Archive of SID

مورفولوژی گلبول‌های قرمز در عفونت ادراری فوقانی و تحتانی

مجید میرصدرایی
متخصص داخلی و فوق تخصص ریه، دانشیار گروه داخلی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

محمد رضا خاکزاد
فوق لیسانس ایمونولوژی، مربی دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

دکتر بهیه ظریف ذاکریان
پاتولوژیست، استادیار بخش پاتولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

دکتر علی مقیمی
فیزیولوژیست، دانشیار دانشگاه فردوسی مشهد

امید شریعتمداری
کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی، دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد

مولف مسئول: دکتر مجید میرصدرایی
آدرس: مشهد، خیابان آزادی، دانشکده پزشکی دکتر شاهین‌فر
تلفن: ۰۹۱۵۱۱۱۵۸۶۰
نمابر: ۸۸۱۶۸۶۵-۰۵۱۱
پست الکترونیک:
majidmirsadraee@yahoo.com

تاریخ وصول: ۱۳۸۸/۴/۱
تاریخ تایید: ۱۳۸/۷/۲

مقدمه
عفونت ادراری از جمله بیماری‌های قابل درمان است. درمان عفونت ادراری فوقانی از لحاظ طول درمان و نوع دارو با عفونت ادراری تحتانی فرق می‌کند. هنوز برای تشخیص نوع عفونت فوقانی و تحتانی روش تشخیصی دقیق و غیرتهاجمی ابداع نشده است. از مرفولوژی گلبول قرمز ادرار برای افتراق بیماری‌های پارانشیم کلیه از مجاری ادرار به خوبی استفاده شده است.

هدف
تعیین صحت تشخیصی مورفولوژی گلبول قرمز ادراری برا ی افتراق بین عفونت ادراری فوقانی و تحتانی.

مواد و روش‌ها
در این مطالعه از ۲۵ موش (Rat) نر یا ماده جهت ایجاد عفونت ادراری استفاده شد. جهت ایجاد عفونت از محلولی به میزان ۰/۵ سی‌سی از محلول حاوی 10^4 باکتری در سی‌سی از ایکولای[2] انسانی کشت شده در شب قبل از انجام تلقیح استفاده شده است. جهت پیلونفریت تلقیح در کالیس یک کلیه و جهت سیستیت تزریق در مثانه‌ی موش انجام گرفت. سپس موش ۴۸ ساعت تحت نظر گرفته شد. در پایان این مدت موش بیهوش گردید و شکم باز شده وادرار با سرنگ انسولین از داخل مثانه کشیده شد. در مورد ایجاد عفونت ادراری کشت مثبت ادرار با کلنی کانت بیشتر از 10^3 مثبت تلقی می‌شد. تعیین مرفولوژی گلبول قرمز به وسیله‌ی اسمیر مستقیم ادرار بود. سپس کلیه و مثانه رزکسیون شد و جهت بررسی پاتولوژی تعیین سیستیت یا پیلونفریت ارسال گردید.

نتایج
از ۲۵ موش در آزمایش وارد شده ۸ موش دچار عفو نت ادراری نشده (کلنی کانت کمتر از 10^3) و از مطالعه خارج شدند. تزریق داخل کلیه در ۸۱ درصد (۹/۱۱) و تزریق در مثانه در ۵۷ درصد (۸/۱۴) منجر به عفونت شد. از این تعداد در موش‌های کشت مثبت ۱۱ مورد پیلو نفر یت و۴ مورد سیستیت در بررسی پاتولوژی اثبات شد. در نمونه‌های با کشت مثبت RBC[1] دیسمورفیک در ۹ مورد (۵۲٪) و ایزومورفیک در ۸ مورد (۴۸٪) دیده شد. میانگین و انحراف معیار RBC دیسمورفیک در مورد عفونت فوقانی و تحتانی به ترتیب ۳۴ ± ۳۵ درصد و۴۳ ± ۴۴ درصد بوده است که اختلاف آماری نداشت (P=۰/۲۵، t=۰/۵۵). RBC دیسمورفیک بالای ۱۷ درصد در ۳۴ درصد (۵/۱۵) در عفونت فوقانی و ۱۲ درصد (۲/۱۵) در عفونت تحتانی دیده شد. هم‌چنین RBC ایزومورفیک بالای ۱۷ درصد در ۳۷ درصد (۶/۱۵) در عفونت فوقانی و ۱۲ درصد (۲/۱۵) در عفونت تحتانی دیده شد که هیچ گونه ارتباط معنی‌داری بین محل عفونت ادراری و مورفولوژیRBC وجود نداشت(x^2=۰/۰۴ ،P=۰/۶۳).

نتیجه‌گیری
مورفولوژی گلبول قرمز (دیسمورفیک و ایزومورفیک) برای تعیین محل عفونت ادراری روش مناسبی نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی
Pyelonephritis, Cystitis, Urinary tract infection, Dysmorphic RBC, Accanthocyte

[1]Red Blood Cell (RBC)
[2]E Coli

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

عفونت ادراری بر اساس آزمایش کامل ادرار و کشت تشخیص داده می‌شود (۱). عفونت ادراری به لحاظ سیر بالینی عوارض و درمان به دو دسته عفونت ادراری فوقانی (پیلونفریت) و تحتانی (سیستیت) تقسیم می‌شود (۲). آزمایشات پاراکلینیکی بسیاری برای افتراق این دو بیماری عرضه شده است که استاندارد طلایی آن آسپیراسیون پرکوتانه از کلیه است که انوازیو محسوب می‌شود و جای خالی یک روش دقیق ولی غیر انوازیو احساس می‌شود.

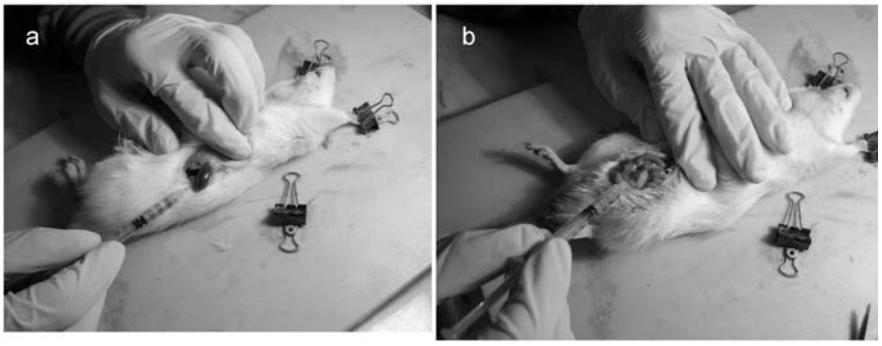
مورفولوژی گلبول‌های قرمز برای تعیین منشا بیماری در بیماری‌های همراه با هماچوری در کلیه یا مجاری ادرار استفاده شده است (۳). گلبول‌های قرمز که از مجاری ادرار منشا می‌گیرد دارای شکل طبیعی (ایزومرفیک) و گلبول‌های قرمز با منشا گلومرول‌ها و توبول‌های جذب کننده با سایز کوچک و کناره‌ی کنگره‌دار (دیسمورفیک) (۴).

با توجه به این مسئله این فرضیه مطرح شد که اگر در عفونت ادراری هماچوری ایجاد شد می‌تواند با گلبول قرمز دیسمورفیک در پیلونفریت و گلبول قرمز ایزومرفیک در سیستیت همراه باشد. لذا با بررسی و تعیین مورفولوژی گلبول قرمز می‌توان محل استقرار عفونت را یافت. این آزمایش فواید زیادی دارد زیرا سریع، ارزان بدون تکنولوژی پیچیده و غیرتهاجمی است.

هدف از این تحقیق تعیین مورفولوژی RBC در عفونت ادراری جهت تعیین حساسیت و ویژگی مورفولوژی RBC برای تعیین محل عفونت ادراری بوده است.

روش کار

در این مطالعه از ۲۵ موش Rat نر یا ماده جهت ایجاد عفونت ادراری استفاده شد. جهت کاهش استرس موش کمی با آن بازی شده و سپس جهت تزریق بدون درد موش با داروی بیهوشی کتامین بیهوش شده و سپس تلقیح انجام شده است. ایجاد عفونت ادراری: جهت ایجاد عفونت از محلولی به میزان ۰/۵ سی‌سی از محلول حاوی ۱۰ باکتری در سی‌سی از E coli انسانی کشت شده، در شب قبل از انجام تلقیح استفاده شده است (۴). جهت پیلونفریت تلقیح در کالیس یک کلیه و جهت سیستیت تزریق در مثانه موش استفاده است (تصویر ۱). سپس محل انسیزیون بسته شده و به مدت ۴۸ ساعت موش‌ها تحت نظر گرفته شدند.



تصویر ۱: طرز القای باکتری در کلیه (a) و مثانه (b) موش آزمایشگاهی جهت ایجاد عفونت ادراری

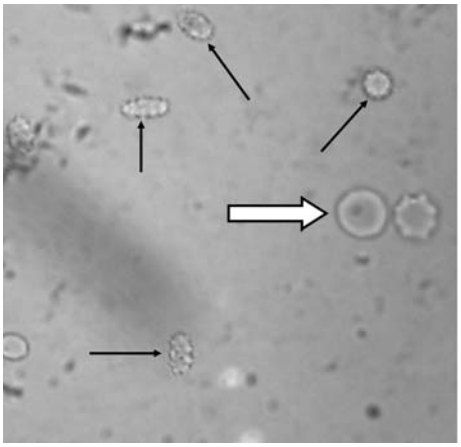
نمونه‌برداری: پس از این مدت موش مجدد مورد بررسی عوارض عفونت ادراری قرار گرفت. ابتدا باید عفونت ادراری ثابت می‌شد که جهت افزایش ادرار موش در مثانه از روش تزریق داخل پریتوئن لازیکس به میزان ۲ سی‌سی از آمپول رقیق شده ۲۰ میلی‌گرمی استفاده شده است.

پس از مدت ۵-۳ دقیقه به روش بالا موش بیهوش شده و شکم باز شده و ادرار با سرنگ انسولین از داخل مثانه کشیده شده است. در مورد ایجاد عفونت ادراری در موش کشت مثبت ادرار با کلنی کانت بیشتر از 10^3 مثبت تلقی می‌شده است (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

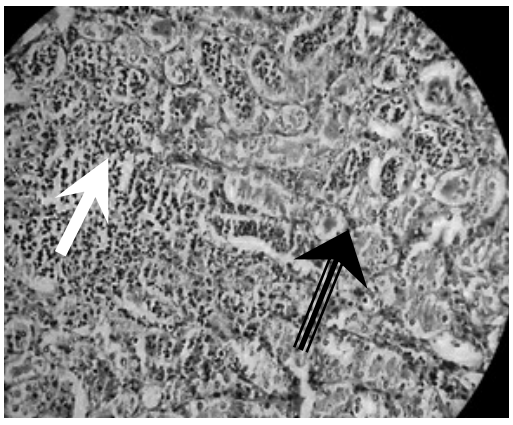
سپس کلیه و مثانه‌ها رزکسیون شده است و جهت بررسی پاتولوژی و تعیین سیستیت یا پیلونفریت ارسال شده است. نمونه‌ی ادرار جهت اسمیر مستقیم از نظر باکتری، RBC وWBC (مورفولوژی و بررسی سل کانتر از نظر تعداد RDW-MCV-RBC-WBC) ارسال شد (تصویر ۲).



تصویر۲: مورفولوژی گلبول قرمز در ادرار (فلش کوچک دیسمورفیک و فلش بزرگ ایزومورفیک)

پس از گرفتن نمونه‌ی ادرار رزکسیون هر دو کلیه جهت بررسی علایم پیلونفریت انجام شده است. در نمای آسیب‌شناسی معیارهای زیر برای تعیین پیلونفریت در نظر بوده است: ۱- انفیلترای نوترفیلی در انترستیس ۲- WBC Cast در توبول‌ها ۳- تخریب بافتی و میکروآبسس ۴- وازودیلاتاسیون و ادم بافتی (تصویر۳).

چنان‌چه کلیه طبیعی باشد موش دارای سیستیت و چنان‌چه علایم التهاب نوتروفیلی در تحت مخاط مثانه وجود داشت به نفع تایید تشخیصی سیستیت بوده است.



تصویر۳: انفیلترای نوتروفیلی (فلش سفید) در میان توبول‌های کلیوی (فلش سیاه) به نفع پیلونفریت

بررسی مورفولوژی گلبول قرمز در آزمایشگاه: تعیینRBC دیسمورفیک بر اساس دید مستقیم زیر میکروسکوپ یا MCV کمتر از ۵۰ در سل کانتر بوده است و چون در فرضیه‌ی ما بیمار با سیستیت باید تماما دارای RBC ایزومور فیک باشد. نمونه‌ی حاوی RBC دیسمورفیک بیش از ۱۷ درصد کلا به عنوان دیسمورفیک تلقی شده است (۵).

بررسی‌های آماری: بررسی آماری با استفاده از مجذور خی همراه تعیین خطر نسبی، حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی برای مورفولوژی RBC در تعیین نوع عفونت ادراری فوقانی و تحتانی بوده است. ضریب ۵ درصد یا کمتر برای این مطالعه مورد قبول واقع شده است.

نتایج

در این طرح تعداد ۲۵ موش در آزمایش وارد شدند از این تعداد ۸ موش دچار عفونت ادراری نشده (کلنی کانت کمتر از 10^3) و از مطالعه خارج شدند. تزریق داخل کلیه در۸۱ درصد (۹/۱۱) و تزریق در مثانه در ۵۷ درصد (۸/۱۴) منجر به عفونت شد که در مورد با تزریق در مثانه پیلونفریت دیده شد (جدول ۱).

جدول۱: اختلاف تزریق در مثانه وکلیه در ایجاد عفونت ادراری کشت مثبت

	تزریق در مثانه	تزریق در کلیه
درصد کشت مثبت	۸/۱۴ (٪۵۷)	۹/۱۱ (٪۸۱)
درصد کشت منفی	۶/۱۴ (٪۴۳)	۲/۱۱ (٪۱۹)

همان‌طور که در جدول (۱) مشاهده می‌شود تزریق در مثانه به طور قابل توجهی کمتر از تزریق در کلیه، موفق در ایجاد عفونت در محل خود بوده و مثانه بیشتر توانسته در مقابل عفونت مقاومت کند (P=۰/۰۰۰۲، χ^2=۱۳/۴۶).

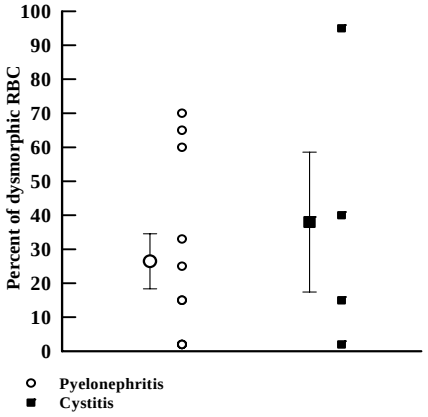
در بررسی آسیب‌شناسی کلیه‌ها در۲۳ مورد قابل استفاده بود و نمونه‌ی ۲ مورد قابل بررسی نبود. در ۱۴ مورد علایم پیلونفریت مشاهده شده که در ۳ مورد آن کشت مثبت نبوده است. ۱ مورد سیستیت داشت ولی پیلونفریت نداشت و کشت آن نیز منفی بود و بقیه‌ی بررسی کلیه، از نظر آسیب‌شناسی

www.SID.ir

Archive of SID

طبیعی بود که در این مورد اگر کشت مثبت بوده است سیستیت تلقی شده‌اند (۴ مورد) (lower UTI). به این ترتیب در موش‌های کشت مثبت ۱۱ مورد پیلونفریت و ۴ مورد سیستیت بوده است. میانگین و انحراف معیار تعداد WBC در ادرار per ml (۹۳۸± ۴۷۳) بوده است.

مرفولوژی گلبول قرمز: تمام نمونه‌ها در ادرار RBC داشتند. میانگین و انحراف معیار RBC ۶۱۸±۴۹۷ در سی‌سی بود. در نمونه‌های با کشت مثبت RBC دیسمورفیک در ۷ مورد (۴۸٪) و ایزومورفیک در ۸ مورد (۵۲٪) دیده شد. میانگین و انحراف معیار درصد RBC دیسمورفیک در مورد عفونت فوقانی و تحتانی به ترتیب (۳۴٪± ۳۵) و ۴۳٪± ۴۴ بوده است که اختلاف آماری نداشت (P=۰/۲۵، t=۰/۵۵) (نمودار ۱).



نمودار ۱: پراکندگی میزان RBC دیسمورفیک در موارد مختلف پیلونفریت وسیستیت

RBC دیسمورفیک بالای ۱۷درصد در ۳۴ درصد (۵/۱۵) در عفونت فوقانی و ۱۲ درصد (۲/۱۵) در عفونت تحتانی دیده شد. هم‌چنین RBC ایزومورفیک بالای ۱۷درصد در ۳۷ درصد (۶/۱۵) در عفونت فوقانی و ۱۲درصد (۲/۱۵) در عفونت تحتانی دیده شد (جدول ۲) که هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین محل عفونت ادراری و مرفولوژی RBC وجود نداشت (تست دقیق فیشر P=۰/۶۳، x^2=۰/۰۴).

جدول ۲: مورفولوژی گلبول‌های قرمز بر حسب محل عفونت ادراری

	عفونت ادراری تحتانی	عفونت ادراری فوقانی
ایزومورفیک	۲	۵
دیسمورفیک	۲	۶

جدول (۳) حساسیت و ویژگی مورفولوژی گلبول قرمز در تشخیص محل عفونت ادراری را نشان می‌دهد. بهترین نتیجه‌ی حاصل شده آزمون اخباری مثبت برای RBC دیسمورفیک برای عفونت تحتانی ۷۱ درصد و آزمون اخباری منفی در ۷۵ درصد بوده است.

جدول ۳: حساسیت، ویژگی، ارزش اخباری مثبت و منفی مورفولوژی گلبول‌های قرمز در عفونت ادراری

	عفونت ادراری تحتانی	عفونت ادراری فوقانی
حساسیت	٪۵۰	٪۴۵
ویژگی	٪۵۴	٪۵۰
ارزش اخباری مثبت	٪۲۸	٪۷۱
ارزش اخباری منفی	٪۷۵	٪۲۵

بحث

برای تشخیص گلبول قرمز دیسمورفیک در ادرار از روش‌های متنوعی هم‌چون میکروسکوپ فازکنتراست، شمارش‌گر سلولی خودکار (automated cell counter) استفاده شده است (۷،۶). در حال حاضر از میکروسکپ نوری معمولی استفاده می‌شود که موفقیت‌آمیز بوده است. مرفولوژی گلبول قرمز در افتراق بین بیماری‌های کلیه و مجاری ادرار استفاده شده که روش مورد استفاده در این مطالعه بوده است (۸) زیرا حجم ادرار جمع‌آوری شده بسیار کم بوده و برای کشیدن لام مستقیم مناسب می‌باشد. مرفولوژی گلبول‌های قرمز در افتراق بیماری‌های پارانشیم کلیه (معروف به فوقانی) و سیستم جمع‌آوری ادرار (معروف به تحتانی) بسیار موفق بوده است و در مطالعه فیشر بیشتر از ۱۷ درصد RBC دیسمورفیک به عنوان حد مورد نیاز برای تشخیص دیسمورفیک (آکانتوسیت) تعیین شد (۵). ولی در یک مطالعه که به وسیله‌ی شیریچی انجام شده است تمام بیماری‌های کلیه و مجاری ادرار به وسیله‌ی این معیار افتراق داده شد و فقط در مورد عفونت ادراری نتایج متناقض حاصل شد (۹).

در بررسی کنونی نیز مشخص شد RBC دیسمورفیک مخصوص عفونت پیلونفریت نبوده است. علت‌هایی که برای این مسئله می‌توان شمرد عبارتند از: ۱- حجم نمونه‌ی کم

www.SID.ir

Archive of SID

۲- تاثیر اختلال تغلیظ ادرار در زمان پیلونفریت در تولید RBC دیسمورفیک. Kitamoto وGoldwasser نشان داده‌اند که اسمولاریته ادرار باعث تغییر مرفولوژی RBC می‌شود (۱۰،۱۱). این محققین نشان دادند وقتی ادرار ایزوتونیک می‌شود RBC دیسمورفیک که در کلیه تولید شده است تبدیل به ایزومورفیک می‌شود. در پیلونفریت نیز به علت التهاب توبول‌ها قدرت تغلیظ ادرار از بین می‌رود و به این علت ادرار ایزوتونیک تولید می‌شود. این ادرار ایزوتونیک RBC دیسمورفیک را به ایزوتونیک تبدیل می‌کند. به این علت در تحقیق ما شیوع RBC ایزومورفیک در پیلونفریت بیشتر از سیستیت بود.

نتیجه‌گیری

به طور کلی از مطالعه‌ی فوق می‌توان نتیجه گرفت از مورفولوژی RBC نمی‌توان برای افتراق عفونت فوقانی از تحتانی استفاده کرد.

پیشنهادهایی که برای بهبود روش می‌توان داد عبارتند از: ۱- استفاده از حجم نمونه‌ی بالاتر به خصوص در مورد سیستیت ۲- انجام مطالعه در انسان به علت حجم بالای ادرار و امکان تعیین جرم‌حجمی ۳- تغییر معیار تشخیصی به این نحو که در افراد با جرم حجمی بالاتر از ۱۰۱۶ گلبول قرمز ایزومورفیک به عنوان پیلونفریت در نظر گرفته شود.

یافته‌ی نوین	کاربرد بالینی
مورفولوژی گلبول قرمز در اسمیر مستقیم ادرار موش آزمایشگاهی نمی‌تواند جهت افتراق عفونت‌های ادراری فوقانی از تحتانی تشخیصی باشد که می‌تواند به علت ایزوتون بودن ادرار در حین عفونت باشد.	تغییر معیار تشخیصی در پیلونفریت ب این معنی که در جرم حجمی بالای ۱۰۱۶ گلبوا ایزومرفیک به عنوان پیلونفریت در نظر گرفته شود .

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. Hooton TM, Stamm WE. diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection. Infct Dis Clin North Am 1997; 11: 551-63.

2. Stamm WE, Hooton TM. Management of urinary tract infection in adults. N Eng J Med 1993; 329:1322-31.

3. Van Iseghem P, Haveglustaine D, Bollens W. Urinary erythrocyte morphology in acute glomerulonephritis. BMJ 1983; 287:1183-7.

4. Fairley K, Birch DF: Hematuria: A simple method for identifying glomerular bleeding. Kidney Int 1982; 21:105-8.

5. Fischereder M. Hematuria and nephritis sediments; MMW Fortschr med 2004; 146:35-6.

6. Sayer J, McCarthey MP, Schmidt J. Identification and significance of dysmorphic versus isomorphic hematuria. Urol 1990; 143: 545-8.

7. De Castacker MP, Hall J, Basterfield S. Localisation of hematuria by rec cell analysis and phase contrast microscopy; Nephron 1989; 52:170-3.

8. Hwssen J, Koene RA, Hibrands LB. The fixed urinary sediment, a simple and useful diagnostic tool in patients with hematuria. Neth J Med 2004; 62:4-9.

9. Shichiri M, Hosoda K, Nishio Y et al. red cell volume distribution in diagnosis of glomerular and non-glomerular hematuria. lancet 1988; I: 908-11.

10. Kitamoto Y, Yide C, tomita M. The mechanism of glomerular dysmorphic red cell formation in the kidney; Tohoku J Exp Med 1992; 167:93-105.

11. Goldwasser P, Antignani A, Mittman N. Urinary red cell size: diagnostic value and determinants . Am J Nephrol 1990; 10:148-56.

www.SID.ir