گزارش کوتاه

مقایسه دو روش ماساژ پروستات و نمونه قطرات اولیه ادرار در جداسازی مایکوپلاسماهومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مجاری ادراری

کیومرث قاضی سعیدی
استاد، گروه میکروب شناسی و ایمونولوژی
دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گرگان

فرحدخت فاطمی نسب
دانشیار، گروه ایمونولوژی دانشکده پزشکی
دانشگاه علوم پزشکی ایران

شیده وطنی
کارشناس ارشد میکروب شناسی ،گروه
پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم
پزشکی تهران

یاسمن عظیمی
دکتر داروساز ، گروه پاتوبیولوژی دانشکده
بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

سپیده بخشنده نصرت
استادیار، زنان دانشگاه علوم پزشکی گرگان

مریم محمدی
کارشناس ارشد میکروب شناسی ،گروه
پاتوبیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم
پزشکی تهران

نویسنده مسئول: کیومرث قاضی سعیدی
تلفن: **۰۹۱۲۳۰۲۹۱۳۹**
پست الکترونیک:
Kiumarsghazisaidi@yahoo.com
آدرس: گرگان دانشکده پزشکی دانشگاه
علوم پزشکی گرگان ، گروه میکروب شناسی

وصول مقاله: ۸۷/۱/۳۱
اصلاح نهایی:۸۷/۵/۱۶
پذیرش مقاله: ۸۷/۶/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: *اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم یکی از مهمترین عوامل اورتریت غیرگنوکوکی (NGU) و اورتریت غیراختصاصی(NSU) درمردان می باشد. مایکوپلاسما هومینیس نیز در ایجاد NGU و NSU نقش دارد. هدف از اجرای این مطالعه مقایسه جداسازی مایکوپلاسماهومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مجاری ادراری مردان مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی واورتریت غیراختصاصی با دو روش ماساژ پروستات و نمونه قطرات اولیه ادرارمی باشد.*

روش بررسی : *نمونه ها از ۷۵ بیمار به مدت یک سال (۸۳-۸۴) پس از ماساژ پروستات و قطرات اولیه ادرار به دست آمده و با تشخیص پزشک برای بررسی اورتریتهای غیرگنوکوکی به بخش باکتری شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال شد و در آنجا با استفاده از روش کشت بررسی شد.*

یافته ها : *از ۷۵ نمونه ترشحات پروستات، ۱۹ مورد (۲۵/۳٪) از نظر آلودگی با اوره آپلاسما و ۱۱ مورد (۱۴/۶٪) از نظر آلودگی با مایکوپلاسما مثبت شدند.همچنین ارگانیسمهای جداشده از ۷۵ نمونه قطرات اولیه ادرارشامل ۱۷ مورد (۲۲/۶٪) اوره آپلاسما و ۹ مورد (۱۲٪) مایکوپلاسما بود .*

نتیجه گیری : *باتوجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق در صورت عدم امکان گرفتن نمونه ترشحات مجرا در مردان، می توان نمونه قطرات اولیه ادرار را برای تشخیص ارگانیسمهای مایکوپلاسما و اوره آپلاسما در بیماران مرد مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی و اورتریت غیراختصاصی، جایگزین ترشحات مجرا به دست آمده از ماساژ پروستات نمود.*

واژه ها کلیدی *: مایکوپلاسما هومینیس ، اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم، اورتریت غیرگنوکوکی ، اورتریت غیراختصاصی، ماساژ پروستات، قطرات اولیه ادرار*

مقدمه

اورتریت التهاب مجرای ادراری است که اغلب از طریق تماس جنسی منتقل شده و براساس وجود یا عدم وجود نایسریا گنوره به دو گروه اورتریت گنوکوکی و غیر گنوکوکی(NGU) [Non gonococcal urethritis] تقسیم می شود. در NGU عفونت به کلامیدیا تراکوماتیس (از ۳۰ تا ۴۰٪ مردان مبتلا به NGU جدا می شود) و یا به سایر ارگانیسمهای بیماریزا از جمله اوره آپلاسما , مایکوپلاسماها و تریکوموناس واژینالیس نسبت داده می شود (۱, ۲).

اوره آپلاسما اوره آ لیتیکوم یکی از عوامل اصلی اورتریت غیرگنوکوکی واورتریت غیراختصاصی(NSU) specific [Non urethritis] در مردان بوده و از ۱۵ تا ۲۵٪ این موارد جدا می گردد (۳). این ارگانیسم همچنین در ارتباط با اپیدیدیمیت , پروستاتیت و آرتریت اکتسابی از طریق تماس جنسی (سندرم رایتر) می باشد (۴, ۵) . مایکوپلاسماهومینیس نیز در ایجاد NGU نقش دارد(۲, ۶).

عفونت اورتریت در صورت تشخیص و درمان به موقع به آسانی ریشه کن می گردد، اما عدم تشخیص و درمان به موقع آن گاهی منجر به اختلالات باروری می گردد(۲).

به منظور دسترسی به تشخیص مناسب استفاده از روش مناسب تشخیص و نمونهٔ مناسب ضروری است. برای جدا کردن مایکوپلاسما و اوره آپلاسما از دستگاه ادراری _ تناسلی مردان معمولا از خراش پیشابراه و سوآبهای پیشابراه بعد از ماساژ پروستات استفاده می شود، اما معمولا استفاده از این روشها گروهی از بیماران را دچار ناراحتی و اضطراب می کند(۷). هدف از این مطالعه مقایسه جداسازی مایکوپلاسماهومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مجاری ادراری مردان مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی واورتریت غیراختصاصی با دو روش ماساژ پروستات و نمونه قطرات اولیه ادرار است.

روش بررسی

این مطالعه برروی بیماران مرد که با تشخیص و درخواست پزشک برای بررسی مایکوپلاسما هومینیس و اوره آپلاسما ا وره آلیتیکوم و با علائم بالینی اورتریتهای غیرگنوکوکی و اورتریت غیراختصاصی به مدت یک سال(۸۳ – ۸۴) به بخش باکتری شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران مراجعه کرده بودند(۷۵ نفر)صورت گرفت.

برای آزمایش ابتدا از ۱۰- ۱۵cc قسمت اول ادرار بیمار (FVU) [First Voided Urine] نمونه گرفته شد، در مرحله بعد پس از ماساژ پروستات ، از ترشحات مجرا نمونه تهیه گردید. نمونه های ادرار به دست آمده سانتریفوژ شده و از رسوب آنها استفاده شد.در مورد ترشحات پروستات نمونه به طور مستقیم به محیطها منتقل می شد . در مورد نمونه هر بیمار ، چند قطره از ترشحات پروستات و رسوب قسمت اول ادرار (FVU) به محیط ترانسپورت PPLO Broth منتقل شد.

به منظور جداسازی اوره آپلاسما اوره آ لیتیکوم , ۱ml از محیط ترانسپورت PPLO را از فیلتر ۰/۴۵ میکرون عبور داده ، به محیط مایع اوره که در شیشه های درپیچ دار تقسیم شده بود اضافه کردیم .شیشه های درپیچ دار را در حرارت $37^{o}c$ در Candle Jar قرار داده و هر روز لوله ها را به لحاظ تغییر رنگ و ایجاد رنگ صورتی مایل به ارغوانی بدون وجود کدورت مورد بررسی قرار دادیم . برای اوره آپلاسما اوره آ لیتیکوم در طی حداکثر ۳ روز اگر تغییر رنگی در محیط ایجاد می شد نمونه مثبت در نظر گرفته شده و پاساژ آنها به محیطهای کشت تازه صورت می گرفت .۰/۱ ml از این محیط با سرنگ استریل به محیط جامد اوره منتقل شده سپس پلیتها در Candle Jar و در انکوباتور $37^{o}c$ قرار می گرفت . پس از ۴۸ تا ۷۲ساعت بررسی می شد و در صورت عدم رشد تا یک هفته نگهداری می شد و در صورت رشد , کلنیهای کوچک برسطح آگار با درشت نمایی ۱۰ x میکروسکوپ نوری و لوپ مورد بررسی قرار می گرفت. برای جداسازی مایکوپلاسما هومینیس به همین ترتیب عمل کرده اما نمونه به محیط آرژنین مایع تلقیح می شد و در انکوباتور $37^{o}c$ به مدت ۷ روز نگهداری می گردید. در صورتی که رنگ صورتی مایل به ارغوانی بدون کدورت مشاهده می گردید، نتیجه از نظر وجود مایکوپلاسما هومینیس مثبت بوده و ۰/۱ml از محیط مایع به محیط جامد آرژنین دار منتقل و یک هفته در انکوباتور نگهداری و ظهور کلنی بررسی می شد (۸).

حساسیت و ویژگی روش قطره اول نسبت به روش ماساژ مورد محاسبه قرار گرفت و به وسیله ضرایب توافق phi و کرامرنیز، میزان تطابق این دو روش محاسبه شد. درکلیه آزمونها سطح معنی داری ۰/۰۵ لحاظ شد.

یافته ها

در ۷۵ بیمار نمونه ترشحات پروستات از نظر وجود ارگانیسمهای اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و مایکوپلاسماهومینیس بررسی شدند. ۱۹ مورد (۲۵/۳٪) از نظر آلودگی با اوره آپلاسماو ۱۱ مورد (۱۴/۶٪) , از نظر آلودگی با مایکوپلاسما مثبت شدند.

همچنین ارگانیسمهای جداشده از ۷۵ نمونه قطرات اولیه ادرارشامل ۱۷ مورد (۲۲/۶٪) اوره آپلاسما و ۹ مورد (۱۲٪) مایکوپلاسما بود (جدول۱)

تمام مواردی که کشت میکو پلاسما و اور پلاسما در قطرات اولیه ادرار مثبت بود، در کشت ترشحات ماساژ پروستات نیز مثبت بود ولی ۲ مورد از موارد کشت اورپلاسما و ۲ موردی که کشت میکو پلاسما هومینیس در ماساژ پروستات مثبت بود، در قطرات اولیه ادرار کشت منفی شد.

بنابراین ضریب انطباق phi و کرامر که بیان کننده انطباق نتایج دو تست می باشد برای اوره پلاسما برابر ۰/۹۲۹ (۱ p<۰/۰۰)و برای میکرپلاسما هومینیس برابر۰/۸۹۱ (۱ p<۰/۰۰)می باشد.

جدول۱ : توزیع فراوانی مطلق و نسبی اوره آپلاسما و مایکوپلاسما در نمونه قطرات اولیه ادرار و ماساژ پروستات

	اورپلاسما اور لیتیکوم		میکو پلاسما هومینیس		کل
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	
ماساژ پروستات	۱۹ (۲۵/۳٪)	۵۶ (۷۴/۷٪)	۱۱(۱۴/۶٪)	٦٤(۸۵/٤٪)	۷۵
قطرات اولیه ادرار	۱۷ (۲۲/۶٪)	۵۸ (۷۷/٤٪)	۹ (۱۲٪)	٦٦ (۸۸٪)	۷۵

بحث

اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم یکی از عوامل اصلی اورتریت غیرگنوکوکی می باشد. مایکوپلاسماهومینیس نیز ممکن است در ایجاد این بیماری نقش داشته باشد. در این مطالعه با استفاده از نمونه قطرات اولیه ادرار و ترشحات پروستات، اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از۲۲/۶ – ۲۵/۳٪ بیماران مبتلا به NGU و NSU جدا شد. همچنین ۱۲٪ -۱۴/۶ از این بیماران از نظروجود مایکوپلاسماهومینیس مثبت شدند. نتایج مشابهی از مطالعات سایرمحققین به دست آمد مثلاً Dilek Kilic و همکارانش در سال ۲۰۰۴ در کشور ترکیه مطالعه ای برای بررسی وقوع کلامیدیاتراکوماتیس , مایکوپلاسما هومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در NGU و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی انجام دادند . در این مطالعه سوآبهای پیشابراه و سوآبهای واژینال از ناحیه اندوسرویکس به دست آمده از ۵۰ بیمار بررسی شدند.

اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از ۲۴ بیمار جدا شد و میزان کلونیزاسیون مایکوپلاسماهومینیس در بیماران ۱۶٪ بود (۹).

Gregory و Cundy در آمریکا تحقیقی را برروی یک گروه۵۰ نفری از مردان مراجعه کننده به کلینیک بیماریهای منتقله از طریق تماس جنسی انجام دادند. هدف از این مطالعه مقایسه میزان جداسازی مایکوپلاسما از دو نوع نمونه بالینی - سوآب پیشابراه و نمونه ادرار- با استفاده از تکنیک کشت،بود. میزان جداسازی این ا رگانیسمها با استفاده از دو نمونه سوآب پیشابراه و ادرار از لحاظ آماری تفاوت معنی داری نداشت. فراوانی میکوپلاسما و اورپلاسما در نمونه سواب پیشابراه۷۰٪ و در ادرار ۵۸٪ تعیین شد(۷).

در مطالعه ای که Matsuda و همکارانش در ژاپن (۱۹۹۱) برای ارزیابی نقش مایکوپلاسما هومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در اورتریت مردان با استفاده از نمونه های قطرات اولیه ادرار اجرا کردند، ۱۶۰ بیمار مرد مبتلا به اورتریت (۲۸ نفر مبتلا به اورتریت گنوکوکی NG و۱۲۶ نفر مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکیNGU) بررسی شدند. اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم و مایکوپلاسما هومینیس از ۱۳/۶ ٪ و ۶/۵٪ از نمونه های قطرات اولیه ادرار جدا شد(۱۰).

در مطالعه دیگری که Bowie و همکارانش برای بررسی عوامل باکتریولوژیک پیشابراه در ۶۹ مرد مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی (۲۶ نفر مبتلا به NGU کلامیدیا مثبت و۴۳ نفر مبتلا به NGU کلامیدیا منفی)و۳۹ مرد بدون اورتریت(NU) اجرا کردند، برای جدا کردن ارگانیسمهای

مایکوپلاسما هومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از نمونه قطرات اولیه ادرار استفاده شد. مایکوپلاسما هومینیس از ۱۹ ٪ -۲۲هر سه گروه جدا شد. اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم با اختلاف معنی دار ، به تعداد بیشتر از بیماران مبتلا به NGU کلامیدیا منفی (۸۱ ٪) نسبت به NGU کلامیدیا مثبت (۴۲ ٪)جدا شد(۱۱).

با توجه به نتایج به دست آمده از تحقیقی که انجام دادیم اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم از نمونه۲۲/۶٪- ۲۵/۳ از بیمار جدا شد که این نسبت تقریباً مشابه نسبت گزارش Stamm و همکارانش(۲۸٪) (۳) است.

در گزارش Kilic میزان کلونیزاسیون مایکوپلاسماهومینیس در بیماران مبتلا به NGU ۱۶٪ (۹) و در گزارش Bowie و همکارانش ۱۹٪ -۲۲ (۱۱) بود در این مطالعه مایکوپلاسماهومینیس از ۱۲٪ -۱۴/۶بیماران جدا شد.

با توجه به نقش این ارگانیسمها در ایجاد NGU و سایر عفونتهای دستگاه ادراری – تناسلی لازم است که همه بیماران با علائم عفونت دستگاه ادراری – تناسلی از نظر وجود این ارگانیسمها بررسی شده، درصورت آلودگی به سرعت درمان شوند، زیرا عدم تشخیص و درمان به موقع این عفونتها گاهی منجر به اختلالات باروری می گردد. به منظور دسترسی به تشخیص مناسب استفاده از روش مناسب تشخیص و نمونهٔ مناسب ضروری است . به طور معمول برای تشخیص NGU در مردان از نمونه ترشحات مجرا و سوآبهای پیشابراه استفاده می گردد (۹ , ۱۲) و در صورتی که مردان فاقد ترشح باشند پس از ماساژپروستات از ترشحات نمونه گرفته می شود اما گرفتن ترشح مجرا در مردان بدین صورت ، مشکل بوده و گاهی حتی بیماران با گرفتن نمونه بدین طریق همکاری نمی کنند.

در این مطالعه سعی نمودیم استفاده از دو نمونهٔ ترشحات پروستات و قطرات اولیه ادرار را در تشخیص مایکوپلاسما هومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در مردان مبتلا به NGU بررسی و مقایسه کنیم.

ما موفق شدیم اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم را از ۲۲/۶٪ از نمونه های قطرات اولیه ادرار (در مقایسه با ۲۵/۳٪ با استفاده از ترشح پروستات) و مایکوپلاسماهومینیس را از ۱۲٪ از نمونه ها (در مقایسه با ۱۴/۶٪ با استفاده از ترشحات پروستات) جدا کنیم. با توجه به اینکه از لحاظ آماری تفاوت معنی داری بین این نسبتها وجود ندارد و با توجه به مشکل و آزار دهنده بودن ماساژپروستات برای مردان می توان نمونهٔ قطرات اولیه ادرار را جایگزین ترشحات پروستات به دست آمده از ماساژ پروستات در موارد جدا سازی مایکوپلاسماهومینیس و اوره آپلاسما اوره آلیتیکوم در بیماران مرد مبتلا به NGU و NSU نمود.

در تحقیقات دیگری که سایر محققان برای جداسازی این ارگانیسمها برروی بیماران مبتلا به اورتریت غیرگنوکوکی انجام داده اند نیز از نمونه قطرات اولیه ادرار استفاده شده است، مطالعه Bowie و همکارانش(۱۱)، مطالعه Matsudaو همکارانش(۱۰)، مطالعه Takamizawa و همکارانش(۱۳)

با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق درصورت عدم امکان گرفتن نمونه ترشحات مجرا در مردان می توان نمونه قطرات اولیه ادرار را برای تشخیص ارگانیسمهای مایکوپلاسما و اوره آپلاسما در بیماران مرد مبتلابه اورتریت غیرگنوکوکی و اورتریت غیراختصاصی جایگزین ترشحات مجرا به دست آمده از ماساژ پروستات نمود.

References

1-Yoshida T, Maeda S, Deguchi T, Miyazawa T, Ishiko H. Rapid detection of Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Ureaplasma parvum and Ureaplasma urealyticum Organisms in Genitourinary Samples by PCR-Microtiter Plate Hybridization Assay. *Journal of Clinical Microbiology*. 2003. 41(5): 1850 -1855.

2-Simpson T, Oh M K. Urethritis and cervicitis in adolescents. *Adolesc Med.* 2004. 15. 253-271.

3-Stamm WE, Hicks CB, Martin DH, Leone P, Hook EW, Cooper RH, etal. *Azitromycin for empirical treatment of the Nongonococcal urethritis Syndrome in men*. Aramdomized double- blind study.JAMA. 1995. 274: 545-549.

4-Potts J M, Ward A M, Rackley RR. *Association of Chronic Urinary Symptoms in women and Ureaplasma urealyticum* . Urology. 2000. 55: 486- 489.

5-Povlsen K, Jensen J S, Lind I. *Detection of Ureaplasma urealyticom by PCR and Biovar Determination by Liquid Hybridization*. Journal of Clinical Microbiology. 1998. 36: 3211-3216.

6-Taylor- Robinson D, Furr p. *Update on sexually transmitted Mycoplasma*. Lancet. 1998. 351.suppl3:12-15

7-Gregory JE and Cundy KR. *Mycoplasma Recovery from the Male Genitourinary Tract: Voided Urine versus the Urethral Swab*. Applied Microbiology.1970.19 (2):268- 270.

8. Baron A, Finegold SM. *Diagnostic Microbiology Bailly & Scotts*. Mosby. 1990:564-568, attendix A20-A22.

9. Kilic D, Basar MM, Kaygusuz S, Yilmaz E, Basar H, Batistarn E, et al . *Prevalence and Treatment of Chlamydia trachomatis, Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in patients with Nongonococcal Urethritis*. JPN J Infect. 2004. 57: 17-20.

10. Matsuda T,Takeuchi H,Yoshida O. *Ureaplasma urealyticum and Mycoplasma hominis in male Urethritis* .Hinyokika kiyo.1991.37(10):1293-7

11. Bowie WR, Pollock HM, Forsyth PS, Floyd J F, Alexander ER, Wang SP, et al. *Bacteriology of the Urethra in Normal Men and Men with Nongonococcal Urethritis*. Journal of Clinical Microbiology1977. ***6*** (5): 482-488.

12. Khalil NG, Ghazal AM and Thwaini AJ. *Microbiological study on male urethritis.* PakJ Biol Sci. 2003. 6 (16): 1396-1398

13. Takamizawa S, Okazaki T, Machida T.A *study of Ureaplasma urealyticum Pathogenicity in human genitourinary tract*..Kansenshogaku Zashi.1991.65(10):1355-60.