

بررسی مقایسه‌ای حساسیت روش‌های تشخیصی گسترش مرطوب و کشت دیاموند در شناسایی انگل تریکوموناس واژینالیس و میزان ارتباط بین آلدگی و یافته‌های بالینی

دکتر خسرو حضرتی تپه^۱، حبیب محمدزاده^۲، مهیار مستقیم^۳، جاوید فریدونی^۴، الهام مهری^۵

چکیده

پیش زمینه و هدف : تریکوموناس واژینالیس، تک یاخته یوکاریوت تاژکداری است که در مجاري ادرار و سرویکس و فورنیکس خلفی واژن افراد آلدگی دیده می‌شود. بیماری ناشی از آن را تریکومونیازیس می‌نامند. متداولترین روش تشخیص انگل روش آزمایش میکروسکوپیک گسترش مرطوب با حساسیتی در حدود ۶۰ درصد می‌باشد. این مطالعه به بررسی مقایسه‌ای حساسیت روش‌های تشخیصی آزمایشگاهی آزمایشگاهی آزمایش گسترش مرطوب و کشت انگل در محیط کشت دیاموند در شناسایی انگل تریکوموناس واژینالیس پرداخته است.

مواد و روش : در این مطالعه ترشحات واژن ۴۲۰ زن مراجعه کننده به مرکز بهداشت شماره ۱۵ دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به دو روش آزمایش گسترش مرطوب به عنوان روش روتین تشخیصی و محیط کشت دیاموند به عنوان روش استاندارد طلایی تشخیص انگل مورد بررسی قرار گرفت و نتایج هر دو آزمایش باهم مقایسه گردید. **یافته‌ها :** از ۴۲۰ نمونه مورد بررسی در روش گسترش مرطوب ۱۱ مورد (۲.۶٪) از نظر وجود انگل دارای آزمایش مثبت بودند در حالی که نتایج آزمایش کشت انگل آلدگی به انگل را در ۱۰ مورد (۲.۴٪) از مجموع موارد نشان داد. در این مطالعه میزان حساسیت آزمایش گسترش مرطوب و کشت در محیط کشت دیاموند به ترتیب ۱۰۰٪ و ۹۰٪ به دست آمد. همچنین نتایج بررسی‌های آماری نشان داد که بین میزان آلدگی و یافته‌های بالینی از نظر آماری ارتباط معنی داری وجود دارد (۰.۰۵< p).

بحث و نتیجه گیری : از آنجاکه روش کشت انگل غالباً از حساسیت بالاتری نسبت به سایر روش‌های تشخیصی برخوردار است شاید بتوان علت تفاوت نتایج در دو آزمایش گسترش مرطوب و کشت را لیز شدن انگل در نتیجه نقل و انتقالات لوله‌های آزمایشگاه انگل‌شناسی و یا نامساعد بودن شرایط رشد انگل در محیط کشت دانست.

گل واژگان : تریکوموناس واژینالیس، کشت دیاموند، گسترش مرطوب

مجله پژوهشی ارومیه، سال پانزدهم، شماره اول، ص ۱۳-۷، بهار ۱۳۸۳

آدرس مکاتبه : ارومیه - گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، دکتر خسرو حضرتی تپه

- ۱- استادیار گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۲- مریبی گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۳- مریبی گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۴- مریبی گروه زبان انگلیسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
- ۵- کارشناس آزمایشگاه مرکز بهداشت شماره ۱۵، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

مقدمه

وجود نشانه‌های بالینی و مشخصات ترشحات واژن از قبیل رنگ و بو با قاطعیت به وجود آلدگی با تریکوموناس واژینالیس پی برده (۱۴). بدلیل آنکه هیچ نشانه‌ای به تنها بی یا همراه با دیگر علائم بدون انجام آزمایش‌های میکروسکوپیک ملاک تشخیصی قابل اعتمادی نیست (۱۵).

مستداول‌ترین روش تشخیص آلدگی، آزمایش گسترش مرطوب^۳ با حساسیتی در حدود ۳۵ تا ۸۰ درصد می‌باشد (۱۶). حساسیت روش گسترش مرطوب به میزان بالایی به مهارت آزمایشگر و انتقال فوری نمونه به آزمایشگاه و سرعت انجام آزمایش قبل از لیز شدن و از دست رفتن تحرك انگل بستگی دارد. از دیگر روش‌های تشخیصی فلورستنت آنتی بادی غیر مستقیم^۴ و الیزا^۵ با حساسیت بین ۷۰ تا ۹۰ درصد و نیز کشت در شرایط میکروآثروفیلیک با حساسیت تخمینی ۸۵ تا ۹۵ درصد که به عنوان روش استاندارد طلایی جهت تشخیص انگل مورد توجه قرار گرفته است را می‌توان نام برد (۱۷، ۱۸). این مطالعه به بررسی مقایسه‌ای حساسیت روش‌های تشخیص آزمایشگاهی گسترش مرطوب و کشت در محیط کشت دیاموند^۶ در شناسایی انگل تریکوموناس واژینالیس پرداخته است.

مواد و روش

در این مطالعه ۴۲۰ زن مراجعه کننده به مرکز بهداشت شماره ۱۵ دانشگاه علوم پزشکی ارومیه به دو روش آزمایش گسترش مرطوب به عنوان روش روتین تشخیصی و روش کشت در محیط کشت دیاموند به عنوان روش استاندارد طلایی تشخیصی

تریکوموناس واژینالیس یکی از تک تاخته‌های یوکاریوتیک تازکدار بیماری زای دستگاه ادراری تناسلی انسان می‌باشد. بیماری ناشی از آن تریکومونیازیس نام دارد. تریکومونیازیس دارای انتشار جهانی است و یکی از شایع‌ترین علل غیر ویروسی قابل سرایت از طریق تماس‌های جنسی^۱ است به طوری که طبق تخمین سازمان بهداشت جهانی هر ساله ۱۸۰ میلیون زن به این عفونت مبتلا می‌شوند (۱، ۲).

شیوع بیماری بسیار متغیر است در آمریکا از ۲٪ در بین زنان عادی تا ۵۶٪ در مراجعان به کلینیک بیمارهای مقابله‌ی، آلدگی به انگل دیده شده است (۳). وفور بیماری تا حد زیادی بستگی به جمعیت مورد بررسی، شرایط اقتصادی، بهداشتی، فرهنگی، اجتماعی دارد. شیوع بیماری در کشورهای مختلف متفاوت است، حداقل ۳٪ تا حد اکثر ۷۰٪ می‌باشد (۴، ۵). در ایران آمار دقیق و معتبری از میزان آلدگی به انگل وجود ندارد، گزارش‌های پراکنده‌ای که در این مورد وجود دارد عمدهاً مربوط به مراجعان به درمانگاه‌های زنان است (۶، ۷). به طوری که بر اساس آمارهای موجود میزان آلدگی در نقاط مختلف ایران نسبتاً پایین و حدود ۲/۳ تا ۲/۲۶٪ گزارش شده است (۸، ۹). واژیت، اورتیت، التهاب گردن زهدان (۱۰)، دیزوری، خارش و ترشحات واژینال کف آلد، حجمیم، رقيق و چوکی، بد بو و زرد رنگ تا سبز مشخصه این بیماری است. در آلدگی به این انگل شانس پارگی زود رس کیسه آمنیون^۲ و زایمان پیش از موعد، تولد نوزاد با وزن کم و یا سقط جنین ناشی از عفونت افزایش می‌باید (۱۱، ۱۲). بر اساس آمارهای موجود حدود ۱۰ تا ۵۰ درصد زنان آلد فاقد نشانه‌های بالینی هستند (۱۳)، این وضعیت در مردان به میزان بالاتری به چشم می‌خورد. به طور معمول مبنای تشخیص پزشکان در تعیین آلدگی بر پایه وجود علایم بالینی است. اما در زنان نمی‌توان تنها با تکیه بر

1- STD

2- PROM

3- Wet Mount

4- IFA

5- ELISA

6- Diamond

آزمایش میکروسکوپیک به عمل می‌آمد. نتایج هر دو آزمایش در پرسشنامه مربوط به بیمار درج می‌گردید و سپس نتایج هر دو آزمایش باهم مقایسه می‌شد. میزان حساسیت و ویژگی هر دو روش آزمایش مستقیم و کشت ترشحات با استفاده از فرمول (منفی کاذب + مثبت حقیقی) / (۱۰۰ × مثبت حقیقی)= حساسیت و (مثبت کاذب + منفی حقیقی) / (۱۰۰ × منفی حقیقی)= ویژگی، محاسبه گردید. علاوه بر این میزان ارتباط بین آلودگی و یافته‌های بالینی نیز با استفاده از آزمون آماری کای اسکوئر مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

از مجموع ۴۲۰ نمونه مورد بررسی ۱۱ نفر (۲/۶٪) دارای آلودگی به تریکوموناس واژینالیس بودند نتایج کشت انگل در محیط کشت دیاموند نشان داد که از مجموع موارد تعداد ۱۰ مورد (۲/۴٪) از نظر آلودگی به انگل دارای آزمایش مثبت بودند. این در حالی است که در آزمایش انجام شده به روشن گسترش مرطوب تعداد ۱۱ نفر دارای جواب آزمایش مثبت بودند. به این ترتیب میزان حساسیت در روش آزمایش گسترش مرطوب ۱۰۰ درصد و روش کشت انگل در محیط کشت دیاموند ۹۰/۹ درصد به دست آمد (جدول شماره ۱).

در ضمن ارتباط بین یافته‌های بالینی از قبیل ترشحات واژن، سوزش، خارش و آلودگی به تریکوموناس واژینالیس در بین بیماران آنوده به انگل از نظر آماری بررسی و معنی دار گزارش گردید ($P < 0/05$). همچنین بین سواد شوهر و آلودگی همسر به تریکومونیازیس رابطه معنی دار آماری وجود داشت ($P < 0/05$).

انگل مورد بررسی قرار گرفتند، نتایج هر دو مطالعه با استفاده از روش‌های آنالیز آماری مقایسه گردید.

علاوه بر این، میزان ارتباط بین آلودگی و یافته‌های بالینی از جمله ترشحات چرکی واژن، التهاب، سوزش و خارش و pH واژن و نیز مشخصاتی از قبیل سن بیمار، وضعیت تاہل با استفاده از آزمون‌های آماری مورد بررسی قرار گرفت.

بهاین ترتیب که پس از اطمینان از تداشتن خونریزی و عدم استفاده از شیاف یا کرم واژینال و یا استفاده از مواد ضد عفونی کننده نظیر بتادین و یا پرمنگنات، مراجعه کننده توسط متخصص زنان مورد معاینه واژینال قرار می‌گرفت، سپس برای وی پرسشنامه‌ای شامل مشخصات فردی تنظیم می‌گردید. بعد از قرار دادن اسپیکولوم استریل از تاحیه سرویکس و فورنیکس خلفی دوسوپ از ترشحات تهیه می‌شد. سوآپ‌ها وارد یک لوله آزمایش حاوی یک سی سی سرم فیزیولوژی می‌شدند تا جهت تهیه لام مستقیم و تلقیح در محیط کشت مورد استفاده قرار گیرند سپس، نمونه‌ها بلا فاصله به آزمایشگاه منتقل و عملیات بعدی روی آنها انجام می‌گرفت. ابتدا با یکی از سوآپ‌ها یک گسترش مستقیم تهیه و از نظر وجود تریکوموناس مورد بررسی میکروسکوپیک قرار می‌گرفت. سوآپ دوم نیز وارد لوله‌های آزمایش حاوی ۵ میلی لیتر محیط کشت دیاموند که از قبیل تهیه شده بود می‌گردید. محیط کشت به مدت ۷۲ ساعت در انکوباتور 37°C نگهداری و سپس از مایع رویی محیط کشت از نظر وجود تریکوموناس واژینالیس

جدول ۱ - حساسیت و ویژگی دو روش تشخیص بکار رفته در شناسایی انگل تریکوموناس واژینالیس

روش تشخیص	تعداد نمونه	مثبت واقعی	مثبت کاذب	منفی کاذب	حساسیت	ویژگی
کشت	۴۲۰	۱۰	-	۴۱۰	۹۰/۱	۱۰۰
مستقیم	۴۲۰	۱۱	-	۴۰۹	۱۰۰	۱۰۰

بحث

آزمایشگاهی کمک‌گرفته شود.

برای تشخیص انگل تریکوموناس واژینالیس روش‌های متنوعی از جمله آزمایش مستقیم نمونه تازه و یا رنگ‌آمیزی شده با کشت در محیط‌های کشت و پیوئه انگل، آزمایش سرولوژیکی مثل ایمنوفلورسانس غیرمستقیم و الیزا و... وجود دارد. در ارتباط با حساسیت و ویژگی روش‌های مختلف آزمایشگاهی فوق در تشخیص انگل از طرف پژوهشگران مختلف، نظرات متفاوت و بعض‌اً ضد و نقیضی عنوان شده است. ولی بر اساس اکثر مطالعات انجام شده روش کشت راه استاندارد و انتخابی در تشخیص انگل تریکوموناس واژینالیس می‌باشد. در روش‌های آزمایش مستقیم نمونه تازه و یا رنگ‌آمیزی شده در درجات بعدی تشخیص قرار دارند(۲۳).

در مطالعه انجام شده توسط فولادوند در سال ۷۲-۷۳ آلدگی به تریکوموناس واژینالیس به سه روش آزمایش مستقیم، کشت در محیط کشت دورسه و ایمنوفلورسانس غیرمستقیم در شهر بوشهر و بندر کنگان مورد بررسی قرار گرفت. حساسیت روش مستقیم در مطالعه فولادوند نسبت به روش کشت ۷/۸۵٪ و حساسیت روش گسترش رنگ‌آمیزی شده با گیمسا نسبت به محیط کشت دورسه ۸۱ درصد به دست آمد(۲۴)، در حالی که در مطالعه حاضر حساسیت روش مستقیم ۱۰۰٪ و حساسیت روش کشت انگل در محیط کشت دیاموند ۹۰/۹ درصد بدست آمد. در مطالعه دیگری که توسط سواهیر^۱ و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام شد، ارزیابی سه روش تشخیصی آزمایش مستقیم نمونه تازه، رنگ‌آمیزی با آکریدین و کشت در محیط کشت دیاموند در شناسایی انگل تریکوموناس واژینالیس مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه نمونه ۳۱۰ بیمار بررسی شد که از این تعداد ۴۰ نمونه (۱۲/۹٪) در آزمایش کشت و ۲۰ نمونه (۶/۵٪) در آزمایش مستقیم و ۱۹ نمونه (۶/۱٪) در آزمایش

بر اساس پژوهش‌های جدید شیوع تریکومونیازیس در جمعیت‌های مختلف جهان بسیار متفاوت گزارش شده است به طوری که طیف آلدگی از ۱۰ درصد در جمعیت‌های نرمال تا بیش از ۷۵ درصد در جمعیت‌های در معرض خطر را شامل می‌شود(۱۹). در جوامعی که بی‌بند وباری‌های جنسی رایج است، شیوع این عفونت بالاتر بوده و طبعاً انتشار آن نیز به سهولت انجام می‌گیرد(۱۹). مطالعات انجام شده در ایران از سال ۱۳۴۴ تا سال ۱۳۶۳ نرخ آلدگی را ۲۰ تا ۴۰ درصد بیان داشته‌اند. این در حالی است که مطالعات انجام شده پس از سال ۱۳۶۶ در ایران میزان آلدگی به انگل را کمتر از ۵ درصد نشان داده است(۹، ۲۰).

در مطالعات حاضر نیز فراوانی عفونت تریکومونیازیس ۶/۲ درصد گزارش شده است. وقت در سیر کاهش شیوع عفونت در کشورمان به‌وضوح نشان دهنده اهمیت فاکتورهای اخلاقی - اجتماعی و آموزشی در محدود کردن آلدگی است.

تریکومونیازیس یک بیماری مقاربی با طیف وسیعی از علائم بالینی است، این علائم در برخی موارد به کلی وجود ندارد و بیمار فاقد علامت است و در برخی بیماران نیز به صورت خفیف و غیراختصاصی دیده می‌شود و در تعدادی نیز علائم بالینی مشخصی وجود ندارد(۲۱). با توجه به اینکه تابلوی کلینیکی بیماران مبهم است لذا مبنای تشخیص پزشکان بر اساس علائم بالینی تقریباً ناممکن و یا غیر قابل اعتماد است (۲۲). چراکه در یک جامعه‌ای از افراد بیمار دارای علامت که به مراکز بهداشتی مراجعه می‌کنند الزاماً تمام افراد دارای علامت و نشانه‌های بیماری، آلدگی به انگل تریکوموناس نیستند چونکه علائم ایجاد شده ممکن است مربوط به سایر آلدگی‌ها اعم از باکتریایی، قارچی، ویروسی باشد. بنابر این ضروری است که برای تشخیص عفونت ناشی از این تک یا خته از روش‌های

حاضر را لیز شدن انگل در نتیجه نقل و انتقالات لوله‌های آزمایش به آزمایشگاه و یا نامساعد بودن شرایط رشد انگل در محیط کشت دانست. بنابر این برای جلوگیری از مخفی ماندن آلدگی بهتر است از تلفیق دو روش آزمایش مستقیم نمونه تازه در گسترش مرطوب که روش ساده، ارزان و سریع است و روش کشت انگل برای یافتن موارد مثبت عفونت استفاده شود به کار بردن همزمان این دو روش حساسیت تشخیص را به ۹۸٪ و ویژگی آن را به ۱۰۵ درصد افزایش می‌دهد^(۴). روش‌های تشخیص دیگر نظری روش‌های سرولوژیکی بدلاًیل هزینه زیاد و وقت طولانی و نیاز به داشتن تجهیزات و افراد مجرب کمتر مورد استفاده قرار می‌گیرد^(۲۶).

پیشنهاد می‌گردد که پزشکان، متخصصان زنان و زایمان و شاغلان حرفه مامایی برای تشخیص بیماری تنها به علائم و نشانه‌های بیماری اکتفا نکنند بلکه برای دستیابی به تشخیص قطعی بیماری، بیمار را به آزمایشگاه‌های تشخیص طبی ارجاع داده و از نتایج آزمایش‌های مستقیم و کشت ترشحات واژینال بیمار از نظر وجود آلدگی به تریکوموناس واژینالیس اطمینان حاصل نمایند.

نمونه رنگ آمیزی شده با اکریدین دارای جواب مثبت بودند. به این ترتیب حساسیت روش مستقیم به روش کشت ۵۰٪ و حساسیت روش نمونه رنگ آمیزی شده با آکریدین نسبت به کشت ۴۷/۵٪ در مطالعه سواهیر به دست آمد^(۲۵).

در مطالعات آزمایشگاهی ترشحات واژینالیس آلدگی به تریکوموناس واژینالیس به دو روش آزمایش مستقیم و کشت، گزارش‌های متفاوتی در مورد میزان حساسیت آزمایش مستقیم و کشت ارائه شده که ممکن است به دلایل متعددی ارتباط داشته باشد از جمله اینکه نتایج حاصل از آزمایش نمونه ترشحات بیمار به دو روش آزمایش مستقیم و کشت نمونه به میزان بالایی به مهارت آزمایشگر و نقل و انتقال فوری نمونه به آزمایشگاه و سرعت انجام آزمایش قبل از لیز شدن و از دست رفتن تحرک انگل و تازگی محیط کشت، درجه حرارت آزمایشگاه و انکوپاتور بستگی دارد. لذا نتایج آزمایش متفاوتی را در مطالعات مختلف می‌توان انتظار داشت.

از آنجاکه روش کشت انگل غالباً از حساسیت بالاتری نسبت به سایر روش‌های تشخیصی برخوردار است شاید بتوان علت تفاوت نتایج دو روش آزمایش مرطوب و کشت در مطالعه

References

- 1- Madico G, Quinn TC, Rompalo A: Diagnosis of Trichomonas vaginalis infection by PCR using vaginal swab samples. J clin Microbiol, 1998, 36: 3205-3210.
- 2- Petrin D, Dalgalty K, Bhatt Rond Garbe G: Clinical and microbiological aspects of Trichomonas vaginalis. Clin Microbiol Rev, 1998, 11:300-317.
- 3- Kent h L: Epidemiology of vaginitis. Am J Obst Gynecol, 1991, 165(4): 1168-76.
- 4- Quinn TC, Krieger JN: trichomoniasis in editor: Tropical and geographical Medicine. 5th ed philadelphia, WB Sounders Co, 1990: 358-364.
- 5- Rein MF, muller M: Trichomonas vaginalis in sexually transmitted diseases. 2 nd ed, New-York, MC Graw-Hill, 1990: 481-492.

- 6- Germain M, etal: Evaluation of a screening algorithm for the Diagnosis of Genital infections with Neisseria gonorrhoeae and chlamydia trach among female sexworkers in Benin. *Sex Trans Dis*, 1997, 24(2): 109-15.
- 7- Herzberg A J, Silverman JF: Detection of Trichomonas vaginalis in Endocervical smears. *Diagn Cyto pathol*, 1996, 14(3): 273-6.
- ۸ آقاجان زاده بینا: بررسی میزان شیوع تریکومونیازیس در زنان مراجعه کننده به بخش سینولوژی بیمارستان آیت الله کاشانی و درمانگاه شهید داودی شهر کرمان. پایان نامه کارشناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرمان، ۱۳۷۱.
- ۹ فرهمند مهین: بررسی تریکومونیاز در زنان مراجعه کننده به بیمارستان زنان میرزا کوچک خان و بررسی مقدماتی تست ایمuno فلورسانس غیر مستقیم. پایان نامه شماره ۱۶۳۱ دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، ۱۳۶۸.
- 10- Riley D E, Robert M C, Takayama T, Krieger J N: Development of a polymerase chain reaction - based diagnosis of Trichomonas vaginalis. *J Clin Microbial*, 1992, 30: 465-72.
- 11- Shaio M F, Lin P R: Colorimetry one- tube nested PCR for detection of Trichomonas vaginalis in vaginal discharge. *J Clin Microbiol*, 1997, 35: 132-138.
- ۱۲ سینا شاهین، اسفندیار محسن، علیاری فرشید در: بارداری و زایمان ویلیامز ۱۹۹۷. چاپ اول، تهران، اشتیاق، ۱۳۷۶، جلد سوم، ص ۲۸۲.
- 13- Burstein G R and Zenilman J M: Nongono- coccal Urethritis-a new Paradigm. *Clin Infect Dis*, 1999, 28 (suppl.1): 566-573.
- 14- Sobel J D: vaginitis. *N Engl J Med*, 1996, 337: 1896-1903.
- 15- Wawer M J, Nairn M C, Wabwire M F: Self-administered vaginal swabs for population-based assessment of Trichomonas vaginalis prevalence. *Lancet*, 1995, 345: 131-132.
- 16- Draper D, parker R, Patterson E: Detection of Trichomonas vaginalis in pregnant women with the in pouch TV culture system. *J Clin Microbial*, 1993, 31: 1016-1018.
- 17- Guillerom M, Thomas C G, Anne R: Diagnosis of Trichomonas vaginalis Infection by RCR using vaginal swab samples. *J Clin Microbiol*, 1998 36(11): 3205.
- 18- Heine P, MC-Gregor J A: Trichomonas vaginalis a reemerging pathogen. *Clin Obstet Gynecol*, 1993, 36: 137-144.
- 19- Warren KS, Mahmoud AA: Tropical and Geographical Medicine. 2nd ed, New Youk, Mac Graw-Hill, 1990: 362.
- ۲۰ فرید حسین و همکاران: بررسی آلدگی با تریکوموناس واژینالیس در مراجعین به درمانگاه‌های زنان دانشکده پزشکی اصفهان. مجله بهداشت ایران، ۱۳۵۷، سال هفتم، شماره ۴، ص ۱۰.
- 21- Spence M R, Hollander D H, Smith J, etal: The Clinical and Laboratory diagnosis of Trichomonas vaginalis infection. *Sex Trans*

- Dis, 1980, 7: 168.
- 22- Fouts A C, Kraus S J: *Trichomonas vaginalis*: reevaluation of its clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Infect Dis*, 1980, 141: 137.
- 23- Mandell Gl: *Principles and Practice of infectious diseases*. 3rd ed, New York, Mac-Graw-Hill, 1990: 2117.
- ۲۴- فولادوند مراد علی بررسی آنودگی با تریکوموناس واژینالیس به وسیله سه روش پارازیتلوژیک و ارزشیابی تست ایمنوفلورسانس غیرمستقیم (IFA) در بنادر بوشهر و کنگان (۷۳-۱۳۷۲). طب جنوب، پاییز ۷۹، شماره اول، ص ۲۳-۲۹.
- 25- 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. *Mikrobiol Bul*, 2002, 36(3-4): 329-335.
- 26- Kollander D M: Vit B12 requirement for the growth of *Trichomonas vaginalis*. *J Parasitol*, 1985, 71(5): 683-4.