

***Trichomonas vaginalis* Genotyping Isolated from Women of Mahshahr, Iran by Nested-PCR**

Elham Moradi¹, Abdolhossein Dalimi^{2*}, Javid Sadraei³

1- M.Sc., Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2- Professor, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

3- Associate Professor, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

*Corresponding Address: Postal Code: 1411713116, Department of Parasitology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
Email: dalimi_a@modares.ac.ir

Received: 16/Feb/2017, Accepted: 21/May/2017

Abstract

Objective: *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis*) is a pathogenic protozoan of human reproductive-urinary systems that causes trichomoniasis. The disease is the most important non-viral sexually transmitted infection worldwide. Various laboratory methods have been used to diagnose *T. vaginalis*. Based on the actin gene, 6 genotypes (H, G, E, I, M, N) of *T. vaginalis* have been identified. In most studies, the clinical samples were cultured initially and then genotyped. In this study, we sought to identify and determine the genotype of *T. vaginalis* in urine samples from infected women in Mahshahr, Khuzestan Province, Iran.

Methods: Urine samples were collected from 2200 women who referred to the Laboratory of Imam Musa Kazim Hospital of Mahshahr. After microscopical examination, we extracted the parasite's DNA from 34 positive urine samples. Then, the actin gene of the parasite was amplified by nested-PCR. Finally the PCR products of actin gene were sequenced.

Results: Totally, 34 samples (54.1%) tested positive for *T. vaginalis*. After sequencing, the genotype of the parasite was identified as E in Mahshahr.

Conclusion: Genotype E of *T. vaginalis* is the single genotype among women residents of Mahshahr. No genotypic variation was seen.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*, Genotype, Nested-PCR, Actin gene, Mahshahr, Khuzestan Province

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017-2018), No.1, Pages: 53-61

تعیین ژنوتیپ تریکوموناس واژینالیس جدا شده از زنان شهرستان ماهشهر با روش Nested-PCR

الهام مرادی^۱، عبدالحسین دلیمی^{۲*}، جاوید صدراپی^۳

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۲- استاد، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

۳- دانشیار، گروه انگل شناسی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، کدپستی: ۱۴۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل شناسی

Email: dalimi_a@modares.ac.ir

پذیرش مقاله: ۹۶/۰۲/۳۱

دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۲۷

چکیده

هدف: تریکوموناس واژینالیس تک یاخته بیماری‌زای دستگاه تناسلی-ادراری انسان است که عامل تریکومونیازیس و از مهم‌ترین عفونت جنسی غیر ویروسی در جهان محسوب می‌شود. مطالعات متعددی در زمینه شناسایی ژنوتیپ‌های تریکوموناس در مناطق مختلف جهان انجام شده است. بر اساس ژن اکتین تریکوموناس واژینالیس دارای ۶ ژنوتیپ H، G، E، I، M، N است. در بیشتر این مطالعات، نمونه‌های بالینی ابتدا کشت داده شده سپس تعیین ژنوتیپ شده است. هدف از این مطالعه شناسایی تریکوموناس واژینالیس و تعیین ژنوتیپ شایع آن با استفاده مستقیم از ادرار زنان آلوده در شهرستان ماهشهر بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۲۲۰۰ نمونه ادرار زنان مراجعه‌کننده به آزمایشگاه بیمارستان امام موسی کاظم (ع) شهرستان ماهشهر، استان خوزستان جمع‌آوری و از لحاظ میکروسکوپی بررسی شد. سپس از ۳۴ نمونه مثبت ادرار ابتدا DNA انگل استخراج شد. سپس ژن اکتین انگل نمونه‌های ادرار به روش Nested-PCR تکثیر داده شد. در نهایت محصول PCR تعیین توالی و ژنوتیپ انگل تعیین شد.

نتایج: در مجموع ۳۴ نمونه (۱/۵۴ درصد) از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس مثبت بوده است. پس از تعیین توالی بازی، ژنوتیپ این انگل در شهرستان ماهشهر E شناسایی شد.

نتیجه‌گیری: در زنان ماهشهری فقط ژنوتیپ نوع E شناسایی شد و هیچ تنوع ژنوتیپی مشاهده نشد.

کلید واژگان: تریکوموناس واژینالیس، ژنوتیپ، Nested-PCR، ژن اکتین، ماهشهر، استان خوزستان

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، صفحات: ۵۳-۶۱

مقدمه

تریکوموناس واژینالیس (*Trichomonas vaginalis*) از تک یاخته‌های تاژک‌دار است که در مجاری ادراری-تناسلی مردان و زنان دیده می‌شود. این انگل از طریق تماس جنسی و تناسلی منتقل می‌شود. در جهان بر حسب منطقه، کشور، جنس

و خصوصیات دموگرافیکی افراد، میزان شیوع این انگل از ۲ درصد تا بیش از ۵۰ درصد گزارش شده است [۱]. از طرفی، سالیانه بین ۱۶۰ الی ۱۸۰ میلیون نفر در جهان به این انگل مبتلا می‌شوند که ۱۵۴ میلیون نفر در کشورهای فقیر و حدود ۸-۱۰

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶

ژنوتیپ تریکوموناس واژینالیس جدا شده از زنان ماهشهر

نمونه‌ها از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس با میکروسکوپ بررسی شد. سپس نمونه‌های مثبت در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شد.

مطالعه مولکولی

استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت GENET BIO طبق مراحل زیر انجام گرفته شد. برای تعیین ژنوتیپ مولکولی جدایه‌های تریکوموناس واژینالیس از روش Nested PCR و از طریق تکثیر ژن اکتین (ACTIN) استفاده شد [۹]. در روش Nested PCR برای تکثیر ژن اکتین از آغازگرهای (Primers) بیرونی

Tv8S: "5-TCTGGAATGGCTGAAGAA GACG-3"

Tv9R: "5-CAGGGTACATCGTATTGGTC-3"

و آغازگرهای داخلی استفاده شد.

Tv10S: "5-CAGACACTCGTTATCG-3"

Tv11R: "5-CGGTGAACGATGGATG-3"

آزمایش PCR با استفاده از مخلوط اصلی (Master mix) شرکت سیناکلون (ایران) انجام گرفت. مرحله اول واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر به صورت ۵ میکرولیتر DNA الگو (Template DNA)، ۲ میکرولیتر (پیکومول) آغازگرهای رفت و برگشت، ۸ میکرولیتر مخلوط اصلی و ۵ میکرولیتر آب مقطر و مرحله دوم واکنش PCR در حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر به صورت ۲ میکرولیتر محصول PCR مرحله اول، ۲ میکرولیتر (۲۰ پیکومول) آغازگرهای رفت و برگشت، ۸ میکرولیتر مخلوط اصلی و ۳ میکرولیتر آب مقطر انجام شد.

با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad، آمریکا)، برای مرحله اول فرآیند واسرشت (Denaturation) با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه شروع شد؛ در ادامه ۲۰ چرخه در ۹۴ درجه به مدت ۳۵ ثانیه، فرآیند اتصال (Annealing) آغازگر در ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵

میلیون نفر در ایالت متحده و ۱۱ میلیون نفر در اروپا هستند [۲]. به همین جهت تریکومونیاژیس (Trichomoniasis) از مهم‌ترین بیماری عفونی غیر ویروسی مقاربتی به‌شمار می‌آید. شناسایی ژنوتیپ تریکوموناس ما را به شناخت بیشتر و عمیق‌تر زیست‌شناسی و اپیدمیولوژی این انگل هدایت می‌کند. بنابراین در سالیان اخیر مطالعات متعددی در زمینه شناسایی ژنوتیپ‌های تریکوموناس در مناطق مختلف جهان انجام شده است. که می‌توان به مطالعات آپکرافت (Upcroft) و همکاران در سال ۲۰۰۶ روی نمونه‌هایی از استرالیا و آمریکا و آفریقای جنوبی، مری (Meri) و همکاران در سال ۲۰۰۰ از فنلاند، کاظمی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ایران، متینی و همکاران در سال ۲۰۱۲ در ایران، دلیمی و همکاران در سال ۱۳۸۷، ضیایی و همکاران در سال ۱۳۹۱ و مومنی و همکاران در سال ۱۳۹۳ در ایران اشاره کرد [۳-۹].

طبق مطالعات انجام شده، با استفاده از ژن اکتین تریکوموناس واژینالیس می‌توان حداقل ۶ ژنوتیپ را شناسایی کرد. در بیشتر این مطالعات، نمونه‌های بالینی ابتدا کشت و سپس تعیین ژنوتیپ شده است هدف این مطالعه، شناسایی تریکوموناس واژینالیس و تعیین ژنوتیپ شایع آن با استفاده مستقیم از ادرار زنان آلوده در شهرستان ماهشهر بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

شهرستان بندر ماهشهر از توابع استان خوزستان است که از نظر جغرافیایی به شهر اهواز مرکز استان خوزستان نزدیک است. نمونه‌های ادرار زنان مراجعه‌کننده به بیمارستان تأمین اجتماعی امام موسی کاظم (ع) شهرستان ماهشهر از بهار ۱۳۹۴ تا پاییز ۱۳۹۴ به مدت ۹ ماه جمع‌آوری شد. پژوهش حاضر دارای تأییدیه شماره ۵۲۵/۷۰۱۵ مورخ ۹۴/۱۰/۱۵ کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیت مدرس می‌باشد. ابتدا نمونه ادرار جمع‌آوری شده را سانتریفوژ شد و رسوب

تریکوموناس واژینالیس ثبت شده در این پژوهش با جدایه‌هایی که در بانک اطلاعات ژن (Genbank) قبلاً ثبت شده بود، Multiple alignment انجام گرفت و با نرم‌افزار MEGA 6.0 با الگوریتم Neighbour-Joining درخت فیلوژنی ترسیم شد.

تحليل داده‌ها

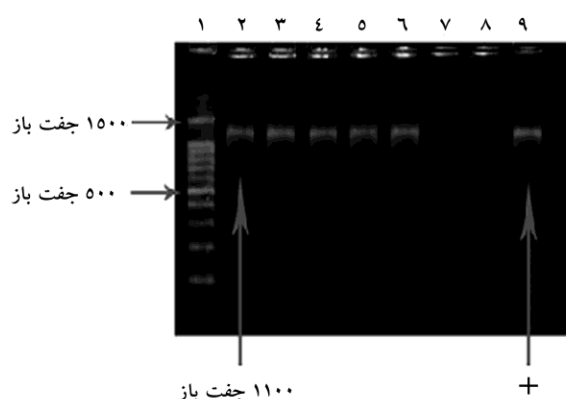
در این مطالعه برای تجزیه و تحلیل آماری بین متغیرهای تحقیق از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ و روش آماری کای مربع (χ^2) استفاده شد. تمام اطلاعات با استفاده از آزمون کای مربع با یک سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شد و P value کمتر یا مساوی ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از تعداد ۲۲۰۰ نمونه اداری مورد آزمایش، ۳۴ نمونه (۱/۵۴ درصد) از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس مثبت بود. در آزمایش PCR، اندازه قطعه مرحله اول ۱۲۶۰ جفت باز و قطعه مرحله دوم PCR ۱۱۰۰ جفت باز بوده است. نتایج ژل الکتروفورز قطعه دوم تکثیرشده ژن اکسین در شکل ۱ نشان داده شده است.

ثانیه، طویل شدن (Extension) در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و برای مرحله دوم فرآیند واسرشت با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه شروع شد؛ در ادامه ۳۰ چرخه در ۹۴ درجه به مدت ۳۵ ثانیه، فرآیند اتصال آغازگر در ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه، طویل شدن در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۸ دقیقه انجام شد و در انتها محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد بارگذاری شد. پس از اتمام؛ مقدار ۶ میکرولیتر از محصول PCR توسط ژل آگارز ۱ درصد آغشته به ۵۰ میکرولیتر سیف استین (Safe Stain) مربوط به شرکت سیناکلون (ایران) الکتروفورز و در زیر نور ماورای بنفش کوتاه عکس برداری شد. اندازه محصول PCR با قطعه استاندارد DNA (DNA-ladder) تجاری سیناکلون (ایران) از یابی شد.

برای تعیین تترادف بازی تعداد 4 محصول PCR از جدایه ها انتخاب و به شرکت پیشگام (ایران) ارسال شد. نتایج توالی توسط نرم افزار Portable-Sequencher-4.1.4 و در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI ثبت شد. عملیات Multiple alignment ژن های ثبت شده با استفاده از نرم افزار Bio Edit انجام شد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان جدایه های



شکل ۱ ژل الکتروفورز قطعه DNA ژن اکتین با آغازگر بیرونی؛ ستون (۱) نشانگر ۱ کیلوپایزی، ستون (۲-۶) قطعه ژن اکتین (۱۱۰۰ جفت بازی، ستون ۸) کنترل منفی، ستون (۹) کنترل مثبت

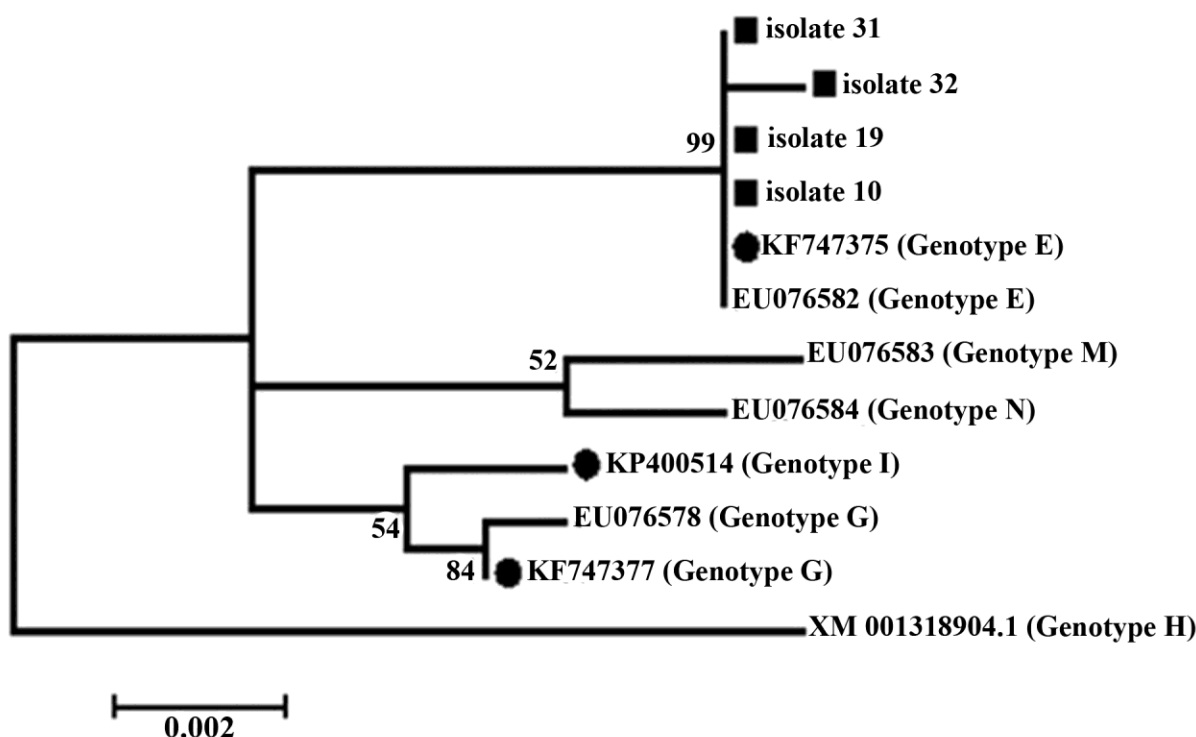
ژنوتیپ تریکوموناس واژینالیس جدا شده از زنان ماهشهر

۱ نشان داده شده است. درخت فیلوژنتیکی تریکوموناس واژینالیس شناسایی شده در خانم‌های شهرستان ماهشهر بر مبنای ژن اکتین در شکل ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که جدایه‌های ۱۰-۱۹-۳۱ با جدایه شماره KF747375 تحقیق مؤمنی و همکاران که قبلاً از ایران ثبت شده بود ۱۰۰ درصد همخوانی دارد.

پس از تعیین توالی بازی محصول PCR و ارزیابی و مقایسه تنوع ژنتیکی آن با جدایه‌های تریکوموناس واژینالیس ثبت شده در بانک اطلاعات ژن (Genbank)، ژنوتیپ این انگل در شهرستان ماهشهر E شناسایی شد. این جدایه‌ها در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI ثبت شد. مشخصات ژن اکتین ثبت شده در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI در جدول

جدول ۱ تعداد ۴ جدایه تریکوموناس ثبت شده در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI

شماره دست‌یابی (Accession number)	ژنوتیپ	شماره جدایه (Isolate Number)
KX452108	E	۱۰
KX452109	E	۱۹
KX452110	E	۳۱
KX452111	E	۳۲



شکل ۲ روابط فیلوژنتیک ژنوتیپ‌های اکتین تریکوموناس واژینالیس استنباط شده به وسیله الگوریتم Neighbour-Joining که در این شکل ژنوتیپ‌های این مطالعه با مربع و ژنوتیپ‌های مطالعه مؤمنی و همکاران با دایره مشخص شده است.

بحث

این مطالعه روی جمعیت زنان آلوده به تریکوموناس واژینالیس شهرستان ماهشهر در سنین متفاوت انجام گرفت. در تمامی تحقیقات به عمل آمده نشان داده شده است که تریکومونیاژیس در مردان به مراتب کمتر از زنان است؛ وجود تفاوت زیست شناختی بین زنان و مردان، بیان گر شیوع بالای عفونت زنان در مقایسه با مردان است [۱۰] چون در زنان این انگل در معرض محیطی غنی از آهن در واژن است درحالی که در مردان در محیط غنی از روی (Zn) در غدد پروستات قرار می گیرند و فلز روی خاصیت ضدانگلی بالایی دارد [۱۱]. طبق گزارش محققین مردان با غلظت کمتر از ۱/۶ میلی مولار روی در ترشحات پروستات، از پروستات مزمن ناشی از عفونت تریکومونیاژیس رنج می برند. همچنین این عفونت در مردان به مدت ۱۰ روز خود به خود بهبود می یابد در حالی که در زنان اگر تحت درمان قرار نگیرند برای مدت ها باقی می ماند [۱۱]. علاوه بر این؛ استروژن درمانی در زنان پس از یائسگی به شیوع تریکومونیاژیس کمک می کند. چون غلظت پایین استروژن منجر به نازک شدن اپیتلیوم واژن و کاهش محتوای گلیکوژن اپیتلیال می شود که در نهایت سبب تغییر pH و فلور لاکتوباسیل (*Lactobacillus*) واژن می گردد. تریکومونیاژیس برخلاف دیگر بیماری های مقاربتی که در میان جوانان و نوجوانان دیده می شود می تواند در سنین بالاتر هم دیده شود. همان طور که در این تحقیق در سن یائسگی هم این بیماری دیده شده است [۱۲]. میزان آلودگی زنان به این انگل در برخی شهرهای ایران و جهان بسیار متفاوت است. رضاییان و همکاران در سال (۲۰۰۹) شیوع تریکومونیاژیس در ایران را بین ۲ الی ۸ درصد گزارش کردند [۱۳]. ضیایی و همکاران در سال (۲۰۱۵) در یک مطالعه متاآنالیز (Meta analysis) که روی اطلاعات موجود از سال ۱۹۹۲ تا ۲۰۱۲ در جمعیت های متفاوت ایرانی گزارش شده بود شیوع این انگل را ۰/۸-۰/۹ درصد برآورد کرده و بیشترین شیوع انگل را از استان مرکزی گزارش نموده است [۸]. در سطح جهان، کیم (Kim) و همکاران (۲۰۱۶) در کشور

کره جنوبی میزان شیوع تریکومونیاژیس را ۳/۳ درصد گزارش کردند [۱۴]. کریسل (Kriesel) و همکاران (۲۰۱۵) از ۱۴۶ نمونه در کشور آمریکا میزان شیوع تریکومونیاژیس را ۳ درصد گزارش کردند [۱۵]. در برزیل میراندا (Miranda) و همکاران (۲۰۱۴) شیوع این بیماری را ۷/۷ درصد گزارش کردند [۱۶]. در مطالعه ای که توسط جانستون (Johnston) و همکاران (۲۰۰۸) در آمریکا انجام شده بود شیوع تریکوموناس واژینالیس در سن کمتر از ۲۰ سال حدود ۲/۲ درصد و در سنین بیش از ۲۵ سال حدود ۶/۶ درصد گزارش شد [۱۷]. در تحقیق حاضر میزان آلودگی زنان شهرستان ماهشهر به تریکوموناس واژینالیس ۱/۵۴ درصد گزارش شد.

قدمت مطالعات مولکولی تریکوموناس واژینالیس از دهه ۱۹۹۰ میلادی به بعد و در ایران به کمتر از ۸ سال می رسد و تاکنون بر روی ژن های ITS1، Actin، ۱۸s RNA انجام گرفته است. اولین بار در ایران، در سال ۱۳۸۷ دلیمی و همکاران با تکثیر ژن ۱۸s RNA و روش PCR روی تریکوموناس واژینالیس کشت داده شده از نمونه های ترشحات واژن، انگل را شناسایی نمودند [۶]. کاظمی و همکاران در سال (۲۰۱۰) مطالعه ای روی گونه هایی از تریکوموناس در ایران انجام دادند که با روش PCR از ۵۲ نمونه ۴۵ نمونه جواب مثبت دریافت کردند [۴]. در سال ۲۰۱۲ متینی و همکاران با استفاده از روش PCR-SSCP (PCR-Single-Strand Conformation Polymorphism) روی ژن ITS به بررسی ژنوتیپ تریکوموناس واژینالیس پرداخت که دو تیپ I و II را مشخص نمود [۵]. در سال ۲۰۱۵ ضیایی و همکاران از روش Nested PCR برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس از نمونه های پاپ اسمیر استفاده نمودند [۱۳]. ولد خانی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ۴۰ نمونه تریکوموناس واژینالیس جدا شده از زنان زندانی استان تهران آزمایش PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism) انجام دادند که در این مطالعه با استفاده از ۶ آغازگر OPD2، OPD3، OPD8، OPD1، TV2، TV6، TV2 تنوع ژنتیکی بین جدایه ها مشاهده شد

OPD5 تا OPD1 (afferent pupillary defect) و ۵ آغازگر OPD1 تا OPD5 به ارزیابی جدایه‌های تریکوموناس واژینالیس در هند پرداخت که در این مطالعه ۱۵ جدایه دارای علائم بالینی و ۱۵ جدایه بدون علائم بودند. تحلیل فیلوژنیک نشان داد که در شاخه‌های بالای این درخت ۷ جدایه با علائم بالینی و در شاخه‌های پایینی همه ۱۵ جدایه بدون علائم قرار دارند [۲۲]. در سال ۲۰۱۵ هاوکسورث (Hawksworth) و همکاران در بریستول (Bristol) با استفاده از روش PCR از ۲۳ جدایه تریکوموناس واژینالیس ۲۳ جایگاه پلی‌مورفیسم نوکلئوتیدی ۲۵- آلل متفاوت ۱۹- نوع توالی ژنی مشاهده کردند که بیشترین جدایه‌ها غیر یکسان بودند [۲۳]. اما در این تحقیق به علت بومی بودن افراد و مهاجرت کمتر افراد به این شهرستان، فقط یک نوع ژنوتیپ در جمعیت زنان مورد مطالعه مشاهده شد.

در این مطالعه میزان آلودگی به این انگل در بین زنان این شهرستان ۱/۵۴ درصد بوده است. ژنوتیپ نمونه‌های جمع‌آوری‌شده از این شهرستان از نوع E و در همه نمونه‌های تعیین توالی‌شده یکسان بوده و هیچ تنوع ژنوتیپی مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی است که اعتبار مالی آن توسط دانشگاه تربیت مدرس تأمین شده است. نویسندگان لازم می‌دانند از زحمات همکاران محترم سرکار خانم دکتر فاطمه غفاری فر و دکتر مجید پیرستانی و همچنین خانم‌ها قاسمی و باغخانی کمال تشکر و قدر دانی را دارند.

که با OPD1، یک قطعه اختصاصی ۱۳۰۰ جفت بازی در ۸ جدایه به‌دست آمد. [۱۸] ربانی و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی نمونه‌های واژینال با استفاده از روش تشخیصی مولکولی و مقایسه آن با روش لام مرطوب نشان دادند که آزمون PCR دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی است و روش لام مرطوب در صورتی که کارشناس آزمایشگاه از تجربه کافی برخوردار باشد، می‌تواند حساسیت و اختصاصیت خوبی داشته باشد [۱۹]. مؤمنی و همکاران در سال ۱۳۹۲ با استفاده از روش PCR-RFLP روی ژن اکتین برای اولین بار در ایران، ژنوتیپ‌های متفاوتی از شهر کرج گزارش نمودند. در این تحقیق چهار ژنوتیپ تریکوموناس واژینالیس به نام‌های H, E, I, G و ۱۳ جایگاه پلی‌مورفیک تشخیص داده شد [۸]. توکلی و همکاران در سال ۲۰۱۳ با مطالعه روی ۸۵ نمونه پاپ اسمیر و نمونه ادرار مشکوک به تریکوموناس واژینالیس در مراجعه به مرکز بهداشتی-درمانی و زندان مرکزی کرمان پس از کشت دادن، آزمایش Nested-PCR با استفاده از جفت آغازگر ژن اکتین و سه آنزیم برشگر HindII, RsaI, MseI شش ژنوتیپ H, G, I, M, N را شناسایی که ژنوتیپ غالب در کرمان H مشاهده شد [۲۰]. در مطالعه که توسط کروسیتی (Crucitti) و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد هشت نوع ژنوتیپ و ۱۵ جایگاه پلی‌مورفیک نشان داده شده است و سه جایگاه باعث تغییر توالی اسیدهای آمینه شده بود. بنابراین چندریختی بودن (Polymorphism) بالای ژن اکتین سبب شده که این ژن به‌عنوان یک نمایش‌گر ژنتیکی بالقوه برای بررسی اپیدمیولوژی مولکولی و ژنوتیپینگ انگل باشد [۲۱]. کال (Kaul) و همکاران (۲۰۰۴) با استفاده از روش RAPD (Relative

منابع

- [1] Johnson RM. Trichomoniasis. In: Medical Parasitology. Edited by Satoskar AR, Simon GL, Hotez PJ, Tsuji M. Austin, Texas USA: Landes Bioscience, 2009; p: 222-6.
- [2] McClelland RS. Trichomonas vaginalis infection: can we afford to do nothing? J Infect Dis 2008; 197(4): 487-9.
- [3] Upcroft JA, Delgadillo-Correa MG, Dunne RL,

- Sturm AW, Johnson PJ, Upcroft P. Genotyping *Trichomonas vaginalis*. Int J Parasitol 2006; 36(7): 821-8.
- [4] Meri T, Jokiranta TS, Suhonen L, Meri S. Resistance of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole: report of the first three cases from Finland and optimization of in vitro susceptibility testing under various oxygen concentrations. J Clin Microbiol 2000; 38(2): 763-7.
- [5] Kazemi F, Hooshyar H, Zareikar B, Bandehpour M, Arbabi M, Talari S, Alizadeh R, Kazemi B. Study on ITS1 gene of Iranian *Trichomonas vaginalis* by molecular methods. Iran J Parasitol 2010; 5(4): 9-14.
- [6] Matini M, Rezaeian M, Mohebbali M, Maghsood AH, Rabiee S, Rahimi-Foroushani A, Fallah M, Miahipour A, Rezaie S. Genotyping of *Trichomonas vaginalis* isolates in Iran by using single stranded conformational polymorphism-PCR technique and internal transcribed spacer regions. Trop Biomed 2012; 29(4): 605-12.
- [7] Dalimi A., Shirbazou SH, Ghaffarifar F., Hosseinian K., Jorjani ON., Sharifi Z., Hosseinzadeh N. Molecular diagnosis of *Trichomonas vaginalis* by PCR. Kowsar Medical Journal, 2008, 13(3): 179-184. (Persian).
- [8] Ziaei Hezarjaribi H, Taghavi M, Fakhar M, Gholami S. Direct diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection on archived pap smears using Nested PCR. Acta Cytol 2015; 59(1): 104-8.
- [9] Momeni Z, Sadraei J, Kazemi B, Dalimi A. Molecular typing of the actin gene of *Trichomonas vaginalis* isolates by PCR-RFLP in Iran. Exp Parasitol 2015; 159: 259-63.
- [10] Figueroa-Angulo EE, Rendón-Gandarilla FJ, Puente-Rivera J, Calla-Choque JS, Cárdenas-Guerra RE, Ortega-López J, Quintas-Granados LI, Alvarez-Sánchez ME, Arroyo R. The effects of environmental factors on the virulence of *Trichomonas vaginalis*. Microbes Infect 2012; 14(15): 1411-27.
- [11] Poynten IM, Grulich AE, Templeton DJ. Sexually transmitted infections in older populations. Curr Opin Infect Dis 2013; 26(1): 80-5.
- [12] Calvet HM. Sexually transmitted diseases other than human immunodeficiency virus infection in older adults. Clin Infect Dis 2003; 36(5): 609-14.
- [13] Rezaeian M, Vatanshenassan M, Rezaie S, Mohebbali M, Niromand N, Niyayati M, Farnia S, Babaei Z. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* using parasitological methods in Tehran. Iranian J Parasitol 2009; 4(4): 43-7.
- [14] Kim SR, Kim JH, Gu NY, Kim YS, Hong YC, Ryu JS. Prevalence of Trichomoniasis by PCR in Women Attending Health Screening in Korea. Korean J Parasitol 2016; 54(2): 187-90.
- [15] Kriesel JD, Bhatia AS, Barrus C, Vaughn M, Gardner J, Crisp RJ. Multiplex PCR testing for nine different sexually transmitted infections. Int J STD AIDS 2016; 27(14): 1275-1282.
- [16] Miranda AE, Pinto VM, Gaydos CA. *Trichomonas vaginalis* infection among young pregnant women in Brazil. Braz J Infect Dis 2014; 18(6): 669-71.
- [17] Johnston VJ, Mabey DC. Global epidemiology

- and control of *Trichomonas vaginalis*. *Curr Opin Infect Dis* 2008; 21(1): 56-64.
- [18] Valadkhani Z, Kazemi F, Hassan N, Aghighi Z, Esmaili I, Talebi M. Gene Diversity of *Trichomonas vaginalis* Isolates. *Iran J Parasitol* 2011; 6(3): 101-6.
- [19] Rabbani M, Saberi B, Jafarian Dehkordi A, Mardanian F. Diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection by PCR. *Shahre Kord University of Medical Sciences*, 2003; 5 (1): 4-9. (Persian)
- [20] Tavakoli R. Isolation and genotyping of *Trichomonas vaginalis* isolates in trichomoniasis patients in Kerman city by PCR-RFLP. MSc thesis in Medical Parasitology, Medical Faculty of Kerman Medical Science University, 2013.
- (Persian)
- [21] Crucitti T, Abdellati S, Van Dyck E, Buvé A. Molecular typing of the actin gene of *Trichomonas vaginalis* isolates by PCR-restriction fragment length polymorphism. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14(9): 844-52.
- [22] Kaul P, Gupta I, Sehgal R, Malla N. *Trichomonas vaginalis*: random amplified polymorphic DNA analysis of isolates from symptomatic and asymptomatic women in India. *Parasitol Int* 2004; 53(3): 255-62.
- [23] Hawksworth J, Levy M, Smale C, Cheung D, Whittle A, Longhurst D, Muir P, Gibson W. Population structure and genetic diversity of the parasite *Trichomonas vaginalis* in Bristol, UK. *Infect Genet Evol* 2015; 34: 36-43.