

مجله پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز

دوره ۳۱ شماره ۲ تابستان ۱۳۸۸ صفحات ۱۰-۷

## نقش اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در اورتریت غیر گنوکوکی مردان

محمدتقی اخی: گروه میکروبیشناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز: نویسنده رابط

E-mail: M\_T\_Akhi@Yahoo.Com

عیوض ابراهیمی: گروه میکروبیشناسی، 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 آپلازما اوره آلیتیکوم ( قبلا بنام میکوپلازما ی-T خوانده می شد) عضو خانواده میکوپلازما 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 آپلازما اوره آلیتیکوم در ایجاد بسیاری از بیماری ها مثل اورتریت غیرگنوکوکی، پروستاتیت، التهاب حشفه، سندرم ریتز و غیره در مردان شرکت کرده است. هدف از این مطالعه، ارزیابی اتفاق اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در مردانی با اورتریت غیر گنوکوکی بوده است.

**روش بررسی:** دوست 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 و گیامسا، کشت بر روی آبگوشت (Pleuro Pneumonia Like Organisms, PPLO) اوره دار، آگار خوندار و مک کانگی انجام گرفت. کشت های اوره مثبت انتخاب شده بر روی میکوپلازما آگار (A8) کشت دوباره تهیه گردید. کلنی های مشکوک بعد از ۲، ۳ و ۵ روز انکوباسیون در دمای ۳۷°C توسط روش های استاندارد تعیین هویت شدند.

**یافته ها:** نایسریا گنوره آ در ۵۶ مورد (۲۸٪) و تریکوموناس در ۳ مورد (۱/۵٪) نفر از 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 و کلنی های مشخص ایجاد کردند که بعدا به عنوان اوره آپلازما اوره آلیتیکوم تعیین هویت گردیدند. از گروه کنترل تنها ۳ (۶٪) مورد اوره آپلازما اوره آلیتیکوم جدا گردید.

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

**کلید واژه ها:** اورتریت، اوره آپلازما اوره آلیتیکوم، نایسریا گنوره

### مقدمه

خانواده میکوپلازما تاسیه 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

مجرای ادرار یکی از نواحی معمول در دستگاه ادراری تناسلی است که بکرات توسط عوامل گوناگونی مثل باسیل های گرم منفی از خانواده اتروباکتریاسه ها، نایسریا گنوره، کلامیدیا تراکوماتیس، اوره آپلازما اوره آلیتیکوم و بندرت باکتری های بیهوازی آلوده میگردد. باکتری های اوره آپلازما اوره آلیتیکوم یکی از اعضای

۳- نمونه ها در آگار خوندار، مکانکی آگار و آبگوشت PPLO با اوره (اوره آپلازما اوره آلیتیکوم) کشت داده شدند. محیط کشت های مایع را پس از تلقیح بلافاصله خوب بهم زده و سپس آنها را به داخل ۲ ml محیط کشت آبگوشت مشابه با استفاده از فیلتر  $\mu\text{m}$  ۰/۴۵ صاف کردیم. کلیه کشت ها در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در اتمسفری با ۵٪  $\text{CO}_2$  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 مایکوپلازما 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 بررسی محیط کشت مکانکی و نیز در نظر گرفتن مرحله فیلتراسیون متنی گردید. برای تعیین هویت اوره آپلازما اوره آلیتیکوم از روشهای استاندارد میکروبیشناسی و نیز از رنگ آمیزی های داینس Giemsa، Cresyle-fast violet و کلراید منگنز- اوره استفاده گردید(۱۱).

### یافته ها

از ۲۰۰ نمونه بدست آمده از بیماران تحت بررسی برای اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در مدت یکسال ۵۶ مورد (۲۸٪) به اورتریت گنوکوکی و ۳ مورد (۱/۵٪) به اورتریت تربیکومونائی 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 مایکوپلازما 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 از  $\mu\text{m}$  ۰/۴۵، تولید اوره آز، توانائی رشد مطلوب و ایجاد کلنی های بیرنگ و نقطه ای شکل در محیط کشت اختصاصی مایکوپلازما 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 و ۳۸/۲۹٪ در کل اورتریت ها به عنوان اوره آپلازما اوره آلیتیکوم پذیرفته شد در حالیکه در گروه کنترل تنها ۳ (۰/۶٪) مورد اوره آپلازما 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 مایکوپلازما تاسیه ساده ترین و کوچکترین میکروارگانیسم هائی هستند که قادرند بخودی خود

(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 مایکوپلازما و اوره آپلازما سه گونه مهم به نام های اوره آپلازما اوره آلیتیکوم، مایکو پلازما هومونیس و اخیرا مایکو پلازما جنیتالیوم از دستگاه تناسلی انسان جدا شده اند(۳). وجود اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در انسان که قبلا بنام مایکو پلازما T- نامیده میشد اولین بار توسط Shepered 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 ریتز و غیره جدا گردید (۸، ۷). نقش اوره آپلازما 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 آپلازما اوره آلیتیکوم در مردانی با اورتریت غیر گنوکوکی بوده است.

### مواد و روش ها

دویست بیمار مرد در سنین ۱۹ 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 ۱۳۸۳ انتخاب 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 تعداد ۹۴ 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 دور rpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ گردیده و بر 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 تربیکوموناس واژینالیس

۲- رنگ آمیزی گرم برای نایسریا گنوره و کاندیدا آلیکنس و گیمسا 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).

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 و وضعیت 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 آپلازما 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 آپلازما اوره آلیتیکوم و اوره آپلازما پارووم بطور معنی داری با فعالیت 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 از ۱۴۰۰ بیمار مرد اورتریتی مورد مطالعه ۳۱/۶٪ عامل نایسریا گنوره و ۱۲/۱٪ اوره آپلازما اوره آلیتیکوم جدا گردید (۱۸). با توجه به تفاوت درمانی این دو ارگانیزم تشخیص سریع و صحیح عامل بیماری در اورتریت مردان و افتراق اتیولوژیک این دو عامل کاملا ضروری است (۲۰، ۱۹). در مطالعه دیگر در سال ۱۹۸۹ از ۱۸۴ بیمار مبتلا به اورتریت غیر گنوکوکی که توسط سوآب اورترال نمونه برداری شد (مشابه روشهای این مطالعه) از ۸۶ نفر (۷۳/۴۶٪) باکتری اوره آپلازما 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 آپلازما اوره آلیتیکوم از اهمیت ویژه ای برخوردار است و در حقیقت موید فرضیه این مطالعه مبنی بر نقش اتیولوژیک اوره آپلازما اوره آلیتیکوم در بروز بیماری اورتریت غیر گنوکوکی مردان می باشد.

### نتیجه گیری

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

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 و نمو به محیط های غنی و پیچیده نیازمند باشند (۱).

باکتری اوره آپلازما 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 اورورژیتال 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 میکروارگانیزم ها است که این باکتری ها بنحو احسن از این توانائی برخوردار هستند. توانائی و قابلیت چسبندگی این میکروارگانیزم به سلولهای اپیتلیال مجرای ادراری- تناسلی، اسپرم و اریتروسیت، آنها را 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 میزان ۱۹/۴٪ در میان ۱۴۱ 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  $0.45 \mu m$  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 نمودند. 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

### References

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

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*. 12<sup>th</sup> 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, Muyltermans 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 Kyo* 1991; **37**(10): 1293-1297.