Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 29, No: 1, 2020 (121-134)

Comparison of Methods for Detection of *Chlamydia trachomatis* in Cervical from Women in Mosul City

Modruka M.H. Al-Jammally[1*]; Hiyam A. I. Al-Taii[2]

[1*]Dep. Int. Med. Vet. Med, College of Veterinary, University of Mosul, Mosul, Iraq
[2]Department of Biology, College of Science, University of Mosul Mosul, Iraq
,
Email: [1*]modrukaaljamaly57@gmail.com, [2] hiyamaltaii@ymail.com

(Received December 03, 2018; Accepted July 03, 2019; Available online March 01, 2020)

DOI: 10.33899/edusj.2020.164367, © 2020, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract:

The study included detection of *Chlamydia trachomatis* in the cervix of symptomatic and a symptomatic woman.

A total of (60) woman aged between (16-<45) years were diagnosed by the consultant of the general hospital in Mosul city during the period May until the end of December 2013.

Three endocervical swabs were collected from each woman. One of the three swabs was stained with Giemsa stain for direct examination by light microscope, and the other swabs was put in 0.2M sucrose phosphates transport media then inoculated in yolk Sac of embryonated chicken eggs, and the last endocervical swabs was used for detection of chlamydia by using rapid immunochromatographic card test . From each woman participated in this study 5 ml of venous blood was collected to detect the immunoglobulin (IgG) by ELISA and indirect microimmuno flourescence test.

The result showed that *C.trachomatis* was presented in percentage (35%) by Indirect microimmunoflourescence test (30%) by ELISA (25%) by culturing (21.6) by Giemsa stain, , (5%) by rapid test in symptomatic and asymptomatic women.

This result showd that Indirect MicroimmunoaFlourecence is more specific to detect *Chlamydia* than other test while the rapid test was of no value in detection of chlamydia in endocervical swabs

Also the result showed that the percentage of *Chlamydia* in a asymptomatic woman such as infertility and abortion had high percentage than symptomatic woman such as vaginal discharge, abdominal pain' and ectopic pregnancy . Also the result showed that the isolation rate in age group (21-30) years was the more dominate than other age group.

Keyword: *Chlamydia trachomatis* , ELISA , IMIF

مقارنة الطرائق التشخيصية المستخدمة للتحري عن جراثيم *Chlamydia trachomatis* من عنق الرحم في نساء مدينة الموصل

مدركة محمود حسن الجمالي[1*] و هيام عادل ابراهيم الطائي[2]

[1]

[*] قسم الطب الباطني/ كلية الطب البيطري, جامعة الموصل, الموصل, العراق

[2] قسم علوم الحياة/ كلية العلوم, جامعة الموصل, الموصل, العراق

الخلاصة

تضمنت الدراسة التحري عن جراثيم *Chlamydia trachomatis* في عنق الرحم للنساء المصابات بالتهاب الجهاز التناسلي السريري وتحت السريري.

شملت الدراسة فحص (60) امرأة تراوحت اعمارهن (16−45>) سنة المشخصات سريريا من قبل الطبيبات الاختصاص في مستشفى السلام والخنساء التعليمي في الموصل وللفترة ما بين آذار حتى نهاية كانون الاول 2013.

تم اخذ (3) مسحات من عنق الرحم لكل امرأة، صبغت الاولى بصبغة كمزا لغرض الفحص المجهري المباشر، وضعت المسحة الثانية في الوسط الناقل الخاص بالجرثومة Sucrose phosphate transport medium 0.2M− ثم تم زرعها في كيس المح للبيض المخصب، في حين استعملت المسحة الثالثة في فحص التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع. كما تم سحب 5 مل من الدم الوريدي لكل امرأة لغرض التحري عن الاجسام المضادة من نوع IgG بتقنية الاليزا وتقنية التالق المناعي غير المباشر.

اوضحت النتائج تواجد الكلاميديا بنسبة (35%) بتقنية التالق المناعي غير المباشر وبنسبة (30%) بتقنية الاليزا و وبنسبة (25%) بتقنية الزرع وبنسبة (21.6%) باستعمال صبغة كمزا وبنسبة (5%) بتقنية التشرب المناعي في النساء ذوات الاعراض السريرية او اللاتي لايظهرن الاعراض السريرية .

كما اظهرت الدراسة ان تقنية التالق المناعي غير المباشر تعد افضل الطرائق استعمالا في التحري عن الجرثومة في حين ان طريقة التشرب المناعي اقل حساسية ولا ينصح باستعمالها.

كما اوضحت النتائج ان نسبة تواجد الكلاميديا في النساء اللواتي لايبدين اعراضا سريرية ظاهرة مثل تكرار الاجهاض والعقم اعلى من نسبتها في النساء اللواتي لديهن اعراضا سريرية كالافرازات المهبلية وآلام اسفل البطن، والحمل خارج الرحم . كما اوضحت النتائج ارتفاع الاصابة لدى النساء بعمر (21−30) سنة.

الكلمات المفتاحية : المتدثرة الحثرية , الاليزا , التألق المناعي غير المباشر

المقدمة

الكلاميديا (المتدثرة) *Chlamydia*

بكتريا صغيرة الحجم ، سالبة لصبغة كرام غير متحركة متطفلة اجباريا داخل الخلايا، تضم ثلاثة انواع مهمة للانسان وهي المتدثرة الحثرية*C.trachomatis* والمدثرة الرئوية *C.pneumoniae* والمدثرة الببغائية *C.psittaci* [1].

تعد بكتريا *C.trachomatis* اكثر الانواع انتشارا في العالم اذ تعد احدى المسببات الجرثومية المسؤولة عن الامراض المنقولة جنسيا في العالم [2]، وتشمل ثلاث انماط مصلية تحت النوع BioVars مسؤولة عن احداث امراض مختلفة في الانسان فالنمط المصلي
A, B, Ba,(c) بسبب التهاب الاحليل والبربخ في الرجال بالاضافة إلى التهاب الرحم في النساء فضلا عن اصابته للغشاء المبطن للعين مما يؤدي إلى احداث مرض التراخوما وفي حالة عدم العلاج فانه يؤدي إلى العمى [3]، فيما يسبب النمط المصلي L_1, L_2, L_3 المرض الزهري Lymphogranuloma venereum (LGV).

أما الانماط D−K فتسبب التهابات في منطقة الحوض Pelivic inflammatory disease [3] يطلق على معظم اصابات الكلاميديا بالمرض الصامت Silent disease إذ ان نصف إلى ثلاثة ارباع اصابات النساء والرجال تكون بدون اعراض ولهذا لا

يتم تشخيصها أو معالجتها، أما في حالة ظهور اعراض فتتمثل بالافرازات المهبلية غير الطبيعية، حرقة اثناء التبول، طفح حول المنطقة التناسلية وفي حالة تطور الحالة وعدم العلاج المناسب تقود إلى احداث التهاب الرحم ومن ثم تصعد الاصابة وتصيب قناة فالوب مؤدية إلى التهابها وبالتالي إلى حدوث امراض تصيب المنطقة الحوضية مسببة ما يعرف بمرض الالتهاب الحوضي مما يؤدي إلى العقم Infertility كما انها تزيد من احتمالية حدوث حمل خارج الرحم ectopic pregnancy. اما في حالة اصابة المرأة الحامل فان الاصابة تنتقل إلى الطفل مما يؤدي إلى اصابة الطفل الرضيع واحداث التهاب في ملتحمة العين البكتيريBacterial conjunctivitis أو التهاب الرئة Neonatal pneumonia [4,5].

تمتلك الكلاميديا عوامل فوعة مختلفة تتمثل بقابليتها على تكوين شكلين الاول الطور المعدي Elementary body (EB) والذي له قابلية الالتصاق باسطح خلايا المضيف (الخلايا الطلائية) ومن ثم يدخل إلى داخل الخلية عن طريق عملية البلعمة Phagocytosis وبعد ذلك يتحول إلى الشكل الثاني (الطور التكاثري Reticylocyte body RB) الذي له قابلية التضاعف داخل الخلية مما يؤدي إلى تحطيمها [6].

تشخص هذه الجرثومة بعدة طرائق وتعد طريقة الزرع الطريقة المثالية مقارنة بالطرائق التشخيصية الاخرى حتى لقبت بالمقياس الذهبي Gold standard، ومن ثم طريقة الأليزا Enzyme linked sorbent immune assay والتألق المناعي المباشر وغير المباشر والتي تتحرى عن المستضد فضلا عن طرق اخرى معتمدة على الكشف عن الحوامض النووية كتفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) [7].

حاولت الدراسة التحري عن هذه الجرثومة بالطرائق الزرعية والمصلية و مقارنة الطرائق المختلفة في تشخيصها.

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة جمع النماذج من (60) امرأة متزوجة تراوحت اعمارهن ما بين (16-45<) سنة وللفترة ما بين آذار – كانون الاول 2013.

(38) منهن يعانين من بعض الاعراض السريرية الظاهرة والمتمثلة بافرازات مهبلية، آلام اسفل البطن والظهر، حرقة اثناء التبول وحمل خارج الرحم، (22) امرأة لم تعاني من اعراض سريرية ظاهرة لكنها تشكو من تكرار الاجهاض، عدم الانجاب. شخصن سريريا بوجود التهاب في عنق الرحم والمهبل من قبل الاخصائيات في مستشفى السلام والخنساء التعليمي في مدينة الموصل.

تم جمع بعض المعلومات عن كل امرأة متمثلة بالاسم، العمر، السكن، عدد الاطفال، اجهاض، حمل خارج الرحم، تكرار الالتهاب.

النماذج

بعد ادخال Speculum إلى داخل المهبل لتوسيع فتحة المهبل ازيلت الافرازات المخاطية الزائدة بواسطة قطن معقم. ثم اخذت ثلاث مسحات من عنق الرحم لكل مريضة باستعمال مسحات بلاستيكية خاصة بجراثيم الكلاميديا Special plastic shaft darcon tip إذ تم تحريك المسحة بحركة دائرية لمدة (10-15 ثانية) ووزعت المسحات بالشكل الآتي:

1. فرشت المسحة الاولى بشكل دائري على شريحة زجاجية وبعد ان جففت تم تثبيتها بالميثانول لغرض الصبغ.

2. وضعت المسحة الثانية في الوسط الناقل الخاص بجراثيم الكلاميديا والمتمثل 2SP (Sucrose–phosphate transport medium) 0.2M مضاف اليه عدد من المضادات الحيوية وهي: Gentamycin بتركيز 10 مايكروغرام/سم^3 و Vancomycin بتركيز 25 ملغم/سم^3 و Nystatin بتركيز 25 وحدة دولية/سم^3.

3. اما المسحة الثالثة فقد وضعت في انبوبة جافة لغرض الفحص النوعي لتواجد الكلاميديا والمعروف بطريقة التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع.

4. تم سحب (5) مل من الدم الوريدي لكل مريضة لغرض اجراء الفحوصات المصلية.

نقلت جميع العينات بالسرعة الممكنة بما لا يزيد عن ساعتين إلى كلية العلوم / جامعة الموصل/ لغرض اكمال الفحوصات.

طرائق العمل:

1. صبغت المسحة الاولى بصبغة كمزا الخاصة بجرثومة الكلاميديا لغرض ملاحظة الاجسام الاشتمالية [8].

2. بعد تأمين البيض المخصب من حقول خالية من الامراض وضعت في الحاضنة تم تلقيح البيوض المخصبة بعمر 5–9 أيام بالعينات الموضوعة في الوسط الناقل بنسبة (0.2) مللتر. إذ لقحت في كيس المح وغلقت الفتحة بالبارافين ووضعت البيوض في الحاضنة بدرجة حرارة 37°م ولمدة (13) يوم. بعدها جمعت محتويات كيس المح والجنين لغرض الكشف عن وجود البكتريا علما بأن عدد البيض المحقون لكل عزلة بيضتان مع عينة السيطرة الملقحة بالوسط الناقل بدون عينات، وقد اجريت ثلاث تمريرات متسلسلة للعزلات السالبة [9].

3. اما المسحة الثالثة فقد استعملت لغرض البحث عن مستضد الكلاميديا ضمن طريقة التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع Rapid immunechromatographic card test وذلك بوضع 300 مايكروليتر من محلول A (0.2 M NaOH) في انبوبة الاستخلاص بعدها غمرت المسحة في هذه الانبوبة مع تدويرها عدة مرات وتركت لمدة دقيقتين ثم اضيف 220 مايكروليتر من محلول B (0.2 N HCl) إلى انبوبة الاستخلاص مع تدوير المسحة وتركت لمدة دقيقة، أخذ 3–5 قطرات من المزيج ووضعت في الحفرة المؤشر عليها بحرف S (النموذج) في شريط الاختبار وسجلت النتيجة بعد 10 دقائق، وعند ظهور خطين بلون احمر (واحد في منطقة الاختبار والآخر في منطقة السيطرة) دليل على النتيجة الموجبة للفحص .

4. تم فصل المصل من عينات الدم باستعمال جهاز الطرد المركزي بقوة 3000 دورة/دقيقة لمدة (10) دقائق وحفظ بدرجة حرارة (20–) لحين الاستعمال.

الفحوصات المصلية :

أ. تم استعمال اختبار الاليزا كاختبار كمي للتحري عن الاجسام المضادة الخاصة بالمتدثرة الحثرية (*C.trachomatis*) والمتمثلة بـ IgG والتي تعد كمؤشر للاصابة المزمنة، تم الاعتماد في قراءة النتيجة على عمل المنحنى القياسي بين (التركيز والامتصاصية) وبالاعتماد على تركيز هذا الكلوبيولين المناعي في المحاليل القياسية تم احتساب تركيز الاضداد بالعينة من خلال المنحني القياسي وتم اعطاء النتائج اعتمادا على القيم التالية:

16> وحدة دولية النتيجة (سالبة)

16>–22≤ وحدة دولية النتيجة مشكوك بها Borderline

22≤ وحدة دولية النتيجة موجبة

ب. تم استعمال طريقة التألق المناعي غير المباشر Indirect Microimmuneflorescence kit (Euroimmun) للتحري عن الاجسام المضادة IgG وهو اختبار كمي ومؤشر أيضاً عن الحالة المزمنة وتعد النتيجة موجبة في حالة وجود الاجسام المضادة IgG في المصل التي تسبب تألق الاجسام الاشتمالية الموجودة في سايتوبلازم الخلايا المصابة (EU38) المثبتة على الشريحة الزجاجية الجاهزة مع عدة الفحص نتيجة لتفاعلها معها وسجلت النتيجة بواسطة المجهر الفلوروسيني.

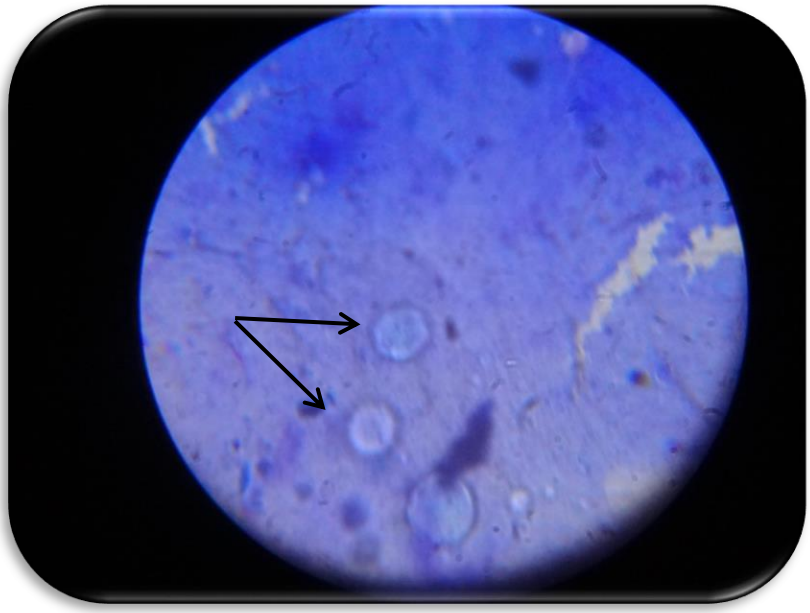
النتائج

الفحص المجهري

اظهرت نتائج التحري عن جراثيم *C.trachomatis* وبالاعتماد على صبغة كمزا المباشرة. ان عدد العينات الموجبة (13) عينة وبنسبة (21.6%) وتم الاعتماد في ذلك على تواجد الاجسام الاشتمالية والمصبوغة باللون الازرق في المسحات المأخوذة مباشرة من عنق الرحم والتي تكون دائرية الشكل الى بيضوية ذات لون غامق موزعة بأعداد قليلة داخل الخلايا الطلائية في حين ان عدد العينات السالبة (47) عينة وبنسبة (78.4%) ويتضح ذلك في الجدول (1).

الجدول (1): اعداد ونسب حالات الاصابة بجراثيم *C.trachomatis* باستعمال صبغة كمزا للعينات قيد الدراسة

العينات	العدد	النسبة المئوية
العينات الموجبة	13	21.6
العينات السالبة	47	78.4
المجموع الكلي	60	100



الصورة (1): الاجسام الاشتمالية للنوع المتدثرة الحثرية للمسحات المباشرة والمصبوغة بصبغة كمزا

الزرع:

بينت الدراسة الحالية ان عدد العينات التي اظهرت نتيجة موجبة للاصابة بـ *C.trachomatis* بلغت 15 عينة وبنسبة (25%) في حين كان عدد العينات السالبة 45 عينة وبنسبة (75%) وبطريقة الزرع في كيس المح لاجنة البيض المخصب وذلك من خلال ملاحظة الاجسام الاشتمالية في المسحات المحضرة من مح البيض وصبغها بصبغة كمزا بالاضافة إلى التغيرات الشكلية والفسلجية التي حدثت في كيس المح فضلا عن التغيرات المرضية التي حدثت في الاجنة منها تقزم وتشوه خلقي(بساق واحدة) في الجنين فضلا عن احداث نزف واحتقان بالأوردة المحيطة بالجنين او بكيس المح . ويمكن ملاحظة ذلك من خلال الصورة (2) والجدول (2).

الصورة (2): التغيرات المرضية في جنين البيض المخصب والمصاب بالنوع المتدثرة الحثرية

الجدول (2): اعداد ونسب حالات الاصابة بجراثيم *C.trachomatis* في العينات قيد الدراسة وبطريقة الزرع في اجنة الدجاج

الاصابة بجراثيم *C.trachomatis*	العدد	النسبة المئوية
الحالات المصابة	15	25
الحالات غير المصابة	45	75
المجموع	60	100

التشخيص المصلي

تم الاعتماد على ثلاث طرائق للتحري عن جرثومة *C.trachomatis*:

1. التحري عن وجود المستضد الخاص بالكلاميديا في المسحات المأخوذة من عنق الرحم وبالاعتماد على الطريقة السريعة والمعروفة بطريقة التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع كطريقة نوعية وسريعة.
2. اختبار الاليزا للتحري عن الاجسام المضادة (IgG) في مصل المريض.
3. اختبار التألق المناعي غير المباشر للتحري عن الاجسام المضادة (IgG) في مصل المريض.

اظهرت نتائج الاختبار الاول ان عدد الحالات الموجبة بلغ (3) من مجموع (60) عينة وبنسبة (5%) فيما كانت عدد الحالات السالبة (57) عينة وبنسبة (95%).

اظهرت نتائج اختبار الاليزا ان (18) عينة مصل وبنسبة (30%) اظهرت نتيجة موجبة تراوحت هذه النتائج ما بين (8) عينات وبنسبة (13.33%) اصابة قوية جدا (+++) في حين ان (10) عينات وبنسبة (16.66%) اصابة متوسطة بالاعتماد على القوة الاختزالية للانزيم والتي تتناسب طرديا مع كمية الاضداد الموجودة في العينة متمثلة بشدة الالوان (++) كما ان هناك حالات مشكوك بها ويمكن ملاحظة ذلك من خلال الجدول (4).

الجدول (3): اعداد ونسب تواجد الاجسام المضادة IgG في مصل النساء قيد الدراسة وباستعمال طريقة الاليزا

نوع الحالة	الاعداد الموجبة لتواجد الاجسام المضادة IgG	%
اصابة موجبة قوية (+++)	8	(13.33)
اصابة موجبة (++)	10	16.67
اصابة مشكوك بها	8	13.33
اصابة سالبة	34	56.67
المجموع	60	100

اظهرت نتائج تقنية التألق المناعي غير المباشر ان عدد العينات الموجبة بلغت 21 وبنسبة (35%) تراوحت ما بين 18 حالة اصابة قوية وبنسبة 30% و3 وبنسبة (5%) حالات اصابة ضعيفة وكما يوضح الجدول (4).

الجدول (4): اعداد ونسب الاصابة في النساء قيد الدراسة وحسب تقنية التألق المناعي غير المباشر

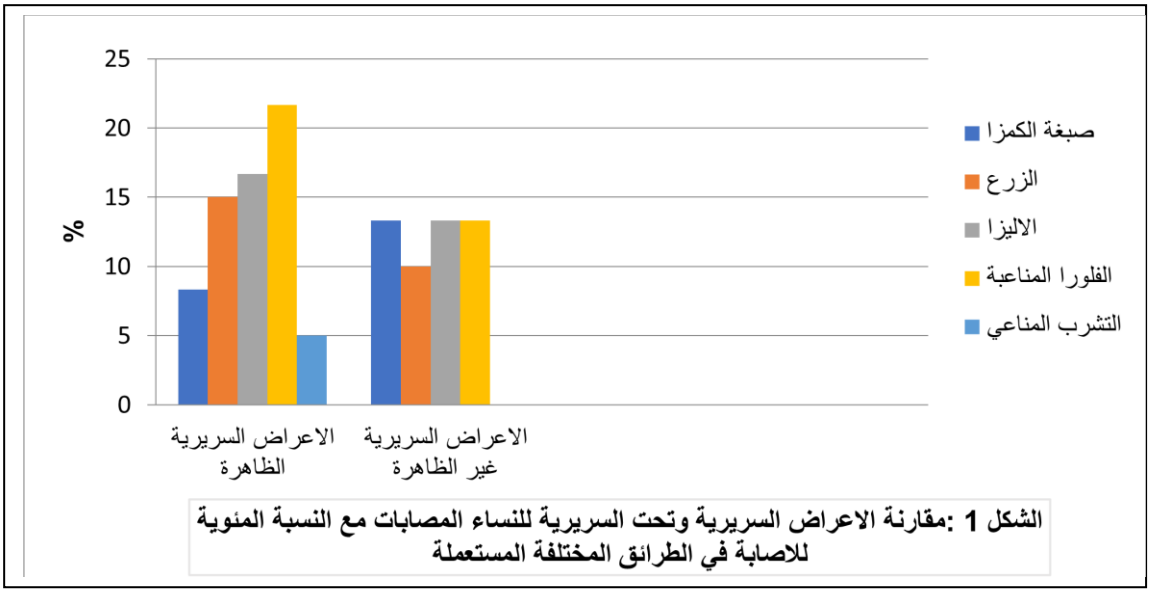
نوع الحالة	الاعداد الموجبة لتواجد الاجسام المضادة IgG	%
اصابة موجبة قوية (+++)	18	30
اصابة موجبة (+)	3	5
اصابة سالبة	39	65
المجموع	60	100

كانت اعداد النساء اللواتي اظهرت اعراض سريرية 5 وبنسبة (8.33%) من العدد الكلي في حين ان عدد النساء اللواتي لم يظهرن اي اعراض سريرية وظهرت لديهن اصابة 8 وبنسبة (13.33%) من العدد الكلي وباستعمال صبغة كمزا، اما في طريقة الزرع في اجنة الدجاج المخصب فكانت اعداد النساء اللواتي اظهرت اصابة ولديهن اعراض سريرية ظاهرة 9 وبنسبة (15%) في حين ان عدد النساء اللواتي لم يظهرن اي اعراض سريرية ولديهن اصابة 6 وبنسبة (10%).

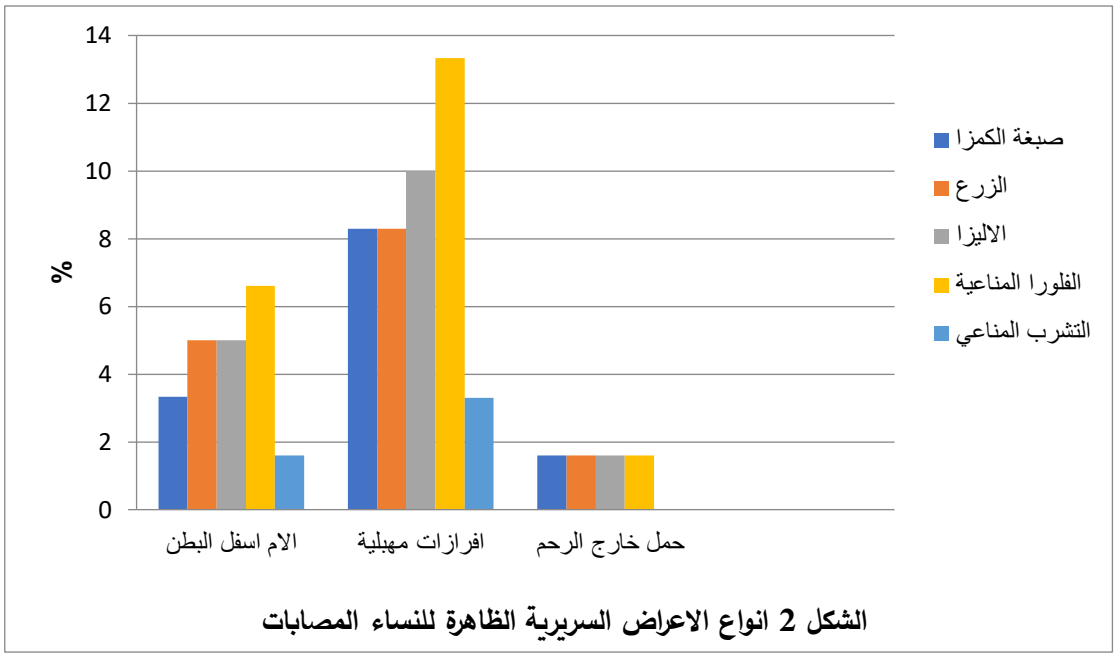
اما بالنسبة للفحوصات المصلية فقد بلغت اعداد العينات التي اظهرت ارتفاعا في مستوى IgG ولديهن اعراضا سريرية وهي 10 وبنسبة (16.66%) في طريقة اليزا و8 وبنسبة (13.33%) بطريقة التألق المناعي في حين بلغت اعداد النساء اللواتي لم يظهرن اعراض سريرية ولديهن ارتفاعا في مستوى IgG هي 8 وبنسبة (13.33) بطريقة الأليزا و13 وبنسبة (21.66%) بطريقة التألق المناعي ويمكن ملاحظة ذلك في الشكل 1، اما بالنسبة لطريقة التشريب المناعي فقد بلغت اعداد النساء اللواتي اظهرن اعراضا سريرية 3 وبنسبة (5%) اما اللواتي لم يظهرن أي اعراض سريرية كانت نسبة الاصابة صفر %.

ومن خلال ملاحظة الاعراض السريرية لدى النساء لوحظ ان معظم الحالات الموجبة والتي اعطت اعلى نسبة هن النساء اللواتي يشكين من افرازات مهبلية تلتها آلام اسفل البطن ثم حمل خارج الرحم اما الاعراض السريرية غير الظاهرة فكانت متمثلة بعدم الانجاب وتكرار الاجهاض ويمكن ملاحظة ذلك في الشكلين (2) و (3).

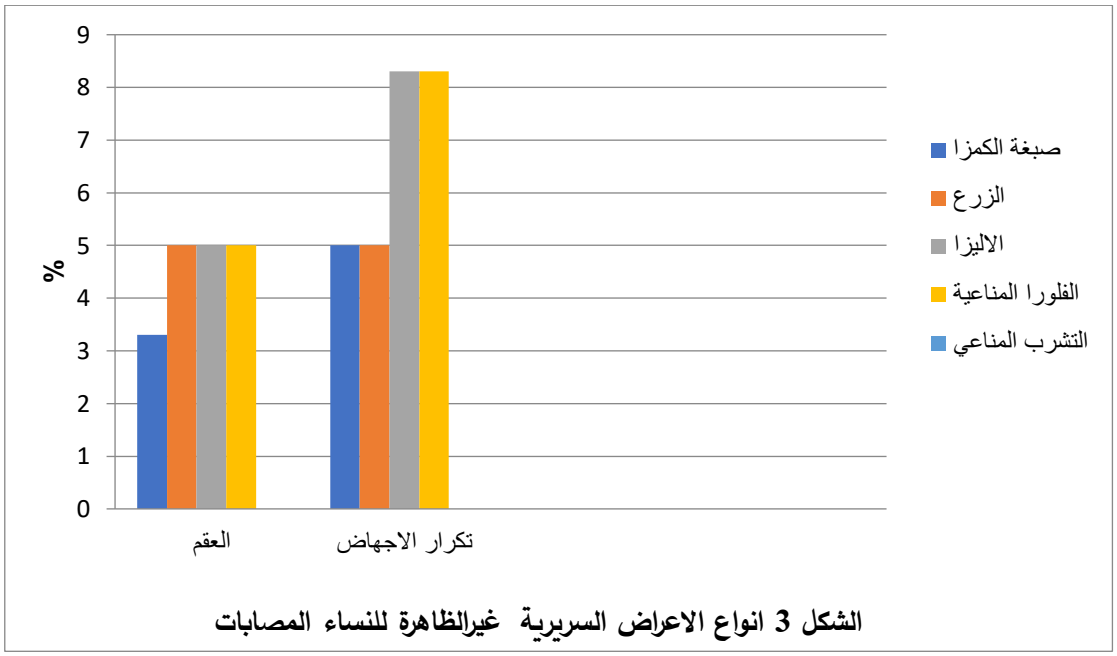
ولتحديد علاقة الاصابة مع اعمار المصابات فقد تم تقسيم المرضى الى اربع فئات عمرية وقد حصلت الفئة العمرية (21–30) سنة اعلى نسبة وبالطرائق المختلفة فيما اعطت كل من الفئات (16–20) و(31–40) سنة نفس النسبة تقريبا وبالطرائق المختلفة فيما حصلت الفئة العمرية (41–45) سنة اقل نسبة وكما موضح في الشكل 4 .



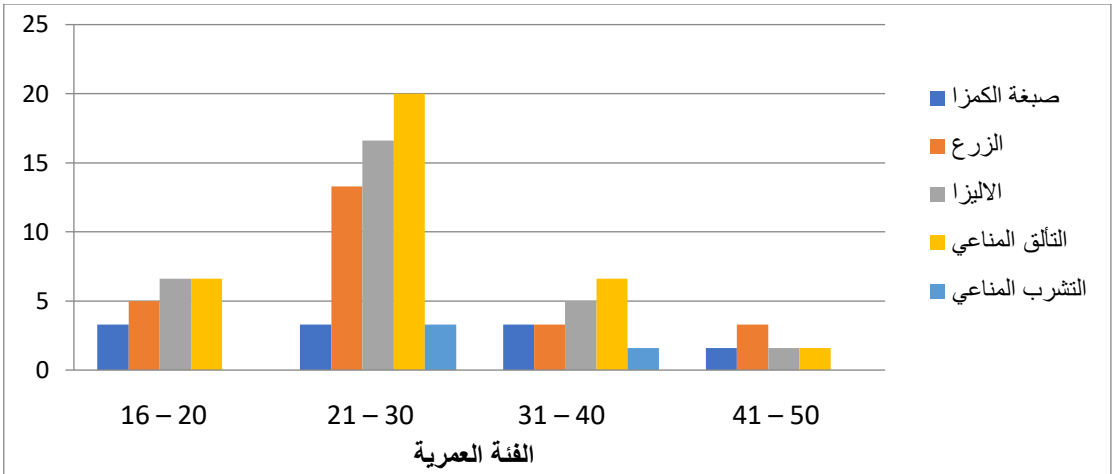
الشكل 1 :مقارنة الاعراض السريرية وتحت السريرية للنساء المصابات مع النسبة المئوية للاصابة في الطرائق المختلفة المستعملة



الشكل 2 انواع الاعراض السريرية الظاهرة للنساء المصابات



الشكل 3 انواع الاعراض السريرية غيرالظاهرة للنساء المصابات



الشكل 4: نسب الاصابة في العينات قيد الدراسة للفئات العمرية باستعمال الطرائق الاربع

مقارنة الطرائق التشخيصية المستعملة

تم الاعتماد في تشخيص جرثومة المتدثرة الحثرية *C.trachomatis* على الطرائق المذكورة سابقا واظهرت النتائج بان افضل طرائق الاستعمال هي الطرائق المصلية متمثلة بطريقة التألق المناعي غير المباشر علما بان حساسيتها 79% وخصوصيتها 78% تليها طريقة الاليزا ويمكن ملاحظة ذلك من الشكل التالي :

الشكل 5:النسبة المئوية للنتائج الموجبة لجميع التقنيات المستعملة في الدراسة

المناقشة

اظهرت نتائج التحري عن جرثومة *C.trachomatis* في العينات قيد الدراسة وبالاعتماد على المسحات المأخوذة من عنق الرحم والمصبوغة بصبغة كمزا، ان عدد النساء المصابات بلغ 13 امرأة وبنسبة (21.6%) سواء كانت الاصابة ظاهرة الاعراض ام لم تكن في حين ان عدد النساء غير المصابات بلغ 47 امرأة وبنسبة (78.3%). اعتمد في تشخيص ذلك على ملاحظة وجود الاجسام الاولية والتي تكون دائرية الشكل الى بيضوية ذات لون بنفسجي غامق موزعة باعداد قليلة داخل الخلايا الطلائية.

تعد الاجسام الاولية احد المميزات المهمة التي تتصف بها هذه الجرثومة لكونها مجبرة العيش داخل الخلايا الحية للكائنات حقيقية النواة لذلك اطلق عليها Intracellular parasite، تتواجد هذه الاجسام داخل فجوات ضمن الخلية وتتضاعف داخل الخلية لكنها تتحول الى الشكل المعدي خارج الخلية [10].

وعلى الرغم من استعمال صبغة كمزا للتحري عن الاجسام الاولية منذ قديم الزمان لكن لا تعد هذه التقنية من التقنيات الدقيقة في الكشف عن هذه الجرثومة وذلك لاحتمالية اختفاء الجرثومة ضمن خلايا الرحم. فضلا عن مدى حساسيتها القليلة اذ تشخص فقط 15% من الكلاميديا المشخصة بطرائق اخرى كالزرع وبذلك اتفقت الدراسة مع دراسة الباحثين Shaw وآخرون [11] و Lanjouw وآخرون [12].

وبما ان الصبغة المباشرة لا تكفي لتشخيص الكلاميديا لذلك اعتمد على الطرائق الاكثر تطورا والمتمثلة بطريقة الزرع في اجنة الدجاج التي تعد من الطرائق المثالية للتشخيص اذ يلاحظ من الجدول 2 زيادة اعداد المصابات وبما ان هذه الجرثومة لا تستطيع النمو إلا داخل الخلايا الحية لذلك فقد تم تنميتها في البيض المخصب [13] واعتمد في تشخيصها على التغيرات المرضية التي تحدثها في الجنين كتشوه وتقزم وتأخر النمو بالاضافة الى موت الجنين بعمر ما بين (3–14) ايام بعد الحقن فضلا عن احداث نزف واحتقان الاوردة المحيطة بالجنين او بكيس المح كما ان مح البيض يتحول إلى سائل خفيف يختلف عن المح الطبيعي بالاضافة الى تواجد الاجسام الاولية في المسحات المأخوذة من المح بعد صبغها بصبغة كمزا وبذلك تكون نتائج الدراسة قد تأكدت مع دراسة الباحث Storze [14]. كما اوضح الباحث Khanna وآخرون[15] ان اكثر من 50% من الاجنة تعاني تآخر في النمو وتقزم مع احداث نزف بالاضافة الى التواء في اصابع القدم مع احداث تشوهات خلقية للجنين، وعلى الرغم من ان طرائق الزرع تكون حساسة جدا الا انها تحتاج الى جهد شديد بالاضافة الى انها مكلفة كما انها تحتاج الى وقت طويل سواء كان الزرع في البيض المخصب ام في المزارع النسيجية فضلا عن صعوبة الحفاظ على حيوية الكائن المجهري خلال النقل او خلال الخزن [16,17].

الطرائق المصلية

اعتمد في تشخيص الكلاميديا على عدد من الطرائق المصلية متمثلة بالطريقة السريعة والمعروفة بطريقة التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع إذ تتحرى هذه الطريقة عن مستضد الكلاميديا في المسحات المأخوذة من عنق الرحم إذ اظهرت نتائج هذه الدراسة ان العينات الموجبة بلغت 3 عينات وبنسبة (5%) وبذلك تنطبق الدراسة مع ما ذكره كل من الباحثين Gibneyوآخرون [18] و Morre وآخرون [19] ، لكنها اختلفت عن دراسة الباحثة Al–Ghurairi [20] ، اذ حصلت على نسب اعلى فيما لم تحصل الباحثة Mammani وآخرون [21] على نتيجة موجبة بهذه الطريقة، وان سبب الاختلاف بين الدراسات قد يعود إلى الاختلاف في طريقة اخذ العينة وعلى الرغم من ان هذا الاختيار يعبر عن تواجد مستضد الكلاميديا في العينة سواءً اكانت حية أو غير حية الا ان نجاح هذا الاختبار يعتمد على عدد الكائن المجهري الموجود في العينة والتي تتأثر بطريقة جمع العينة كما انها تتأثر بعوامل تتعلق بالمريضة مثل العمر تاريخ تواجد الامراض الانتقالية، تواجد الاعراض، كما ان تواجد الكلاميديا يختلف حسب النمط المصلي [16].

في حين اظهرت نتائج هذه الدراسة بالاعتماد على الاختبارات المصلية والمتمثلة باختبار الاليزا والتألق المناعي غير المباشر نسبة (30%) و(35%) على التوالي وقد اتفقت الدراسة مع دراسة Mammani وآخرون [21] التي اجريت في دهوك إذ بلغت 11.3% وبطريقة الاليزا.

يتضح من الشكل (2 و1) ان نسبة الاصابة في النساء اللواتي اظهرت اعراضا سريرية (8.33)(15)(16.66)(21.66) في كل من صبغة كمزا والزرع والاليزا والتألق المناعي على التوالي في حين ان نسبة الاصابة في النساء اللواتي لم يظهرن اعراضا سريرية وبنفس الطرائق السابقة نفسها بلغت (13.33)(10)(13.33)(13.33) على التوالي وبذلك تكون الدراسة متفقة مع دراسة Verkooye وآخرون [22] إذ وجد ان 1.7–10% من النساء لا يظهرن أي اعراض مرضية لتواجد الكلاميديا لكنهم اظهروا فحصا موجبا لتواجدها.

تكمن خطورة الكلاميديا في حالة عدم ظهور الاعراض ولذلك اطلقوا عليها بالمرض الصامت Silent Disease إذ لا يمكن تشخيصها ولا يمكن علاجها مما يؤدي إلى صعود الاصابة إلى الاعلى واحداث تعقدات مرضية كانسداد قناة فالوب واحتمالية حدوث حمل خارج الرحم [10].

معظم حالات الاصابة ظهرت في النساء اللواتي يعانين من افرازات مهبلية والالام في البطن وحمل خارج الرحم وتعد هذه اهم الاعراض التي تظهر عند الاصابة بهذه الجرثومة وبذلك اتفقت مع دراسة الباحثة Mammani وآخرون [21].

معظم النساء اللواتي لم يظهرن اعراضا سريرية واضحة ولديهن اصابة كن ممن يعانين من تكرار الاجهاض بنسبة 5% في كل من صبغة كمزا وتقنية الزرع و8.3% بتقنيتي الاليزا والتألق المناعي غير المباشر اما العقم فقد كانت النسبة 3.3% بصبغة كمزا و5% في كل من تقنية الزرع والاليزا والتألق المناعي غير المباشر . وقد اشارت دراسة Malik وآخرون [23] ان 36.2% من النساء اللواتي لم يظهرن اعراضا كن يعانين من العقم.

اشار الباحث Malanie وآخرون [24] ان 27.7% من النساء اللواتي لا يظهرن اعراض كن ممن يعانين من تكرار الاجهاض وان ظهور هذه النتائج الموجبة تؤكد اهمية استعمال هذه التقنيات المصلية.

وعند مقارنة نسب الاصابة في الفئة العمرية يتضح من الشكل 4 ان اعلى نسبة اصابة كانت بالفئة العمرية 21–30 سنة واقل نسبة في الفئة العمرية 41–50 سنة وبذلك تكون الدراسة متفقة مع دراسة Mammani وآخرون [21]. تحدث الكلاميديا بشكل رئيس في النساء بعمر اقل من 25 سنة وبنسبة اعلى من 30% وخصوصا في النساء النشيطات جنسيا إذ ان الطبقة الطلائية لمنطقة المهبل لغير البالغة تكون عرضة للاصابة [25,26].

اظهرت نتائج الدراسة الحالية بان افضل طريقة للاستعمال هي طريقة التألق المناعي غير المباشرة تلتها طريقة الاليزا ثم الزرع واقلها هي طريقة التشرب المناعي الكروماتوكرافي السريع وبذلك تكون الدراسة متفقة مع دراسة Sweet [27].

وعلى الرغم من ان تقنية الزرع هي افضل الطرائق لانها تؤكد وجود الكلاميديا الحية القابلة للتكاثر الا ان حساسيتها وخصوصيتها تقل عن الطرائق المصلية. كما ان طريقة التألق المناعي اكثر تخصصية في التحري عن الكلاميديا [28]. اذ اظهرت النتائج ان نسبة تواجد الكلاميديا في طريقة التألق المناعي اعلى نسبة من الطرائق الاخرى.

المصادر

1. Smith, I.W. (2010). Chlamydia In Greenwood, R.; Slack, R. and Peether, J. (ed.). Medical Microbiology 5th. Edition, Churchill living stone, London., 361-367.

2.Sachse , k., Bavoil, p.m.,kaltenboectk., B., Stephens . R.S.,Kuo.CC., Rossello _Mora , R., Horn.M., (2015) *Appl Microbiol*., 38(2) : 99_103

3. Zigangirova, N.A.; Rumyatseva, Y.P.; Morgunova, E.Y.; Kapotina, L.N.; Diolenko, L.V.; Kost, E.A.; Koroleva, E.A.; Bashmakov, Y.K. and Petyaev, I.M. (2013).., *Bio. Med*. *Research International*.10: 486- 489

4. Black, C.M. (2013).. *Ameri society of Microbs* .26 : 536 - 541

5. Lanjouw , E ; Oubury , S; Devries . H.J., Stary , A., Radeliffe,K.(2016) . *international Jouranal of STD & AIDs* 27(5) : 333-438

6. Petrovay , F., Balla,E.,Erdosi,T.(2017) *Euro Surveill* 2 ; (22) - (5) 30-45

7. Estam, M. (1998). Chlamydia infection. In Braanwald, E. Fauci As Kasper Dl *et al* (ed.) Harrison of Internal Medicine 15th. Mc Graw Hills medical publishing divison., pp.1075-1082.

8. Brooks, G.F.; Batel, J.S. and Morse, S.A. (2004). *Chlamydia.* Medical Microbiology, 22nd. Lange Medical Books/Ms Graw-Hills,pp.306-314.

9. Cruickshank, R.; Duguid, T.P.; Marmion, B.P. and Swain, R.H. (1975). "Medical Microbiology". Churchill, Livingstone. England.

10.Babinska , I.,Halanova ,M.;Kalinova, Z. ; Cechova,L.;Cislakova,L. and Geckova,A.M.;(2017). *Interntional J. of Enviromental Research and Puplic Health*.(14).1579.

11. Shaw El, Dooley CA, Fischer ER, Scidmore MA and Field KA et al (2000). Mol. Microbial 37: 913- 925.

12.Lanjouw , E. ; Ouburg, S. ; Vries,H. J. ; Stary, A. ; Rdcliffe ,K. and Unemo , M. , (2015) International J. of STD & AIDs, : 1-16

13. Celebi, B.S. & Seyyal, A.K. (2006). Avian Dis., 50:489-499.

14. Storze, J. (1971*).* Chlamydia and Chlamydia induced disease-spring field III inesis. Charles Thomas publisher.

15. Khanna, R.N.S.; Grpta, R.K.P.; Purogit, V.D. and Sadana, J.R. (1987). Int. J. Anw. Sc.; 57(2):121-123.

16. Schachter, J. (1982). Postgraduate Medicine, (72):60-69.

17. Forbes, B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2005) Balley and Scotts Diagnostic Microbiology . 11th.ed. Mosby, Inc. In: Philadelphia, DA. USA. Pp. 572-580.

18. Gibney, L.; Mascaluso, M. and Kirk, K., (2001). Trans. Inf. 77:344-350.

19. Morre SA, Karimi O, Oubury S. (2009). Med Microbial; 55: 140 -153.

20. Al-Ghurairi A.Z. (2005) Thesis .University of Mosul . College of Medicin

21. Mammani, I.M.; Goreal, A.A.; Omer, W.J. and Mansor, S.A. (2012). China Medical Science. (9)(2). pp.112-116.

22. Verkooye, R.P. Peeters, M.F. VonRissoort-vos, J.H.; Van der Meijden, W.I. and Mouton, J.W.; (2002). Int. J. STP. AID. 23-25.

23. Malik, A.; Jain, S.; Hakim, S.; Shukal, I. and Rizvi, M. (2006). Med. Res. (123): pp.770-775.

24. Malanie, R. Joshi, P.S. and Mathur, M.D. (2006). Medical Microbiol. 24. 2 , pp.97-100.

25. Robert, E.; Wlber, J. John, R.; Joan, S. and Richard, S. (2002). National Center for Infectious Disease. (51). (15): RR-15.

26.Ceovic , R. and Jerkovic Gulin , S. (2015) . Infect Drag Resistent .(8) : 39-47

27. Sweet , R. L.(2012) . Dis .Rep.(14):194 -203.

28.Nwokolo , N.C. ; Dragovic , B. ; Patel . S. , (2015) . International Journal of STD & AIDs 2016 , 27(4):251-267.