ارزیابی حساسیت روش مستقیم درتشخیص تریکوموناس واژینالیس درمقایسه با محیط کشت دورسه

ابراهیم باد پروا[1]، امید علی پاپی[2]، فر ناز خیراندیش[3]، ید الله پور نیا[4]، مصطفی عزیزی[5]

1 –مربی، گروه انگل شناسی وقارچ شناسی، دانشکده پزشکی ،دانشگاه علوم پزشکی لرستان، دانشجوی دکترای انگل شناسی پزشکی دانشگاه تربیت مدرس

2- مربی، گروه پزشکی اجتماعی ، دانشکده بهداشت ، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

3- استادیار، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

4- مربی، هیات علمی دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

5- پزشک مرکز بهداشتی – درمانی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

یافته / دوره دوازدهم / شماره1 / بهار 89 / مسلسل 43

چکیده

دریافت مقاله: 88/6/30، پذیرش مقاله: 88/12/27

مقدمه: تریکوموناس واژینالیس تک یاخته تاژکداری است که در ناحیه ادراری - تناسلی زندگی کرده و باعث بیماری تریکومونیازیس در زنان می شود حدود 200 میلیون نفر درسراسر دنیا به آن مبتلا هستند. روش های متعددی با حساسیت و ویژگی های متفاوت در تشخیص این انگل به کار می روند که یکی از آن ها روش مستقیم با استفاده از ترشحات واژن است که نسبت به سایر روش ها روشی ساده، سریع و کم هزینه است.

مواد و روش ها: متغیرهای مونوگرافیک به وسیله پرسشنامه که حاوی متغیرهای جمع آوری شده از 160 نفر از زنان مراجعه کننده به مرکز بهداشتی شهرستان خرم آباد بوسیله اسپیکولوم و دو سواپ پنبه ای نگهداری شده در محلول گلوگز از ترشحات واژن نمونه برداری شد که یکی ازنمونه ها در سرم فیزیولوژی و به صورت مستقیم در زیر میکروسکوپ برررسی شد و دیگری در محیط کشت دورسه کشت داده شد.

یافته ها: از 160 زن مشکوک به تریکو مونیازیس به ترتیب 11/8% و 18/75% با روش مستقیم وکشت مثبت بودند که حساسیت روش مستقیم در این مطالعه63/5 درصد بود. یافته های ما بیانگر آن است که 30% زنان آلوده در گروه سنی 35-31 سال هستند. این گروه سنی دارای بیشترین فراوانی نسبی است .اکثر مبتلایان (0/43) بی سواد یا دارای تحصیلات ابتدائی بودند

بحث و نتیجه گیری: حساسیت روش مستقیم نسبت به روش کشت (به عنوان استاندارد) 63/5 درصد بوده که حساسیت نسبتاً پایینی است. گرچه با کوتاه کردن فاصله زمانی نمونه برداری تا انجام ازمایش، استفاده از میکروسکوپیست های ماهر ونمونه های مختلف باعث اصلاح این روش می گردند ولی ما توصیه می کنیم که از متدهای با حساسیت بیشتر مانند کشت وPCR باید برای تشخیص استفاده شود

واژه های کلیدی: تریکوموناس واژینالیس، روش مستقیم، روش کشت، حساسیت

آدرس مکاتبه: خرم آباد، کیلو متر 3 جاده خرم آباد – بروجرد ، مجتمع پردیس دانشگاهی ، دانشگاه علوم پزشکی ، دانشکده پزشکی

پست الکترونیک: ebrahim.badparva@yahoo.com

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس تک یاخته تاژکداری می باشد که دردستگاه تناسلی انسان به عنوان تنها میزبان طبیعی زندگی می کند(1). حدود 10 – 5 درصد ، با جمعیتی بیش از دویست میلیون نفر از زنان در دنیا به آن مبتلا هستند (2) ولی میزان شیوع در نقاط مختلف دنیا متفاوت است و به فرهنگ بهداشتی و شرایط زندگی بستگی دارد. بطور مثالً در مراکزSTD[1] (بیماری های منتقله جنسی) آمریکا ممکن است به 25% و حتی بیشتر هم برسد (3) . گرچه در طول دهه گذشته در کشورهای توسعه یافته ، شیوع انگل کاهش یافته است ولی این میزان در مناطق دور افتاده هنوز بالاست و در ایالت متحده آمریکا حدود 5 میلیون و حتی بنابر اطلاعات واصله از بعضی منابع سالیانه تا 7/4 میلیون نفر زن به این بیماری مبتلا می شوند (6 - 4) .

تریکوموناس واژینالیس عامل بیماری تریکومونیازیس ، مهمترین بیماری منتقله از طریق تماس جنسی است که در 75 – 50 درصد موارد فاقد علائم می باشد اما در موارد شدید علائمی را که به صورت ترشحات واژن (عامل اصلی مراجعه به مراکز درمانی) و خارش و تورم ناحیه ولوو ،که غیر اختصاصی بوده و ممکن است به وسیله سایر عوامل عفونی مانند قارچ ها و باکتری ها هم ایجاد شوند بروز نماید (6) . در یک مطالعه نشان داده شده است که 72% از مردان دارای همسران آلوده به تریکوموناس واژینالیس به این انگل مبتلا بوده اند (7) . آلودگی به این انگل فقط به تریکومونیازیس ختم نمی شود بلکه عوارض دیگری از جمله : انتقال ویروس HIV ، مخصوصاً در مناطقی که شیوع انگل و ویروس بالاست و زایمان زودرس ، نوزاد کم وزن و پارگی قبل از موعد کیسه جنین نیز ایجاد گردد (10-8). ضمناً مقاومت به مترونیدازول تنها داروی مورد استفاده در درمان اکثر مبتلایان به انگل (11)، ایجاب می کند تا برای درمان صحیح و کنترل و پیشگیری و تفکیک از سایر عوامل عفونت زا مانند قارچ ها و باکتری ها و ممانعت از عوامل مزاحم در اجرای برنامه ها ، دقیقاً تشخیص داده شود به همین دلیل ضمن بررسی تمام روش های تشخیصی مورد استفاده برای این انگل جایگاه روشهای مورد استفاده را مشخص می کنیم .از روش های تشخیصی می توان به موارد زیر اشاره نمود : مستقیم، استفاده ازمحیط کشت، گزنواستریپ یا تست نواری کروماتوگرافی، لاتکس اگلوتیناسیون، PCR ، پاپ اسمیر، الایزا (12 و 7).

لازم به توضیح می باشد که هرکدام از روش های مذکور با توجه به معیارهایی مانند : حساسیت ، ویژگی ، سرعت عمل ، انجام پذیری و ... دارای مزایا و معایبی می باشند. در این تحقیق دو روش مستقیم و محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند .

مواد و روش ها

این مطالعه مقطعی برای تعیین حساسیت روش تشخیصی مستقیم که روش مورد استفاده در تمام آزمایشگاههای تشخیص طبی برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس می باشد در نیمه دوم سال 1386 بر روی 160 نفر از خانم های مراجعه کننده به مراکز بهداشتی – درمانی شهرستان خرم آباد و مشکوک به تریکومونیازیس انجام گرفت .

محیط کشت دو فازی دورسه (Dorset Medium) مورد استفاده قرار گرفت.

بطور خلاصه به منظور تهیه محیط کشت بدین صورت عمل می شود: تخم مرغ ها پس از شستشو و ضد عفونی با الکل اتیلیک 70 % در ارلن استریل حاوی گلوله های شیشه ای مخلوط و سپس در لوله های شیشه ای استریل درب دار به میزان 5 ml ریخته و به صورت مورب در دمای خشک 60 °c

1-Sexually Transmitted Disease

– 50 منعقد شدند. جهت کنترل آلودگی به مدت 24 ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شدند و سپس تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردیدند. در زمان استفاده ، ابتدا تا نزدیک لبه مورب فاز جامد سرم رینگر و سپس آنتی بیوتیک و نشاسته برنج را اضافه و pH آن بین 7 – 5 تنظیم گردید.

محلول دوم که محلول مناسب برای حفظ انگل و حرکت آن برای چند ساعت بود محلول قندی 5 درصد بود که 5 g گلوکز را در 100 ml آب مقطر حل و در شرایط استریل در لوله های شیشه ای 5 ml درب دار تقسیم گردید. ضمناً این محلول باعث حذف کرک سواپ های چوپ پنبه ای که باعث گیر افتادن انگل های فعال می گردید ، هم شد. در طول مطالعه ، زنان مراجعه کننده به مراکز بهداشتی – درمانی پس ازگرفتن شرح حال توسط همکاران مامائی مستقر در مراکز، مورد معاینه قرار می گرفتند و تذکرات لازم من الجمله عدم نزدیکی و مصرف هرگونه دارویی 72 ساعت قبل از مراجعه بعدی جهت نمونه برداری به آن ها داده می شد. در روز مراجعه ، قبل از نمونه برداری پرسشنامه ای که حاوی اطلاعات فردی بیمار شامل متغییر هایی مانند : سن ، شغل ، میزان تحصیلات و وضعیت اقتصادی – بهداشتی بود تکمیل و در پرونده های آن ها بایگانی می گردید. سپس بوسیله دو سواپ پنبه ای نگهداری شده درمحلول گلوکز 5% استریل از ترشحات واژن نمونه برداری شد که یکی جهت روش مستقیم[1] و سواپ دیگر در محلول رویی محیط کشت حل و در دمای 37 °c نگهداری گردید، که در صورت وجود انگل در طول حدود یک هفته رشد وتکثیر می یافت وبا برداشت قطره ای از حد واسط دو فاز قابل تشخیص بود و در صورت عدم وجود انگل منفی تلقی می شد. آلودگی های خفیف به زمان بیشتری برای رشد انگل تا آستانه تشخیصی نیاز داشتند که در نظر گرفته شد. محیط های کشت مورد استفاده در آزمایشگاه تشخیصی گروه انگل شناسی دانشکده پزشکی تهیه می گردید.

یافته ها

این مطالعه با هدف ارزیابی حساسیت روش تشخیصی مستقیم که روشی رایج در آزمایشگاههای تشخیص طبی است بر روی 160 نفر از زنان مراجعه کننده به مراکز بهداشتی – درمانی که مشکوک به تریکومونیازیس بودند در مقایسه با کشت انجام گرفت.جهت آنالیز داده ها از آزمون آماری کای دو استفاده گردید. نتایج حاصل حاکی از آن است که19 نفر (11/8 %) با روش مستقیم و30 نفر(18/75%) با استفاده از محیط کشت آلوده به انگل تشخیص داده شدند (جدول شماره1).

جدول شماره 1 : جدول توافقی موارد آزمایش به تفکیک ، نتیجه روش کشت و نتیجه روش مستقیم

روش کشت / روش مستقیم	+	-	جمع کل
-	11	130	141
+	19	0	19
جمع	30	130	160

$K^2 = ۲/۹$ و $p < ۰/۰۱$

30 درصد افراد آلوده در گروه سنی 35-31 سال قرار داشتند، در حالی که کمترین میزان آلودگی در گروه سنی 40-36 سال و به میزان 20% بود. در گروه سنی 25-20 سال 7٪ ودر گروه سنی 30-26 سال 8٪ آلودگی به این انگل گزارش گردید.

زنان بی سواد یا دارای تحصیلات ابتدایی، بالاترین درصد آلودگی و به میزان 42% را به خود اختصاص داده بودند ولی زنان با تحصیلات دیپلم و بالاتر27 % از افراد آلوده را تشکیل دادند. در گروه با تحصیلات دوره راهنمایی یا دبیرستان میزان آلودگی 9٪ بود.

1-Wet-mount

بحث و نتیجه گیری

این مطالعه به منظور تعیین حساسیت روش مستقیم درتشخیص تریکوموناس واژینالیس در نیمه دوم سال 86 بر روی 160 نفر از زنان مراجعه کننده به مراکز بهداشتی – درمانی شهرستان خرم آباد با استفاده از ترشحات واژن انجام گرفت . که در نتیجه آن با توجه به جدول شماره (1) ، تعداد 19 نمونه (11/8%) از طریق روش مستقیم و 30 نمونه (18/75 %) از طریق روش کشت مثبت بودند . با توجه به استاندارد قرار دادن روش کشت(gold standard) ، حساسیت روش مستقیم نسبت به آن63/5% به دست آمد بدین معنی که در صورت وجود یکصد نمونه حاوی انگل فقط 63 نمونه از طریق این روش قادر به شناسایی هستند و 37/5% درصد هم به صورت منفی کاذب گزارش شدند در حالیکه ویژگی این روش مانند محیط کشت صد درصد است . یعنی همه موارد مثبت حاوی انگل هستند (10). نتایج آماری هم اختلاف معنی داری را بین این دو روش نشان داد ($p < 0/01$). نتایج حاصل از این مطالعه با تعدادی از مطالعات انجام شده که حساسیت 70 – 60 ٪ (6) را برای روش مستقیم نشان داده اند مطابقت دارد.

ولی با تعدادی از مطالعات که حداقل حساسیت را 70 درصد بیان نموده اند فاصله نسبتاً زیادی دارد . (13) در این رابطه فاکتورهای متعدد مداخله گر دخالت دارنداز جمله : مهارت و تجربه فرد میکروسکوپیست ، وجود یا عدم وجود علائم ، تعداد انگل در واحد حجم که حداقل باید 10000 در هر میلی لیتر باشد تا تشخیص داده شود (14)، فاصله زمان بین نمونه گیری تا انجام آزمایش که اگر فقط ده دقیقه به تاخیر بیفتد به علت کاهش دما و کندی حرکت انگل ، حساسیت را 20 درصد کاهش می دهد (13) و نوع نمونه ، که ممکن است ترشحات واژن ، رسوب ادرار و یا در مردان مایع منی باشد که هرکدام حساسیت خاص خود را دارند.

مثلاً آزمایش رسوب ادرار 64 % ، ترشحات واژن 73% وانجام هر دوتست که اگر با هم انجام شوندحساسیت 85% را نشان می دهند قابل ذکر است (15).

روش مستقیم با وجود مزایایی همچون : سرعت عمل ، سادگی و کم هزینه بودن وبا ویژگی صد در صد ولی دارای معایبی همچون پایین بودن حساسیت می باشد که در امر تشخیص حائز اهمیت است (14). باید توجه داشت که هیچ کدام از روش های تشخیصی عاری از عیب نیستند. مثلاً روش سیتولوژی پاپ اسمیر در 48 درصد موارد نتایج تشخیص تریکوموناس واژینالیس را به صورت منفی یا مثبت کاذب ارائه می دهد که حتماً به روش تشخیصی مکملی نیاز دارد(16). روش محیط کشت که در این مطالعه به عنوان معیار سنجش حساسیت روش مستقیم محسوب شده،با وجود ویژگی بالاولی نسبت به PCR از حساسیت پائینتری برخوردار است(17) . و حدود یک هفته وقت لازم دارد تا به نتیجه برسد (16) و روش گزنواستریپ (Xenostrip) با وجودیکه روشی ساده وسریع است ولی حساسیت پائینتری نسبت به محیط کشت دارد (18). مطمئناً با وجود مسائل و مشکلاتی که در امر نمونه برداری روش مستقیم وجود دارد در صورت حذف عوامل مداخله گر منفی و تکرار آزمایش می توان حساسیت روش مستقیم را خیلی بیشتر از آنچه گزارش می شود بالا برد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی لرستان به دلیل تامین هزینه های مورد نیاز ، و همچنین از خانمها پروانه احمدی و شهناز ابراهیمی و سایر واحدهای ذیربط به جهت همکاری بی شائبه و صمیمانه، قدردانی و تشکر می شود.

References

1. Schwebke R J and Burgess D, Trichomoniasis, Clin Microbiol Review, 2004; pp 794 – 803
2. Miller GA, Klausner JD, Coates TJ. Assessment of a rapid antigen detection system for Trichomonas vaginalis infection. Clin Diag Lab Immunol. 2003;10 (6): 1157-1158
3. Bachman L, Lewis. J, Allen R. Risk and prevalence or treatable sexually transmitted disease at a Birmingham substance abuses treatment facility. Am J Public Health. 2000; 90: 1615 – 1618
4. Paul S ,Higgins G , Qiao M , and Waddel R. Real–time PCR, for detection of Trichomonas vaginalis β– tubulin and 18SrRNA genes in female genital Specimens. J Med Microbiol. 2007; 56: 772 – 777
5. Weinstock H , Borman S, Cates W. Sexually transmitted diseases among American youth: in cadence and prevalence estimate. Perspects Sex Repord Health, 2000; 36: 6 -10
6. Mashbum J, CNM, MN, FACNM. Etiology, diagnosis, and management of vaginitis, J Midiwifery Womens Health 2006; 51: 423 – 430
7. Hobbs MM, Lapple DM, Lawing LF, Schwebke JR. Methods for detection of Trichomonas vaginalis in the male partners of infected women: implication for control of trichomoniasis . J Clin Microbiol, 2006; 44(11): 3994 – 3999
8. Chigozie LU, Moses NA, Ogbonnaya O. Trichomonas vaginalis infection in human immunodeficiency virus – seropositive Nigerian women: The public health significance. J Health Affined Sci, 2007, 6 (2): 1-7.
9. Riggs MA, Klebanoff MA. Treaten of vaginal infections to prevent preterm birth; a Meta – analysis. Clin Obstet Gynecol 2004; 47: 796 – 797
10. Adu YS, Opoku BK, Danso KA. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of Trichomonas virginals. Sex Transm – Inf. 2004; 80: 201 – 203
11. Blaha C, Duchene M, Aspock H and Walochnik J. In vitro activity of hexadecylphosphocholine against metronidazole – resistant and susceptible strains of trichomonas vaginalis. J Antimicrobial Chem, 2006; 57: 277 – 278.
12. Pillary A, Lewiss J, Ballard BC. Evaluation of xenostrip – TV, a repid diagnostic test for Trichmonas vaginalis infection. J Clin Microbiol, 2004;42(8): 3853 – 3856
13. Donder GG. Definition and classification of abnormal vaginal flora. Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynecology 2007;21(3): 355 – 373
14. Seema S , Srujana M , Arti K, Tolosa J. In pouch TV tm culture for detection of Trichomonas vaginalis . Indian J med Res 2007;125: 567 – 571
15. Blake DR, Anne D, Alain J. Use of spum urine to enhance detection of Trichomonas vaginalis in adolescent women . Arch Oedia Adolesc Mes 1999; 153:1222-1225

16. Angolika S, Angelica KK , Lilianana T . Detection of Trichomonas vaginalis on modifid Columbia agar in the routine laboratory. J Clin Microbiol, Sep. 2002; 40(9): 3277 – 3280
17. Guillermo M, Madico G, QAuirn TC, Rompalo A. Diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR using vaginal swab samples. J Clin Microbiol, 1998; 36(11) : 3205-3210
18. Nimh G. Lerrers to the editor assessment of a rapid antigen detection system for Trichomonas vaginalis . Clin Diagnos Lab Immunol.2003;10(6): 1157 – 1158