مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۳۱ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۸ صفحات ۱۰-۷

نقش اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در اورتریت غیر گنوکوکی مردان

محمدتقی اخی: گروه میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: M_T_Akhi@Yahoo.Com
عیوض ابراهیمی: گروه میکروبشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دریافت: ۸۶/۶/۲۸ ، پذیرش: ۸۷/۴/۲۹

چکیده

زمینه و اهداف: مجرای ادرار یکی از نواحی معمول در دستگاه ادراری تناسلی است که بکرات با عوامل مختلف آلوده میگردد. اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم (قبلا بنام مایکوپلاسما ی-T خوانده می شد) عضو خانواده مایکوپلاسما تاسیه بوده و بعلت نداشتن دیواره سلولی و اندازه بسیار کوچک ژنومی در میان باکتری هائی که زندگی آزاد دارند، از توانائی رشد و سنتز محدودی بر خوردار هستند. از زمان کشف به بعد، اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در ایجاد بسیاری از بیماری ها مثل اورتریت غیرگنوکوکی، پروستاتیت، التهاب حشفه، سندرم ریتر و غیره در مردان شرکت کرده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی اتفاق اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مردانی با اورتریت غیر گنوکوکی بوده است.

روش بررسی: دویست بیمار مرد مبتلا به اورتریت و پنجاه نفر مرد سالم به عنوان شاهد تحت بررسی قرار گرفتند. از هر مریض یکبار ترشحات چرکی (۱۸۳ مورد) و یا در بعضی موارد (۱۷ مورد) ادرار تازه جمع آوری گردید. بر روی رسوب ادرار و نیز ترشحات (در مورد گروه کنترل فقط ترشحات اخذ گردید) آزمایشات بررسی میکروسکوپی آمادگی های مرطوب، رنگ آمیزی گرم وگیمسا، کشت بر روی آبگوشت (Pleuro Pneumonia Like Organisms, PPLO) اوره دار، آگار خوندار و مک کانگی انجام گرفت. کشت های اوره مثبت انتخاب شده وبر روی مایکوپلاسما آگار (A8) کشت دوباره تهیه گردید. کلنی های مشکوک بعداز ۲، ۳و ۵ روز انکوباسیون در دمای ۳۷°C توسط روش های استاندارد تعیین هویت شدند.

یافته ها: نایسریا گنوره آ در۵۶ مورد (۲۸٪) و تریکوموناس در۳ مورد (۱/۵٪) نفراز مردان مشاهده گردید. از ۱۴۱ مورد اورتریت غیر گنوکوکی ۲۹ مورد (۲۰/۵۶٪) کشت آبگوشت اوره مثبت داشتند که متعاقبا در کشت های جامد اختصاصی فقط ۲۷ (۱۹/۱۴٪) مورد از آنها رشد کرده وکلنی های مشخص ایجاد کردند که بعدا به عنوان اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم تعیین هویت گردیدند. از گروه کنترل تنها ۳ (۶٪) مورد اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم جدا گردید.

نتیجه گیری: جداسازی ۲۷ مورد (۱۹/۱۴٪) اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از جمعیت مطالعه شده نشان داد که این ارگانیسم دارای شیوع نسبتا بالائی در بیماران با اورتریت غیر گنوکوکی هستند

کلید واژه ها: اورتریت، اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم، نایسریا گنوره

مقدمه

مجرای ادرار یکی از نواحی معمول در دستگاه ادراری تناسلی است که بکرات توسط عوامل گوناگونی مثل باسیل های گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه ها، نایسریا گنوره، کلامیدیا تراکوماتیس، اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و بندرت باکتری های بیهوازی آلوده میگردد. باکتری های اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم یکی از اعضائ خانواده مایکوپلاسماتاسیه ها بوده و کوچکترین موجوداتی هستند که زندگی آزاد دارند. در میان پروکاریوتها به علت نداشتن دیواره سلولی منحصر به فرد بوده و این خاصیت در حقیقت مسئول بسیاری از خواص بیولوژیک آنها مثل عدم رنگ پذیری با رنگ آمیزی گرم، عدم حساسیت به بسیاری از آنتی بیوتیکهای روتین

Archive of SID
www.SID.ir

(مثل بتا لاکتام ها) می باشد(۳-۱). با توجه به گرایش آنها به مخاط، معمولا در سطح خارجی سلولهای دستگاه تنفسی و تناسلی یافت میشوند و در موارد خاص مثل ایمنو ساپرسیون به گردش خون و بافت ها حمله ور میشوند(۴). از هفده گونه جدا شده از انسان و در میان جنس های مایکوپلاسما و اوره آپلاسما سه گونه مهم به نام های اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم، مایکو پلاسما هومونیس و اخیرا مایکو پلاسما جنیتالیوم از دستگاه تناسلی انسان جدا شده اند(۳). وجود اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در انسان که قبلا بنام مایکو پلاسما T- نامیده میشد اولین بار توسط Shepared در سال ۱۹۵۶ تشخیص داده شد(۵). از آن زمان به بعد این ارگانیسم از عفونتهای گوناگون از جمله اورتریت غیر گنوکوکی (۶)، پروستاتیت، التهاب حشفه، اپیدیدیمیت، سندروم ریتر و غیره جدا گردید (۸ ۷). نقش اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم به عنوان عامل غیر باروری هنوز قابل تحقیق بوده و از ۸۰- ۴۰ درصد نمونه های اخذ شده از دهانه رحم زنانی که علائمی نداشته اند اما از نظر جنسی فعال بوده اند جدا گردیده است. در صد ذکر شده در مردان کمی پائین تر می باشد(۹). هدف از این مطالعه ارزیابی اتفاق اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مردانی با اورتریت غیر گنوکوکی بوده است.

مواد و روش ها

دویست بیمار مرد در سنین۱۹ الی ۴۹ با تشخیص بالینی اورتریت و معرفی شده به آزمایشگاه پژوهشکده ابن سینای تهران، و نیز پنجاه مرد سالم به عنوان شاهد از آبان ماه سال ۱۳۸۲ لغایت اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۳انتخاب و با توجه به وضعیت عفونت آنها توسط یکی از سه روش زیر نمونه برداری انجام شد:

الف- برداشت مستقیم با سواب های الیاف ابریشم مصنوعی از ترشحات چرکی زرد رنگ، متعفن مجرا به تعداد ۸۹ نفر (۴۴/۵٪)

ب- برداشت مستقیم از ترشحات بیرنگ صبحگاهی مجرا به تعداد۹۴ نفر (۴۷٪)

ج- جمع آوری اولین قسمت ادرار صبحگاهی در افرادی که امکان نمونه برداری بصورت دو روش فوق وجود نداشت به تعداد ۱۷ نفر (۸/۵٪)

د- درمورد گروه کنترل فقط ترشحات مجرا اخذ گردید.

در موارد ضروری جهت انتقال از محیط کشت استوارت استفاده شد و نمونه های ادرار با دورrpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیده وبر روی رسوب آنها به عنوان نمونه و ترشحات اخذ شده آزمایشات زیر به ترتیب انجام گرفت:

۱- آمادگی مرطوب جهت مشاهده سلولهای

پلی مورفونکلئور ها و نیز تریکوموناس واژینالیس

۲- رنگ آمیزی گرم برای نایسریا گنوره و کاندیدا آلبیکنس وگیمسا برای مشاهده اندامهای داخل سلولی کلامیدیا تراکوماتیس با مشاهده سلولهای پلی مورفونکلئور به تعداد ۴ و یا بیشتر در هر میدان میکروسکوپی با درشت نمائی ۱۰۰۰ تشخیص اورتریت پذیرفته شد(۱۰).

۳- نمونه ها در آگار خوندار، مکانکی آگار و آبگوشت PPLO با اوره (اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم) کشت داده شدند. محیط کشت های مایع را پس از تلقیح بلافاصله خوب بهم زده وسپس آنها را به داخل ml ۲ محیط کشت آبگوشت مشابه با استفاده از فیلترµm ۰/۴۵ صاف کردیم. کلیه کشت ها در دمای۳۷ درجه سانتیگراد در اتمسفری با ۵٪ CO_2 انکوبه گردیدند. در روز های دوم و سوم و نهایتا پنجم کشت ها از نظر رشد بررسی شدند. به محض مشاهده تغییر رنگ در آبگوشت اوره دار کشت جدید در مایکوپلاسما آگار A8 تهیه گردید. رشد باکتری های دیگری که اوره را تجزیه میکنند و احتمالا وجود آنها در مجرا پیش بینی می شود مثل کلبسیلا و پروتئوس با بر رسی محیط کشت مکانکی ونیز در نظر گرفتن مرحله فیلتراسیون منتفی گردید. برای تعیین هویت اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از روشهای استاندارد میکروبشناسی و نیز از رنگ آمیزی های دایفرنسیل Cresyle-fast violet, Giemsa و کلراید منگنز- اوره استفاده گردید(۱۱).

یافته ها

از ۲۰۰ نمونه بدست آمده از بیماران تحت بررسی برای اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مدت یکسال ۵۶ مورد (۲۸٪) به اورتریت گنوکوکی و۳ مورد (۱/۵٪) به اورتریت تریکومونائی مبتلا بودند. در حالیکه ۱۴۱ مورد (۷۰/۵٪) اورتریت غیر گنوکوکی داشتند. از کشت های تهیه شده در محیطهای اوره دار از اورتریت های غیر گنوکوکی ۲۹ نمونه اوره آز مثبت بودند که در کشت مجدد روی محیط های مایکوپلاسما آگار A8 وانکوباسیون ۲، ۳ و ۵ روز و حتی یک هفته رشدی مشاهده نگردیده و در نتیجه این دو مورد در کارهای بعدی از رده خارج شدند. باتوجه به نتایج بدست آمده از تستهای مختلف مثل عبور ازµm ۰/۴۵، تولید اوره آز ،توانائی رشد مطلوب و ایجاد کلنی های بیرنگ و نقط ای شکل در محیط کشت اختصاصی مایکوپلاسما آگار A8 و منظره اشکال پلی مورفیک باکتری ها در رنگ آمیزی گیمسا،توانائی مصرف اوره و رسوب دی اکسید منگنز در اطراف کلنی ها و ایجاد رنگ قهوه ای طلایی و سایر دلایل ۲۷ مورد (۱۹/۱۴٪) جدا شده در میان ۱۴۱ اورتریت غیر گنوکوکی و۳۸/۲۹٪ در کل اورتریت ها به عنوان اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم پذیرفته شد در حالیکه در گروه کنترل تنها ۳ (۶٪) مورد اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم جدا گردید. پس از تقسیم افراد به گروه های سنی با فواصل ۵ سال جوانترین بیمار با ۱۹ سال و مسن ترین با ۴۹ سال تعیین گردیدند. بیشترین تعداد بیماران در گروه های سنی ۳۰- ۲۶ سال و ۳۵-۳۱ سال به ترتیب رتبه های اول و دوم را کسب کردند. همچنین بیشترین نمونه مثبت جداسازی شده نیز به همین گروه ها به ترتیب با ۸ و ۷ مورد مثبت اختصاص داشت.

بحث

باکتری های خانواده مایکوپلاسماتاسیه ساده ترین و کوچکترین میکروارگانیسم هائی هستند که قادرند بخودی خود

Archive of SID

www.SID.ir

تکثیر کرده و بصورت آزاد زندگی نمایند. ویژگی منحصر بفرد این خانواده یعنی فقدان دیواره سلولی باعث پلی مورفیسم شدید در میان این باکتری ها شده است. ژنوم کوچک این باکتری ها باعث میگردد که برای رشد ونمو به محیط های غنی وپیچیده نیازمند باشند(۱).

باکتری اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم یکی از جنسهای مهم این خانواده بوده و بر روی سطوح مخاطی دستگاه های تنفسی، ادراری- تناسلی و سایر ارگانها کلونیزه میگردد. این باکتری ساکن اولیه دستگاه اوروژنیتال بوده و در مردان در قسمت تحتانی دستگاه تناسلی کلونیزه شده و سپس در مخاط مجرا جایگزین میشود(۳). اهمیت بالینی این باکتری در بروز برخی از بیماری ها بعنوان نقش اصلی در برخی دیگر از بیماریها بهمراه و با ارتباط سایر باکتری ها به ویژه کلامیدیا بطور کاملا جدی مطرح است. توانائی چسبیدن به سلولهای محل رشد شرط لازم برای بیماریزائی بسیاری از میکروارگانیسم ها است که این باکتری ها بنحو احسن از این توانائی برخوردار هستند. توانائی و قابلیت چسبندگی این میکروارگانیسم به سلولهای اپتلیال مجرای ادراری- تناسلی، اسپرم و اریتروسیت، آنهارا قادر به ایجاد عفونت در دستگاه ادراری تناسلی انسان نموده است (۳،۱۲). تحقیقات مختلف نشان داده اند که کلونیزه شدن این باکتری در اطفال هنگام عبور از کانال زایمان بوده و در بالغین معمولا از طریق تماس جنسی است که جزء بیماری های آمیزشی محسوب میگردد(۳).

تشخیص باکتریولوژیک این باکتری بمیزان ۳۸/۲۹٪ در کل موارد و نیز به میزان۱۹/۴٪ در میان۱۴۱ اورتریت غیر گنوکوکی بررسی شده در این مطالعه نشان دهنده شیوع بالای این باکتری در جمعیت مورد مطالعه می باشد. در مقایسه این نتایج با برخی مطالعات مشابه دیگر(۱۳) تعداد مبتلایان به این باکتری در بیماران مورد مطالعه کمی بیشتر نشان میدهد که احتمالا استفاده از فیلتر غشائی ۰/۴۵ µm و محیط کشت اختصاصی موثر در جداسازی بوده است.

دو نمونه با وجود مثبت بودن تست اوره آز آنها در محیط کشت آگار اختصاصی هیچگونه رشدی نکرده و ایجاد کلنی ننمودند. بنظر میرسد علت این امر میتواند مصرف آنتی بیوتیک توسط بیمار در روزهای قبل از نمونه گیری بوده و یا عدم تهیه کشت مجدد بموقع آن در ساعات اولیه تغییر رنگ محیط کشت آبگوشت باشد که در چنین شرایطی فاکتورهای سمی و زیان آور باعث عدم رشد آنها در محیط اختصاصی میشود(۱۴). قابلیت انتقال این باکتری ها در مقایسه با سایر باکتری ها بالا است، و انتقال از طریق تماس جنسی بستگی به فاکتورهائی از قبیل جنس، سن، نژاد ووضعیت اقتصادی و در زنان قاعدگی، یائسگی، آبستنی و آناتومی محل نمونه برداری دارد (۳). در یک مطالعه که در آلمان انجام شده نتایج نشان میدهند که اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم بیشتر در افراد جوان با فعالیت جنسی زیاد یافت میشود (۱۵). در مطالعه دیگر در سال ۲۰۰۶ که در ژاپن بر روی یکصد مرد جوان بدون علائم بالینی انجام شده است معلوم شده که جداسازی اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و اوره آپلاسما پاروووم بطور معنی داری با فعلیت جنسی ارتباط داشته است (۱۶) به عبارت دیگر افراد با فعالیت جنسی بالا از در صد باکتری جدا شده بیشتری برخوردار میباشند. این امر با نتایج این بررسی در گروه های سنی بیماران ۳۰-۲۶ ۳۵-۳۱ که بالاترین جواب مثبت را شامل میشود، تطابق دارد.در یک بررسی که معیار های تشخیصی، اپیدمیولوژیک و بیماریزائی اورتریت در مردان مورد مطالعه قرار گرفت، آزمایشهای میکروبیولوژیک نشان داد که این باکتری می تواند در بیماران عامل اصلی بیماری باشد (۱۷). طبق گزارش منتشر شده در سال ۱۹۸۹ از۱۴۰۰ بیمار مرد اورتریتی مورد مطالعه ۳۱/۶٪ عامل نایسریا گنوره واز۱۲/۱٪ اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم جدا گردید(۱۸). باتوجه به تفاوت درمانی این دو ارگانیسم تشخیص سریع وصحیح عامل بیماری در اورتریت مردان و افتراق اتیولوژیک این دو عامل کاملا ضروری است(۲۰،۱۹). در مطالعه دیگر در سال ۱۹۸۹ از۱۸۴بیمار مبتلا به اورتریت غیر گنوکوکی که توسط سوآب اورترال نمونه برداری شد (مشابه روشهای این مطالعه) از۸۶ نفر (۷۳/۴۶٪) باکتری اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم جدا گردید در صورتیکه از گروه شاهد که ۱۵۶ نفر بودند این باکتری فقط از ۴۳ نفر (۲۷/۵۶٪) جدا گردید(۲۱) .با توجه به تفاوت تعداد و در صدهای جدا شده از افراد شاهد و گروه بیماران میتوان نتیجه گیری کرد که در اتیولوژی اورتریت غیر گنوکوکی اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از اهمیت ویژه ای برخوردار است و در حقیقت موید فرضیه این مطالعه مبنی بر نقش اتیولوژیک اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در بروز بیماری اورتریت غیر گنوکوکی مردان می باشد.

نتیجه گیری

جداسازی ۲۷ مورد (۱۹/۱۴٪) اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از جمعیت مطالعه شده نشان داد که این ارگانیسم دارای شیوع نسبتا بالائی در بیماران با اورتریت غیر گنوکوکی هستند

References

1. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Medical Microbiology*. 5th ed. USA, Elsevier Mosby, 2005; PP: 443-447.
2. Willett HP, Mycoplasma. In: Joklik WK. Willett HP, Amos DB, Wilfert CM. *Zinsser Microbiology*. 20th ed. California, Appleton & Lange, 1992; PP: 730-9.
3. Waites KB. Ureaplasma infections. 2007, http://www.emedicine.com/med/topic2340.htm (Accessed 2008).

Archive of SID

www.SID.ir

4. Haier J, Nasralla M, Franco AR, Nicolson GL. Detection of Mycoplasma infections in blood of patients with rheumatoid arthritis. *Reumato 1999;* **38** (6): 504-509.
5. Black FT. Modifications of the growth inhibition test and its application to human T- Mycoplasma. *Microbiol* 1973; **25**(4):528-533.
6. Bakare RA, Oni AA, Umar US, Kehinde AO, Fayemiwo SA, Fasina NA. Ureaplasma urealyticum as a cause of non-gonococcal urethritis: the Ibadan experience. *Niger Postgrad Med J* 2002; **9**(3): 140-145.
7. Ahuja Sunil K**.** Chronic bacterial prostatitis. 2007, http://www.emedicine.com/med/topic3571.htm.(Accessed 2008).
8. Zdrodowska- Stefanow B, Klosowska WM, Ostaszewska-Puchalska I, Bulhak- Koziol V, Kotowicz B. Mycoplasma hominis and Urea plasma urealyticum infections in male urethritis and its complications. *Adv Med Sci* 2006; **51**: 254-257.
9. Ramirez LC, Gil C, Zago I, Yanez A, Giono S. Association of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum with some indicators of nonspecific vaginitis . *Revista latinoamericana de Microbiologia* 2000; **42**(1): 1-6.
10. Dbke KK, Deodhar LL, Gogate AA. Incidence of Ureaplasma urealyticum in non-gonococcal urethritis. *J Postgrad Med* 1986; **32**(2): 1-5.
11. Forbes BA, Sahm D, Fand Weissfeld AS. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology.* 12th ed. China, Mosby Elsevier 2007; PP: 525-532.
12. Reichart M, Levi H, Kahane I , Bartoor B. Dual energy metabolism dependent effect of Ureaplasma urealyticum infection on sperm activity. *J Androl* 2001; **22**(3): 404-412.
13. Teng K, Li M, Yu W, Li H, Shen D, Liu D. Comparison of PCR with culture for detection of Ureaplasma urealyticum in clinical samples from patients with urogenital infections. *J Clin Microbiol* 1994; **32**(9): 2232-2234.
14. Crawshaw SC, Stecker DI, Sugrue DL, Haran MV. Evaluation of significance of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in female genital infection- a retrospective case note study. *Int J STD AIDS* 1990; **1**(3):191-194.
15. Werni R, Mardh PA. Genital Mycoplasma infections. *Z Hautkr* 1985; **60**(18): 1486-1505.
16. Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, Ichihara K, Maeda T, Kunishima Y, et al. Detection of Mycoplasma genitalium, Ureaplasma urealyticum and Ureaplasma parvum DNAs in urine from asymptomatic healthy young Japanese men. *J Infect Chemother* 2006; **12**(5): 269-271.
17. Vul'fovich Ivy, Rakovskaia IV, Gamova NA, Goncharova SA, Gorina LG, Dzhumigo AP, et al**.** The laboratory diagnosis of Mycoplasmosis and Ureaplasmosis in urological and Gynecological patients. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol* 1995; **5**: 97-100.
18. Deodhar LL, Sonawala M, Gogate A. Co-existence of Niesseria gonorrhoeae and reaplasma urealyticum in male urethra. *JPGM* 1989; **35**(3): 144-160.
19. Hunter JM, Smith IW, Peutherer JF, Maculay A, Tuach S, Young H. Chlamydia trochomatis and Ureaplasma urealyticum in men attending a sexually transmitted disease clinic. *Br J Vener Dis* 1981; **57**(2):130-133.
20. Echahidi F, Muyldermans G, Lauwers S, Naessens A. Development of monoclonal antibodies against Ureaplasma urealyticum serotypes and their use for serotyping clinical isolates. *Clin Diagn Lab Immunol 2000*; **7**(4):563-567.
21. Matsuda T, Takeuchi H, Yoshida O. Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in male urethritis. *Hinyokika Kiyo* 1991; **37**(10): 1293-1297.

Archive of SID

www.SID.ir