Original Article

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

Elham Moradi[1], Abdolhossein Dalimi[2*], Javid Sadraei[3]

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

مقاله اصیل

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

الهام مرادی[1]، عبدالحسین دلیمی[2*]، جاوید صدرایی[3]

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: ۱۴۱۱۷۱۳۱۱۶، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه انگل شناسی
Email: dalimi_a@modares.ac.ir

دریافت مقاله: ۹۵/۱۱/۲۷ پذیرش مقاله: ۹۶/۰۲/۳۱

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 درزمینه شناسایی ژنوتیپ‌های تریکوموناس در مناطق مختلف جهان انجام شده است. بر اساس ژن اکتین تریکوموناس واژینالیس دارای ٦ ژنوتیپ H ، G، E، I، M، Nاست. 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 ۳٤ 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 ۳٤ نمونه (۱/٥٤ 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 ۱٦۰ الی ۱۸۰ میلیون نفر در جهان به این انگل مبتلا می‌شوند که ۱٥٤ میلیون نفر در کشورهای فقیر و حدود ۸-۱۰

میلیون نفر در ایالت متحده و ۱۱میلیون نفر در اروپا هستند [۲]. بـه همـین جهـت تریکومونیـازیس (Trichomoniasis) از مهم‌ترین بیماری عفونی غیر ویروسی مقاربتی به‌شمار می‌آید.

شناسایی ژنوتیپ تریکوموناس ما را به شـناخت بیشـتر و عمیق‌تر زیست شناسی و اپیدمیولوژی این انگل هدایت می‌کند. بنابراین در سالیان اخیر مطالعات متعـددی در زمینـه شناسـایی ژنوتیپ های تریکوموناس درمناطق مختلف جهان انجام شـده است. که می‌توان به مطالعات آپکرافت (Upcroft) و همکاران در سال ۲۰۰٦ روی نمونه‌هایی از استرالیا و امریکا و آفریقای جنوبی، مـری (Meri) و همکـاران در سـال ۲۰۰۰ از فنلانـد، کاظمی و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ایران، متینی و همکـاران در سـال ۲۰۱۲ در ایـران، دلیمـی و همکـاران در سـال ۱۳۸۷، ضیایی و همکاران در سال ۱۳۹۱ و مومنی و همکاران در سال ۱۳۹۳در ایران اشاره کرد [۳-۹].

طبـق مطالعـات انجـام شـده، بـا اسـتفاده از ژن اکتـین تریکوموناس واژینالیس می‌توان حداقل ٦ ژنوتیپ را شناسایی کرد. در بیشتر این مطالعات، نمونه‌های بـالینی ابتـدا کشـت و سپس تعیین ژنوتیپ شده است هدف ایـن مطالعـه، شناسـایی تریکوموناس واژینالیس و تعیین ژنوتیپ شایع آن بـا اسـتفاده مستقیم از ادرار زنان آلوده در شهرستان ماهشهر بوده است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری

شهرستان بندر ماهشهر از توابع استان خوزستان است کـه از نظر جغرافیایی به شهر اهواز مرکز استان خوزستان نزدیـک است. نمونه‌های ادرار زنان مراجعه‌کننده به بیمارسـتان تـأمین اجتماعی امام موسـی کـاظم (ع) شهرسـتان ماهشـهر از بهـار ۱۳۹٤تا پاییز ۱۳۹٤ به‌مدت ۹ مـاه جمـع‌آوری شـد. پـژوهش حاضـر دارای تأییدیـه شـماره ۷۰۱۵/د۵۲ مـورخ ۹٤/۱۰/۱۵ کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه تربیـت مـدرس مـی‌باشـد. ابتـدا نمونـه ادرار جمـع‌آوری شـده را سـانتریفوژ شـد و رسـوب نمونه‌ها از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس با میکروسکوپ بررسی شد. سـپس نمونـه‌هـای مثبـت در فریـزر۲۰- درجـه سانتی‌گراد قرار داده شد.

مطالعه مولکولی

استخراج DNA از نمونه‌ها با اسـتفاده از کیـت GENET BIO طبق مراحل زیر انجام گرفته شد. بـرای تعیـین ژنوتیـپ مولکولی جدایه‌های تریکوموناس واژینالیس از روش Nested PCR و از طریق تکثیر ژن اکتین (ACTIN) استفاده شـد [۹]. در روش Nested PCR برای تکثیر ژن اکتین از آغازگرهـای (Primers) بیرونی

Tv8S: "5-TCTGGAATGGCTGAAGAAGACG-3"

Tv9R: "5-CAGGGTACATCGTATTGGTC-3"

و آغازگرهای داخلی استفاده شد.

Tv10S: "5-CAGACACTCGTTATCG-3"

Tv11R: " 5-CGGTGAACGATGGATG-3"

آزمـایش PCR بـا اسـتفاده از مخلـوط اصـلی (Master mix) شـرکت سـیناکلون (ایـران) انجـام گرفـت. مرحلـه اول واکـنش PCR در حجـم نهـایی ۲۰ میکرولیتـر بـه‌صـورت ۵ میکرولیتر DNA الگـو (Template DNA)، ۲ میکرولیتـر (۲۰ پیکومول) آغازگرهای رفت و برگشت، ۸ میکرولیتـر مخلـوط اصلی و ۵ میکرولیتـر آب مقطـر و مرحلـه دوم واکـنش PCR درحجم نهایی ۱۵ میکرولیتر به‌صورت ۲ میکرولیتـر محصـول PCR مرحلـه اول، ۲ میکرولیتـر (۲۰ پیکومـول) آغازگرهـای رفت و برگشت، ۸ میکرولیتـر مخلـوط اصـلی و ۳ میکرولیتـر آب مقطر انجام شد.

با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Bio-Rad، امریکا)، برای مرحله اول فرآیند واسرشـت (Denaturation) بـا دمـای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مـدت ۵ دقیقـه شـروع شـد؛ در ادامـه ۲۰ چرخـه در ۹٤ درجـه بـه‌مـدت ۳۵ ثانیـه، فرآینـد اتصـال (Annealing) آغازگر در ۵۵ درجه سانتی‌گـراد بـه‌مـدت ۳۵

ثانیه، طویل شدن (Extension) در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ٦۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه و برای مرحله دوم فرآیند واسرشت با دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه شروع شد؛ در ادامه ۳۰ چرخه در ۹٤ درجه به مدت ۳۵ ثانیه، فرآیند اتصال آغازگر در ٦۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۵ ثانیه، طویل شدن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٦۰ ثانیه و مرحله طویل شدن نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۸ دقیقه انجام شد و در انتها محصول PCR روی ژل آگارز ۱ درصد بارگذاری شد. پس از اتمام؛ مقدار ٦ میکرولیتر از محصول PCR توسط ژل اگارز ۱ درصد آغشته به ۵۰ میکرولیتر سیف استین (Safe Stain) مربوط به شرکت سیناکلون (ایران) الکتروفورز و در زیر نور ماورای بنفش کوتاه عکس‌برداری شد. اندازه محصول PCR با قطعه استاندارد DNA (DNA-ladder) تجاری سیناکلون (ایران) ارزیابی شد.

برای تعیین ترادف بازی تعداد ٤ محصول PCR از جدایه ها انتخاب و به شرکت پیشگام (ایران) ارسال شد. نتایج توالی توسط نرم‌افزار Portable-Sequencher-4.1.4 و در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI ثبت شد. عملیات Multiple alligment ژن‌های ثبت‌شده با استفاده از نرم‌افزار Bio Edit انجام شد. برای ارزیابی تنوع ژنتیکی در میان جدایه های تریکوموناس واژینالیس ثبت‌شده 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.

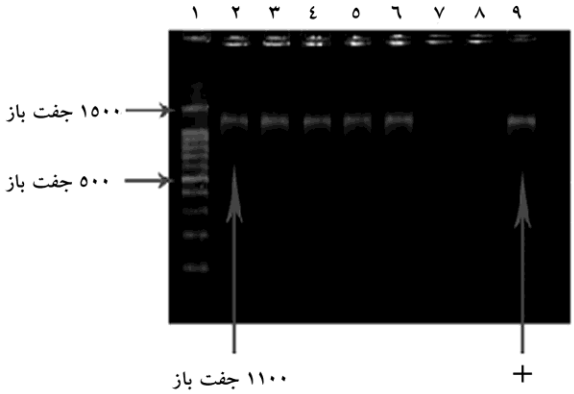
تحلیل داده‌ها

در این مطالعه برای تجزیه و تحلیل آماری بین متغیرهای تحقیق از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ و روش آماری کای مربع ($\chi 2$) 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 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از تعداد ۲۲۰۰ نمونه ادراری مورد آزمایش، ۳٤ نمونه (۱/۵٤ درصد) از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس مثبت بود.

در آزمایش PCR، اندازه قطعه مرحله اول ۱۲٦۰جفت باز و قطعه مرحله دوم PCR ۱۱۰۰جفت باز بوده است. نتایج ژل الکتروفورز قطعه دوم تکثیرشده ژن اکتین در شکل ۱ نشان داده شده است.



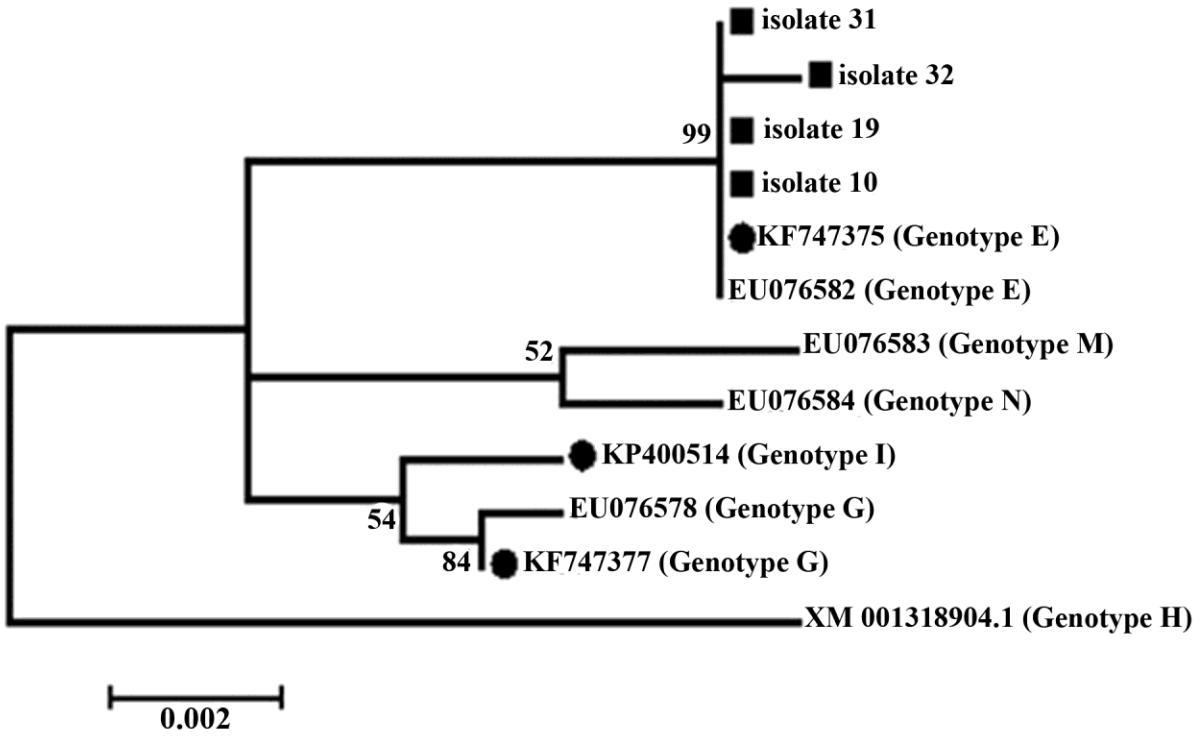
شکل ۱ ژل الکتروفورز قطعه DNA ژن اکتین با آغازگر بیرونی؛ ستون ۱) نشانگر ۱ کیلوبازی، ستون ۲-٦) قطعه ژن اکتین ۱۱۰۰ جفت بازی، ستون ۸) کنترل منفی، ستون ۹) کنترل مثبت

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 ۱ نشان داده شده است.

درخت فیلوژنیکی تریکوموناس واژینالیس شناسایی‌شده در خانم‌های شهرستان ماهشهر برمبنای 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.

جدول ۱ تعداد ٤ جدایه تریکوموناس ثبت شده در پایگاه بانک اطلاعات ژن NCBI

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



شکل ۲ روابط فیلوژنیک زنوتیپ‌های اکتین تریکوموناس واژینالیس استنباط‌شده به‌وسیله 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 تریکومونیازیس در مردان به مراتب کمتر از زنان است؛ وجود تفاوت زیست شناختی بین زنان و مردان، بیان‌گر 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 می‌گیرند و فلز روی خاصیت ضدانگلی بالایی دارد [۱۱]. طبق گزارش محققین مردان با غلظت کمتر از ۱/٦ میلی مولار روی در ترشحات پروستات، از پروستات مزمن ناشی از عفونت تریکومونیازیس رنج می‌برند. همچنین این عفونت در مردان به‌مدت ۱۰روز خود به خود بهبود می‌یابد در حالی که د رزنان اگر تحت درمان قرار نگیرند برای مدت ها باقی می ماند [۱۱]. علاوه بر این؛ استروژن درمانی در زنان پس از یائسگی به شیوع تریکومونیازیس کمک می کند. چون غلظت پایین استروژن منجر به نازک شدن اپیتلیوم واژن و کاهش محتوای گلیکوژن اپیتلیال می‌شود که در نهایت سبب تغییر pH و فلور لاکتوباسیل (*Lactobacillus*) واژن می‌گردد. تریکومونیازیس برخلاف دیگر بیماری‌های مقاربتی که در میان جوانان و نوجوانان دیده می‌شود می‌تواند در سنین بالاتر هم دیده شود. همان‌طور 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 تریکومونیازیس در ایران را بین ۲ الی ۸ درصد گزارش کردند [۱۳]. ضیایی و همکاران درسال (۲۰۱۵) دریک مطالعه متاآنالیز (Meta analysis) که روی اطلاعات موجود از سال ۱۹۹۲ تا ۲۰۱۲ در جمعیت‌های متفاوت ایرانی گزارش شده بود شیوع این انگل را ۰/۹–۰/۸ درصد برآورد کرده و بیشترین شیوع انگل را از استان مرکزی گزارش نموده است [۸]. در سطح جهان، کیم (Kim) و همکاران (۲۰۱٦) در کشور کره جنوبی میزان شیوع تریکومونیازیس را ۳/۳ درصد گزارش کردند [١٤]. کریسل (Kriesel) و همکاران (۲۰۱۵) از ١٤٦ نمونه در کشور آمریکا میزان شیوع تریکومونیازیس را ۳ درصد گزارش کردند [۱۵]. در برزیل میراندا (Miranda) و همکاران (۲۰۱٤) شیوع این بیماری را ۷/۷ درصد گزارش کردند [١٦]. در مطالعه‌ای 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 ۲۵سال حدود ٦/٦ درصد گزارش شد [۱۷]. در تحقیق حاضر میزان آلودگی زنان شهرستان ماهشهر به تریکوموناس واژینالیس ۱/٥٤ درصد گزارش شد.

قدمت مطالعات مولکولی تریکوموناس واژینالیس از دهه ۱۹۹۰ میلادی به بعد و در ایران به کمتر از ۸ سال می‌رسد و تاکنون بر روی ژن‌های 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 نمونه‌های ترشحات واژن، انگل را شناسایی نمودند [٦]. کاظمی و همکاران در سال (۲۰۱۰) مطالعه‌ای روی گونه‌هایی از *تریکوموناس* در ایران انجام دادند که با روش PCR از ٥۲ نمونه ٤٥ نمونه جواب مثبت دریافت کردند [٤]. 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 رامشخص نمود [٥]. در سال ۲۰۱۵ ضیایی و همکاران از روش Nested PCR برای تشخیص تریکوموناس واژینالیس از نمونه‌های پاپ اسمیراستفاده نمودند [۱۳]. ولد خانی و همکاران (۲۰۱۱) بر روی ٤۰ نمونه تریکوموناس واژینالیس جداشده از زنان زندانی استان تهران آزمایش PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism) انجام دادند که در این مطالعه با استفاده از ٦ آغازگر OPD8، OPD3، OPD2، OPD1، TV6، TV2 تنوع ژنتیکی بین جدایه‌ها مشاهده شد

که باOPD1، یک قطعه اختصاصی ۱۳۰۰ جفت بازی در ۸ جدایه به‌دست آمد. [۱۸] ربانی و همکاران در سال ۲۰۰۳ روی نمونه های 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 درسال 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 E، H، 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 MseI، RsaI، HindII شش ژنوتیپ H، G، I، M، N را شناسایی که ژنوتیپ غالب درکرمان H مشاهده شد [۲۰]. در مطالعه که توسط کروسیتی (Crucitti) و همکاران (۲۰۰۸) انجام شد هشت نوع ژنوتیپ و ۱۵ جایگاه پلی مورفیک 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 (۲۰۰٤) با استفاده از روش RAPD (Relative afferent pupillary defect) و ۵ آغازگر OPD1 تا OPD5 به ارزیابی جدایه‌های تریکوموناس واژینالیس در هند پرداخت که در این مطالعه ۱۵ جدایه دارای علایم بالینی و ۱۵ جدایه بدون علایم بودند. تحلیل فیلوژنیک نشان داد که در شاخه‌های بالای این درخت ۷ جدایه با علایم بالینی و در شاخه‌های پایینی همه ۱۵ جدایه بدون علایم 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 ۱/٥٤ 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 تأمین‌شده 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.

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,

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, Mohebali M, Niromand N, Niyyati 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

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, Mohebali 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

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 pateints 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.