استفاده از تستهای آزمایشگاهی است که شامل مطالعه لام مرطوب، کشت، رنگ آمیزی، تستهای سرولوژیکی (ELISA, IFA, ...) و اخیرا روشهای مولکولی است. روش مطالعه لام مرطوب متداول ترین روش برای تریکوموناس واژینالیس در بیماران است. در این روش پس از اخذ نمونه از بیماران بوسیله سواپ استریل، ترشحات در یک قطره سرم فیزیولوژی حل شده و در زیر میکروسکوپ ارگانسیم زنده و متحرک جستجو می شود. چون تریکوموناس واژینالیس به سرعت حرکت خود را ازدست می دهد باید لام را سریعا بررسی کرد. به علت ویژگی بالای این تست جوابهای مثبت ارزش دارند ولی جوابهای منفی به علت حساسیت کم آن باید توسط تستهای دیگر تائید شوند(12). روش کشت برای اولین بار در سال 1940 بوسیله Trussel ابداع شد(13). کشت صحیح ترین روش برای تشخیص حضور تریکوموناس واژینالیس است و حساسیت آن بین 86-97% است. در این روش سواپ اخذ شده از بیمار در شرایط استریل در محیط کشت قرار داده شده و در 37 °C قرار داده می شود. کشت ها تا 7 روز از نظر وجود ارگانسیم زنده و متحرک بررسی می شوند. این روش به علت عدم در دسترس بودن در تمامی آزمایشگاهها و مدت زمان طولانی برای تشخیص انگل و نیز جوابهای منفی کاذب به علت الف) تعداد کم انگل ب) انگلهای ناقص و معیوب ج) و

مجموع کشتهها تعداد 120 نمونه (4/56%) در محیط کشت کوپفربرگ رشد کرده و در مجموع 123 نمونه (4/67%) در کشت و یا دید مستقیم مثبت بودند. 32 نمونه که توسط روش کشت مثبت بودند در گزارش میکروسکوپی منفی گزارش شده بودند. با در نظر گرفتن روش کشت به عنوان استاندارد طلائی برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس، حساسیت دید مستقیم 73/33% و ویژگی آن 99/88% محاسبه گردید.

از میان 120 نمونه مثبت تعداد 74 نمونه (61/66%) مربوط به بیماران علامت دار و 46 نمونه (38/33%) مربوط به بیماران بدون علامت بود که میزان اهمیت تشخیص صحیح حاملین ناقل را در کنترل بیماری نشان می دهد.

بحث

میزان شیوع واژینیت تریکومونائی در مطالعات انجام گرفته بر روی 375 نفر مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرسندج 12% (17)، در 1300 مراجعه کننده به کلینیک تنظیم خانواده در تهران 3/6% (18)، در 435 مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهرساری 22/5% (19)، در 102 مراجعه کننده به کلینیک زنان در گرگان 2% (20) بوده است. در این مطالعه میزان شیوع تریکومونیاژیس در 2630 نفر مراجعه کننده به مراکز بهداشتی شهر تبریز 4/67% به دست آمد. با توجه به نتایج به نظر می رسد که کشت می تواند روش انتخابی مناسبی برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس همراه با روش متداول دید مستقیم باشد. پیشنهاد می گردد متخصصین زنان زایمان و عفونی و پزشکان و سایر افراد مرتبط تنها به علائم بالینی اکتفا نکرده و برای تشخیص قطعی بیماری، بیماران را به آزمایشگاههای تشخیص طبی معرفی کرده و علاوه بر آزمایش مستقیم، کشت ترشحات واژینال نیز درخواست گردد و آزمایشگاهها نیز ملزم به انجام کشت تریکوموناس واژینالیس شوند، تا با تشخیص موارد منفی کاذب به کمک کشت از نظر درمان بیماران گام موثری در این راستا برداشته شود.

50°C مقدار 50 میلی لیتر سرم گاو غیر فعال شده، 10000 U/ml پنی سیلین، 10000 µg/ml استرپتومایسین و 2 mg/l آمفوتریسین B به یک لیتر از محیط کشت اضافه، در لوله های دریچ دار تقسیم و در یخچال نگهداری گردید. در روز نمونه برداری لوله های حاوی محیط کشت، قبل از شروع نمونه برداری، به مدت 15 دقیقه در انکوباتور 37°C قرار داده شدند. پس از اخذ نمونه، سوآپ دوم به محیط کشت منتقل و به مدت 7 روز در دمای 37°C نگهداری گردید. کشت در روزهای 2، 3، 5 و 7 بعد از تلقیح از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس در زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت. چنانچه در زیر میکروسکوپ انگل زنده و متحرک مشاهده شده بود نمونه مثبت و در غیر این صورت منفی گزارش گردید.

یافته ها

الف) مطالعه بالینی

معاینه بالینی از 2630 مراجعه کننده به مراکز بهداشتی نشان داد که 1575 نفر (59/88%) دارای علائم واژینیت و 1055 نفر (40/11%) فاقد علائم بالینی بودند. در بیماران مبتلا به تریکوموناس واژینالیس شایعترین علامت ترشحات واژینال بود. میانگین سنی بیماران 38 سال بود (نمودار 1).



نمودار شماره 1- فراوانی علائم بالینی در بیماران مبتلا به تریکومونیاژیس

ب) مطالعه میکروسکوپی و کشت

در مطالعه مستقیم میکروسکوپی 2630 نمونه واژینال، 91 نمونه (3/46%) از نظر تریکوموناس واژینالیس مثبت بود. از

References

1. Simpson TW, Burgess DE, Zenilman J: Trichomoniasis In: Protozoal disease, Gilles HM. 1st edition. Georgina Bentliff, Great Britain, 1999 667-82.
2. Schwebke JR, Burgess D: Trichomoniasis. Clin. Microbiol. Rev, 2004, 17(4): 794-803.
3. Petrin D, Delgaty K, Bhatt R, Garber G: Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. Clin. Microbiol. Rev, 1998, 11(2): 300-17.
4. Hoffman DJ, Brown GD, Writh FH, Gebert BS, Bailey CL, Anday EK: Urinary tract infection with *Trichomonas vaginalis* in a premature newborn infant and the development of chronic lung disease. J. Perinatol, 2003, 23(1): 59-61.
5. Lyons EJ, Carlton JM: Mind the gap: Bridging the divide between clinical and molecular studies of the trichomonads. Trends Parasitol, 2004, 20(5): 204-7.
6. Wang J: Trichomoniasis. Prim Care Update Ob/ Gyns, 2000, 7(4): 148-53.
7. Soper D: Trichomoniasis: under control or undercontrolled? Am. J. Obstet. Gynaecol, 2004, 190:281-90.
8. Wendel KA, Erbeling EJ, Gaydos CA, Rompalo AM: Use of urine polymerase chain reaction to define the prevalence and clinical presentation of *Trichomonas vaginalis* in men attending an STD clinic. Sex Transm. Infect, 2003, 79: 151-3.
9. Rasti S. Survey of Trichomoniasis on the pregnant women in Kashan Shabih Khan Hospital In: 4th National Iranian Congress of Parasitology & Parasitic Diseases, October 2001-2002, 13-16, (P. 352).
10. Mahmodi MR. Comparison of Secnidazole and Metronidazole in treatment of trichomoniasis among female prisoners of Mashhad. In: 4th National Iranian Congress of Parasitology & Parasitic Disease, October, 2001-2002, 13-16, (P.365).
- ۱۱- عیدگاهی ، م ر: «بررسی تریکومونیاژیس در زنان مراجعه کننده به مراکز بهداشتی- درمانی و آزمایشگاهی جهاددانشگاهی مشهد و بررسی میزان آنتی بادی های سرمی به روش ایمونوفلورسانس غیر مستقیم» پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۸، ص ۴۷.
12. Swygard H, Seña AC, Hobbs MM, Cohen MS: Trichomoniasis: clinical manifestations, diagnosis and management. Sex. Transm. Infect, 2004, 80: 91-5.
13. Clark CG, Diamond LS: Methods for cultivation of luminal parasitic protists of clinical importance. Clin. Microbiol. Rev, 2002, 15(3): 329-41.
14. Patel SR, Wiese W, Patel SC, Ohl C, Byrd JC, Esterada CA: Systemic review of diagnostic tests for vaginal trichomoniasis. Infect. Dis. Obstet. Gynecol, 2000, 8: 248-57.
15. Cevahir N, Kaleli I, Kaleli B.: Evaluation of direct microscopic examination, acridine orange staining and culture methods for studies of *Trichomonas vaginalis* in vaginal discharge specimens. Mikrobiyol Bul., 2002, 36(3-4):329-35.
- ۱۶- فولادوند، مرادعلی. بررسی آلودگی با تریکوموناس واژینالیس بوسیله سه روش پارازیتولوژیک و ارزشیابی تست ایمونوفلورسانس غیر مستقیم IFA در بنادر بوشهر و کنگان. طب جنوب، پائیز ۷۹، شماره اول، ص ۲۹-۲۳.

- ۱۹- رشیدی، س، ضیائی، ه، یعقوبی، ط: بررسی رفتارهای بهداشتی زنان مبتلا به تریکومونیاژیس مراجعه کننده به مراکز درمانی شهر ساری. در "دومین همایش سراسری مراقبتهای پرستاری و مامائی"، (۱۳-۱۲ اسفند ۱۳۸۱)، دانشکده پرستاری-ماماوی و پیراپزشکی کرمانشاه، ص ۵۰، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه.
- ۲۰- بخشنده، س، قائمی، ع، بهنام پور، ن، رضائی، م: عوامل اتیولوژیک عفونتهای واژینال در زنان مراجعه کننده به کلینیک زنان بیمارستان دزیانی گرگان. مجله اسرار: سال دهم، پائیز ۱۳۸۲، شماره سوم، ۵۸-۶۴.
- ۱۷- پرهیزکار ع: تعیین میزان شیوع عفونتهای علامتدار واژن و ارتباط آن با روش های پیشگیری از بارداری. در "دومین همایش سراسری مراقبتهای پرستاری و مامائی"، (۱۳-۱۲ اسفند ۱۳۸۱)، دانشکده پرستاری-ماماوی و پیراپزشکی کرمانشاه، ص ۵، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه.
- ۱۸- فرهمند، م ، رضائیان، م: شیوع تریکومونیاژیس در خانمهای مراجعه کننده به کلینیک تنظیم خانواده با استفاده از محیط کشت و دید مستقیم در تهران. مجله طب و تزکیه، پائیز ۱۳۷۵، شماره ۲۲، ۲۷-۳۱.