ORIGINAL ARTICLE

Detection of Neisseria Gonorrhoeae and Chlamydia Trachomatis in Patients with Symptomatic Urethritis Using Multiplex PCR, Gram Stain and Urine Culture

Owrang Ilami[1],
Seyyed Hoshang Rahimian[2],
Mohammad Kargar[3],
Alborz Jahangiri Sisakht[4]
Seyyed Zaker Saeedinejad[5],
Abolghasem Hadinia[6]

[1] Associate Professor, Department of Infectious Diseases, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
[2] MSc in Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
[3] Associate Professor, Department of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran
[4] MSc in Microbiology, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
[5]Assistant Professor, Department of Infectious Diseases, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
[6]Lecturer, Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

(Received Jan 30 , ; Accepted June 23, 2012)

Abstract

Background and purpose: *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* are the most common causes of sexually transmitted infections. The aim of this study was detection of *N. gonorrhoeae* and *C. trachomatis* in patients with symptomatic urethritis using Multiplex PCR, gram stain and urine culture.

Materials and methods: This cross sectional study was conducted in 137 patients with symptomatic urethritis, referring to Yasuj Sahid Mofateh Clinic. After completing a demographic questionnaire, 10-15 ml of first void urine was obtained. After centrifugation of the urine, sediments were used for polymerase chain reaction based on plasmid primers and then cultured on chocolate agar medium. The data was analyzed using descriptive statistics and Chi-square test.

Results: The patients included 28 (20%) male and 109 (80%) female. The frequency of infection with *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* was 3.65% and 5.11%, respectively. *N. gonorrhoeae* was detected in two (7.14%) male and five (4.65%) female and *C. trachomatis* was observed in two (7.14%) male and three (2.6%) female. No coinfection with *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* was detected. Using culture, gram stain and Multiplex PCR for detection of *N. gonorrhoeae* we found 5.11, 4.38 and 5.84% positive cases, respectively. Through Multiplex PCR assay for detection of *C. trachomatis* 3.6% of the cases were found positive.

Conclusion: The results of this study showed a relatively low frequency of *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae* in Yasuj.

Keywords: *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, urethritis, polymerase chain reaction

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(103): 10-18 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و سوم شماره ۱۰۳ مرداد سال ۱۳۹۲ (۱۸-۱۱)

شناسایی *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس در بیماران مبتلا به اورتریت علامت دار با استفاده از روش های Multiplex PCR، رنگ آمیزی گرم و کشت ادرار

اورنگ ایلامی[۱]
سید هوشنگ رحیمیان[۲]
محمد کارگر[۳]
البرز جهانگیری سیسخت[۴]
سید ذاکر سعیدی نژاد[۵]
ابوالقاسم هادی نیا[۶]

چکیده

سابقه و هدف: نایسریا گونور آ و کلامیدیا تراکوماتیس از متداول‌ترین عوامل ایجاد کننده عفونت‌های منتقله از راه جنسی می‌باشند. هدف این مطالعه شناسایی *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس در بیماران مبتلا به اورتریت علامت دار با استفاده از روش‌های Multiplex PCR، رنگ‌آمیزی گرم و کشت ادرار بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تحلیلی- مقطعی بر روی ۱۳۷ بیمار مبتلا به اورتریت علامت‌دار، مراجعه کننده به کلینیک شهید مفتح یاسوج انجام شد. پس از تکمیل پرسشنامه اطلاعات دموگرافیک، مقدار ۱۵-۱۰میلی‌لیتر نمونه ادرار صبح گاهی به وسیله شرکت‌کنندگان گرفته شد. بعد از سانتریفوژ نمودن، از رسوب ادرار جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی مراز بر پایه پرایمر پلاسمیدی و کشت بر روی محیط شکلات آگار استفاده شد. داده‌ها با آزمون های آماری توصیفی و مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: تعداد ۲۸ نفر (۲۰ درصد) از نمونه‌ها مرد و ۱۰۹ (۸۰ درصد) زن بودند. فراوانی عفونت با کلامیدیا تراکوماتیس و نایسریا گونور آ به ترتیب ۳/۶۵ و ۵/۱۱ درصد بود. تعداد ۵ نفر (۴/۶۵ درصد) از زنان و ۲ نفر (۷/۱۴ درصد) از مردان مبتلا به اورتریت گونوکوکی و ۳ نفر (۲/۶ درصد) از زنان و ۲ نفر (۷/۱۴ درصد) از مردان مبتلا به اورتریت کلامیدیایی بودند. آلودگی هم زمان به کلامیدیا تراکوماتیس و نایسریا گونور آ مشاهده نشد. با روش‌های کشت، رنگ‌آمیزی گرم و Multiplex PCR جهت تشخیص *نایسریا گونورآ* به ترتیب؛ ۵/۱۱، ۴/۳۸ و ۵/۸۴ درصد و با روش Multiplex PCR جهت تشخیص کلامیدیا تراکوماتیس ۳/۶ درصد موارد مثبت بودند.

استنتاج: فراوانی عفونت با دو باکتری *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس در بیماران مبتلا به اورتریت علامت دار در شهر یاسوج کم بود.

واژه های کلیدی: *نایسریا گونورآ*، کلامیدیا تراکوماتیس، اورتریت، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

مقدمه

با وجود اصلاح و پیشرفت راه‌های تشخیص، درمان و پیشگیری بیماری‌های منتقله از راه مقاربتی Sexually Transmitted Desiase (STD)، هنوز این بیماری‌ها از مشکلات بهداشت عمومی در دنیا به شمار

مولف مسئول: ابوالقاسم هادی نیا- یاسوج: دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی. کدپستی: ۷۵۹۱۹۹۴۷۹۹ E-mail:ahadinia@yahoo.com

۱. دانشیار، گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
۲. کارشناس ارشدمیکرب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، جهرم، ایران
۳. دانشیار، گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی جهرم، جهرم، ایران
۴. کارشناس ارشد میکرب شناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
۵. استادیار، گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران
۶. مربی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۱/۱۱ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۲/۲/۲۸ تاریخ تصویب : ۱۳۹۲/۴/۲

می آیند. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی سالیانه ۳۴۰ میلیون مورد عفونت جدید در دنیا رخ می‌دهد که علاوه بر هزینه سنگین جهت درمان این بیماری‌ها هر ساله تعداد زیادی از بیماران از بین می‌روند. از میان این عفونت‌های جنسی قابل درمان، *کلامیدیا تراکوماتیس* و *نایسریا گونورآ* به ترتیب با ۹۲ و ۶۲ میلیون مورد ابتلاء بیش‌ترین فراوانی را دارند(۲،۱). در بسیاری از کشورها مهم ترین بیماری مقاربتی قابل مشاهده در مردان اورتریت (Urethritis) است که به وسیله التهاب پیشابراه و خارش تشخیص داده می‌شود. اورتریت به دو دسته *گونوکوکی* و غیر *گونوکوکی* تقسیم‌بندی می شود که عامل دسته اول *نایسریا گونورآ* و عامل دسته دوم عوامل متعدد دیگری به جز *گونوکوک* هستند. از عوامل مسبب این دسته می‌توان به *کلامیدیا تراکوماتیس*، *مایکوپلاسما جنیتالیوم*، *اوره پلاسما اوره آلیتیکوم*، *مایکوپلاسما هومونیس* و *تریکوموناس واژینالیس* اشاره کرد. با توجه به مطالعات متعدد در نقاط مختلف دنیا بین ۵۰-۳۰ درصد از اورتریت‌های غیر گونوکوکی به وسیله *کلامیدیا تراکوماتیس* ایجاد می‌شوند(۴،۳). هر دو ارگانیسم *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس به طور ترجیحی سلول‌های اپیتلیال استوانه‌ای را آلوده می‌نمایند که عفونت‌های سطوح مخاطی همراه با پاسخ‌های التهابی است و منجر به تولید میزان زیادی از ترشحات چرکی می‌شود. در عفونت *کلامیدیایی* میزان ترشحات ناچیز تا متوسط می‌باشد. اغلب عفونت‌های *کلامیدیایی* (تا ۵۰ درصد در مردان و تا ۷۰ درصد زنان) و *نایسریا گونورآ* (۱۰ درصد در مردان و ۷۰ درصد در زنان) بدون هیچ‌گونه علامتی می‌باشند که عدم تشخیص و درمان به موقع موجب انتقال عفونت به نوزاد و تسهیل انتشار ویروس نقص سیستم ایمنی انسان در سطح جامعه و هم چنین بروز عوارض وخیمی در آینده می‌شود(۳، ۵). تقریباً ۲۰ تا ۴۰ درصد از زنان مبتلا به *کلامیدیا تراکوماتیس* و ۲۰-۱۰ درصد زنان مبتلا به *نایسریا گونورآ* که درمان نمی‌شوند، به بیماری‌های التهابی لگن Pelvic Inflammatory Disease (PID) گرفتار می‌شوند که می‌تواند پیامدهای مهمی هم چون ناباروری لوله‌ای، حاملگی نابه جا، سقط جنین و دردهای مزمن لگنی را در پی داشته باشد. بر خلاف عفونت‌های *کلامیدیا تراکوماتیس* یک تا سه درصد از بیماران مبتلا به *نایسریا گونورآ* در صورت عدم درمان عفونت‌های منتشره را ایجاد می کنند(۶). در زنان *کلامیدیا تراکوماتیس* به طور معمول گردن رحم را آلوده می‌سازد. شواهد اخیر نشان می‌دهد که *کلامیدیا تراکوماتیس* با مهار نمودن آپوپتوزیس موجب تحریک و شروع سرطانی شدن گردن رحم می‌شود. گفته می‌شود ۹۰-۷۰ درصد از اورتریت‌های متعاقب عفونت‌های *گونوکوکی* مربوط به *کلامیدیا تراکوماتیس* می‌باشند و از طرفی عفونت‌های هم زمان متداول است، به طوری که ۴۰-۲۰ درصد افراد مبتلا به گونورآ به *کلامیدیا تراکوماتیس نیز* آلوده هستند(۷).

به دلیل این‌که روش انتقال این دو باکتری و هم چنین عوارض ناشی از آن‌ها و رفتارهای پر خطر برای این دو باکتری تقریباً یکسان است، مطالعه هم زمان این دو باکتری می‌تواند مفید باشد. چون آزمایشات روتین کشت و بیوشیمیایی برای جداسازی و تشخیص این دو باکتری وقت گیر و پیچیده است، چندین مطالعه استفاده از روش‌های مولکولی را پیشنهاد نموده‌اند(۹،۸). هدف این مطالعه شناسایی *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس در بیماران مبتلا به اورتریت علامت‌دار با استفاده از روش‌های Multiplex PCR، رنگ‌آمیزی گرم و کشت ادرار بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تحلیلی- مقطعی پس از اخذ رضایت کتبی از شرکت‌کنندگان، بر روی ۱۳۷ بیمار مبتلا به اورتریت علامت‌دار در سنین باروری (۴۹-۱۴ سال)، مراجعه کننده به کلینیک شهید مفتح یاسوج انجام شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل؛ عدم دفع ادرار طی ۲ ساعت قبل از نمونه‌گیری و عدم مصرف آنتی بیوتیک

طـی ۳ هفتـه قبـل از زمـان نمونـه بـرداری بـود. شرکت کنندگان ابتدا پرسشنامه اطلاعات دموگرافیک شامل؛ سن، سن ازدواج، شغل، نوع سکونت، سطح تحصیلات، وضعیت تأهل، تعداد فرزندان، تعداد شرکای جنسی، استفاده و یا عدم استفاده از کاندوم و دیگر روش‌های پیشگیری از باروری، سابقه اعتیاد و ابتلا به برخی از بیماری‌های مرتبط و تأثیرگذار در نتیجه نهایی مطالعه را تکمیل نمودند. پس از تکمیل پرسشنامه، افراد واجد شرایط شرکت در مطالعه، مقدار ۱۵-۱۰ میلی لیتر از ادرار اولیه صبح گاهی خود را در لوله استریل آزمایش گرفتند. نمونه‌های ادرار گرفته شده جهت انجام آزمایشات واکنش زنجیره‌ای پلی مراز (PCR) و کشت به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شدند. بعد از سانتریفوژ کردن قسمت رویی نمونه تخلیه شد و از رسوب باقی مانده جهت انجام آزمایش‌های کشت و PCR استفاده شد.

برای تشخیص *نایسریا گونورآ* از آزمایش کشت استفاده شد. جهت انجام آزمایش کشت با لوپ استریل مقداری از رسوب تهیه شده به روش استاندارد بر روی محیط شکلات آگار ساخت شرکت مرک آلمان قرار داده شد و درون جار بی هوازی قرار گرفت. محیط‌های کشت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در شرایط ۵ تا ۱۰ درصد دی اکسید کربن به مدت ۴۸ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پتری دیش‌هایی که بر روی آن‌ها رشد مشاهده شد، جهت ادامه مطالعه انتخاب شدند و بر روی آن‌ها تست‌های تعیین هویت مانند؛ اکسیداز، کاتالاز و تخمیر قندها (گلوکز، مالتوز و ساکاروز) انجام شد. هم چنین از روش رنگ آمیزی گرم جهت تشخیص نایسریا گونور آ استفاده شد(۱۰).

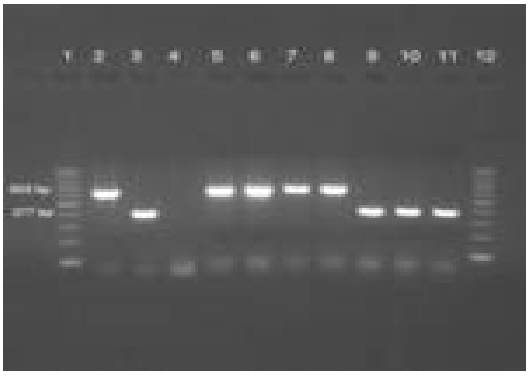
جهت افزایش حساسیت آزمایش Multiplex-PCR از ژن‌های ثابت پلاسمیدی موجود در هر دو باکتری استفاده شد. از آن جا که در هر باکتری بیش از یک کپی از پلاسمید وجود دارد در نتیجه نسبت به ژن کروموزومی که معمولاً یک نسخه از آن در هر باکتری وجود دارد، حساسیت بیش‌تری را در واکنش PCR ایجاد می‌کند. طراحی پرایمرها به نحوی بود که علاوه بر اختصاصیت آن‌ها برای باکتری‌های مذکور، دمای واسرشتگی برابری داشته باشند تا در چندگانه PCR مشکلی ایجاد نشود. تفاوت اندازه ی محصول PCR برای عوامل مذکور از نکات دیگر طراحی پرایمر بوده است. به نحوی که برای *نایسریا گونورآ* ۶۰۳ جفت باز و کلامیدیا تراکوماتیس ۳۷۷ جفت باز داشتند تا وجود هر کدام به راحتی روی ژل آگارز قابل شناسایی باشد. جهت بررسی اختصاصیت آزمایش، پرایمرهای به کار گرفته شده در مطالعه ی قبلی با نرم افزار BLAST آزمایش شده بودند و عملا" با DNA باکتری های دیگر و DNA انسانی واکنش PCR آن‌ها منفی بوده است(۹). استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج سیناژن به نام DNP Kit انجام شد. جهت انجام واکنش PCR، ۲-۱ میکروگرم از DNA، ۲/۵ میلی مولار از کلرید منیزیم، ۱۰ میکروگرم ازdNTP، هرکدام از پرایمرها ۱ میکرولیتر (جمعاً ۴ میکرولیتر)، ۰/۵ میکرولیتر از Taq DNApolymerase و ۵ میکرولیتر از بافر در یک تیوب اپندورف ریخته و حجم آن با آب مقطر به ۵۰ میکرولیتر رسید. از دستگاه ترموسیکلر ساخت آلمان، مدل AG:2233 جهت انجام Multiplex PCR استفاده شد. مراحل واکنش شامل؛ ۵ دقیقه قبل از دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه دناتوراسیون در دمای۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه واسرشتگی در دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه پلیمریزاسیون در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و ۵ دقیقه پس از اتصال در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد بود. این مراحل ۳۰ چرخه انجام شدند(۹). پس از خاتمه از محصولات واکنش که بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند، تصویر برداری شده و بررسی لازم انجام گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری توصیفی و مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

بر اساس نتایج حاصله تعداد۲۸ نفر (۲۰ درصد) از نمونه‌ها مرد و ۱۰۹ (۸۰ درصد) زن بودند. میانگین سن زنان و مردان شرکت کننده به ترتیب ۳۰/۱۴ و ۳۴/۹۳ سال بود. از نظر وجود علایم و نشانه‌های افراد مبتلا به اورتریت به ترتیب؛ ۷۱/۴ درصد مردان و ۵۹/۶ درصد زنان دارای تکرر ادرار، ۲۸/۶ درصد مردان و ۸۶/۲ درصد زنان سوزش ادرار، ۶۷/۹ درصد مردان و ۶۴/۲ درصد زنان قطره قطره بودن ادرار و ۵۰ درصد مردان و ۸۶/۲ درصد زنان ترشحات پیشابراهی داشتند. به ترتیب ۸۴/۴ و ۶۰/۷ درصد از زنان و مردان شرکت کننده در مطالعه سابقه دردهای زیر شکمی را دشتند. به ترتیب ۱۰/۷ و ۲/۷۵ درصد از مردان و زنان شرکت‌کننده بیش از یک شریک جنسی داشتند. سابقه خونریزی بعد از تماس جنسی در زنان مورد مطالعه ۱۱ درصد بود.

محصول الکتروفورز واکنش زنجیره‌ای پلی مراز بر روی ژل آگارز در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است. با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مراز تعداد ۵ نفر (۳/۶۵ درصد) مبتلا به کلامیدیا تراکوماتیس و تعداد ۷ نفر (۵/۱۱ درصد) مبتلا به *نایسریا گونورآ* بودند. از ۵ نفری که مبتلا به کلامیدیا تراکوماتیس بودند، ۲ نفر (۷/۱۴ درصد) مرد و ۳ نفر (۲/۷۵ درصد) زن بودند و از ۷ نفری که مبتلا به *نایسریا گونورآ* بودند، ۲ نفر (۷/۱۴ درصد) مرد و ۵ نفر (۴/۶ درصد) زن بودند. با روش کشت تعداد ۶ مورد (۴/۳۸ درصد) *نایسریا گونورآ* گزارش شد که از این تعداد ۲ نفر (۷/۱۴ درصد) مرد و ۴ نفر (۳/۶۷ درصد) زن بودند. جهت شناسایی *نایسریا گونورآ* از روش رنگ آمیزی گرم هم استفاده شد که با این روش تعداد ۸ نفر (۵/۸۴ درصد) مثبت گزارش شدند. عفونت هم زمان کلامیدیا تراکوماتیس و *نایسریا گونورآ* در هیچ کدام از نمونه‌ها مشاهده نشد (جدول شماره ۱).



تصویر شماره ۱: نمایش محصولات واکنش Multiplex-PCR بر روی ژل آگارز

(باندهای۱و۱۲؛ ماکر 100bp، باند۲؛ سویه استاندارد *نایسریا گونورآ* با پرایمر پلاسمیدی، باند ۳؛ سویه استاندارد *کلامیدیا تراکوماتیس* با پرایمر پلاسمیدی، باند۴؛ کنترل منفی، باندهای ۸-۵؛ *نایسریا گونورآ* در ۴ بیمار مبتلا به اورتریت، ۱۱-۹؛ کلامیدیا تراکوماتیس در ۳ بیمار مبتلا به اورتریت).

جدول شماره ۱: مقایسه فراوانی موارد مثبت کلامیدیا تراکوماتیس و *نایسریا گونورآ* در بیماران مبتلا به اورتریت علامت‌دار با روش‌های مختلف آزمایشگاهی

گروه / متغیر	مرد (تعداد= ۲۸ نفر) تعداد (درصد)	زن (تعداد= ۱۰۹ نفر) تعداد (درصد)	جمع (تعداد= ۱۳۷ نفر) تعداد (درصد)
کلامیدیا (PCR)	۲ (۷/۱۴)	۳ (۲/۷۵)	۵ (۳/۶۵)
نایسریا (PCR)	۲ (۷/۱۴)	۵ (۴/۶)	۷ (۵/۱۱)
نایسریا (**کشت**)	۲ (۷/۱۴)	۴ (۳/۶۷)	۶ (۴/۳۸)
نایسریا (رنگ آمیزی گرم)	۳ (۱۰/۷۱)	۵ (۴/۶)	۸ (۵/۸۴)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد، فراوانی عفونت با کلامیدیا تراکوماتیس و *نایسریا گونورآ* به ترتیب ۳/۶۵ و ۵/۱۱ درصد بود. ضمن این‌که آلودگی هم زمان به کلامیدیا تراکوماتیس و *نایسریا گونورآ* مشاهده نشد. بر اساس مطالعات انجام شده قبلی در ایران میزان فراوانی این دو باکتری متفاوت بوده است. فتح‌الله زاده و همکاران، *نایسریا گونورآ* و *کلامیدیا تراکوماتیس* را در بیماران مبتلا به اورتریت به ترتیب ۴۶ و ۲۲/۴ درصد و عفونت هم زمان را ۱۰/۴ درصد گزارش نموده‌اند(۱۱).

در مطالعه‌ای که زعیمی و همکاران بر روی زنان مبتلا به سرویسیت انجام دادند، از ۱۴۲ نمونه سرویکال ۲۰ نفر (۱۵/۵درصد) مبتلا به *کلامیدیا تراکوماتیس* بودند، بیش‌ترین شیوع *کلامیدیا تراکوماتیس* در گروه سنی ۲۹-۲۵ و ۳۹-۳۵ سال وجود داشت. در این مطالعه ارتباط قابل توجهی میان سابقه ابتلاء به بیماری های منتقله از راه جنسی و عفونت *کلامیدیا تراکوماتیس* مشاهده شد(۱۲).

در مطالعه فلاح و همکاران فراوانی *کلامیدیا تراکوماتیس* در زنان مبتلا به سرویسیت ۱۴/۹درصد گزارش شد. بیش‌ترین علامت در زنان مبتلا به سرویسیت به ترتیب چرک و موکوس (۹۲/۸۵ درصد)، خارش (۶۴ درصد) و مقاربت دردناک (۵۰ درصد) گزارش شده است، که با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد(۱۳).

در مطالعه ای که به وسیله چمنی تبریز و همکاران با عنوان بررسی مولکولی فراوانی ابتلا به عفونت کلامیدیا تراکوماتیس در زنان مراجعه کننده به درمانگاه‌های زنان و مامایی تهران بر روی ۱۰۲۵ زن ۴۹- ۱۵ ساله انجام شد، شیوع کلامیدیا تراکوماتیس ۱۲/۳ درصد برآورد شد(۱۴). در مطالعه دیگری که به وسیله رشیدی و همکاران با عنوان فراوانی عفونت با کلامیدیا تراکوماتیس در زنان نابارور و بارور با دو روش سرولوژی و مولکولی انجام شد، با روش ملکولی ۱۳/۸ درصد از افراد نابارور و ۱۱/۱ درصد از زنان باردار از نظر عفونت با کلامیدیا ترکوماتیس مثبت بوده و با روش سرولوژی ۸/۶ درصد از زنان نابارور و ۴/۹ درصد از زنان بارور دارای آنتی بادی IgG علیه کلامیدیا تراکوماتیس بودند(۱۵).

از آن‌جا که کلامیدیا یک پاتوژن داخل سلولی است، شناسایی آن با استفاده از روش‌های معمول تشخیص باکتری‌ها مشکل می‌باشد. در بررسی شیوع عفونت کلامیدیایی در جوامع مختلف، روش‌های مختلف تشخیصی با لحاظ نمودن حساسیت و ویژگی آن‌ها مورد مقایسه قرار گرفته است(۱۴). در بررسی دختران نوجوان با سابقهٔ تماس جنسی در اوگاندا با کمک PCR شیوع کلامیدیا ۴/۵ درصد گزارش شد(۱۶). در یونان، شیوع در زنان بیمار که به روش PCR ارزیابی شدند، ۳/۵ درصد بود که ۸۸ درصد این افراد زیر ۳۰ سال سن داشته و ۷۱ درصد بیش از یک شریک جنسی داشتند(۱۷). بروز بیماری در زنان بدون علامت استرالیایی به روش PCR، ۱۳ درصد به دست آمد(۱۸). اطلاعات محدودی در مورد عفونت گونوکوکی در ایران به دلیل شیوع کم این بیماری وجود دارد. میزان عفونت در زنان شیرازی مبتلا به سرویسیت ۱/۹۴ درصد و در کرمان در زنان علامت دار و بدون علامت ۴ درصد به دست آمد(۱۹،۲۰). در مطالعه دیگری در بابل میزان عفونت با *نایسریا گونورآ* در زنان غیر باردار ۲ درصد گزارش شد(۲۱). در مطالعه‌ای که به وسیله رشیدی و همکاران با عنوان بررسی فراوانی نایسریا گنوره در زنان نابارور و بارور تهرانی انجام شد، در هر دو گروه، موردی از عفونت مشاهده نشد(۲۲). گونورآ دومین بیماری شایع مقاربتی در آمریکاست(۲۳). در زنان باردار استرالیایی، شیوع گونورآ ۶/۱ درصد گزارش شد(۲۴). به طور کلی بروز گونورآ در مراجعین به کلینیک در اروپای غربی ۵-۱ درصد و در استرالیا ۲۰-۱۵ درصد گزارش شد و زنان آفریقایی از بقیه ملل، بیش‌تر دچار این عفونت بودند(۲۵).

در این مطالعه برای تشخیص کلامیدیا تراکوماتیس که داخل سلولی بوده و شناسایی آن با استفاده از روش‌های معمول تشخیص باکتری‌ها مشکل می‌باشد، فقط از روش Multiplex-PCR استفاده شد، ولی در خصوص تشخیص نایسریا گونور آ از سه روش Multiplex PCR، رنگ‌آمیزی گرم و کشت ادرار استفاده شد که به ترتیب موارد مثبت؛ ۵/۱۱، ۴/۳۸ و ۵/۸۴ درصد بود. سال‌ها است که روش‌های شناسایی نایسریا بر پایه روش‌های معمول مانند کشت و رنگ‌آمیزی گرم است، اما استفاده از روش‌های ملکولی مانند PCR با حساسیت و ویژگی بالا امکان شناسایی این باکتری را در نمونه‌های مختلف فراهم نموده است. روش

Multiplex PCR بـا حساسـیتی در حـدود ۱۰۰-۹۲/۳ درصد و ویژگی ۱۰۰ درصد امکان ردیابی هم زمـان دو باکتری *نایسریا گونورآ* و کلامیدیا تراکوماتیس را فراهم آورده اسـت. آزمـایش PCR در مقایسـه بـا کشـت در تشخیص این دو بـاکتری سـریع‌تـر بـه نتیجـه مـی رسـد، ضمن این‌که در خصوص تشخیص باکتری کلامیدیا نیاز به انجام کشت سلولی می‌باشد. مزیت دیگـر روش PCR این است که در مواردی که درمان آنتی‌بیـوتیکی شـروع شده باشد و نتیجه آزمایشات کشت و رنگ‌آمیزی گـرم منفی باشد، می‌تواند حضور باکتری را در نمونه تشخیص دهد(۱۰). روش PCR نسـبت بـه کشـت و رنـگ‌آمیـزی گرم از سرعت، دقت، اختصاصیت و حساسـیت بـالاتری برخوردار است(۲۶). امروزه روش Multiplex PCR کـه بتواند حداقل تعداد باکتری‌هـای شـایع را پوشـش دهـد، مورد توجه قـرار گرفتـه اسـت. اسـتفاده از ایـن روش در آزمایشـگاه‌هـای تشـخیص طبـی موجـب ارتقـای سـطح کیفی می‌شود و سرعت تشخیص را نیز افزایش می‌دهـد. هرچند همیشه خطر آلودگی و نتیجه مثبت یا حتی منفـی کاذب وجود دارد(۲۷).

در کشورهای توسـعه یافتـه *کلامیـدیا تراکومـاتیس* وفـور بـیش‌تـری نسـبت بـه *نایسـریا گونـورآ* دارد، در صورتی که در کشورهای کم‌تر توسعه یافته و یا در حال توسـعه ایـن موضـوع بـر عکـس مـی باشـد. تفـاوت در روش‌های انجام مطالعه و هم چنین تفاوت‌های فرهنگـی در مناطق مختلف باعث گزارش‌هـای متفـاوت در زمینـه شیوع این باکتری‌ها می‌باشد. مطالعه حاضر بر روی افراد مبتلا بـه اورتریـت علامـت دار انجـام شـده اسـت و ایـن موضوع هم می‌تواند، دلیلی بـر تفـاوت در میـزان شـیوع عفونـت میکـرب‌هـای *کلامیـدیا تراکومـاتیس* و *نایسـریا گونورآ* با سایر مناطق کشور ایران باشد.

در مجموع این مطالعه نشان داد، فراوانی عفونـت بـا دو باکتری *نایسریا گونـورآ* و کلامیـدیا تراکومـاتیس در بیماران مبتلا به اورتریت علامت دار در شهر یاسوج کـم می‌باشد. به نظر می‌رسد ایـن موضـوع بـه دلایلـی ماننـد؛ حجم نمونه، متأهل بودن افراد شرکت کننده در مطالعـه، کوچک بودن محدوده سرزمینی اجـرای مطالعـه و بسـته بودن روابط به دلیل نظارت و کنترل بر جوانـان، آگـاهی نسل جوان با بهداشت و راه‌های پیشگیری از بیماری‌های منتقله از راه جنسـی و از طرفـی فرهنـگ و آداب رسـوم سنتی این منطقه ارتباط داشته باشد. بـا وجـود کـم بـودن فراوانی باکتری های مورد نظر در این مطالعه، بر اجـرای برنامه‌های غربالگری در مردان و زنان فعال از نظر جنسی تأکید می‌شود. هم‌چنین اجرای مطالعـات گسـترده‌تـر بـا جامعه آماری وسـیع تـر و جداسـازی و شناسـایی دیگـر عوامـل عفـونی مـی‌توانـد در زمینـه درمـان عفونـت‌هـا و جلوگیری از عوارض وخیم ایـن بیمـاری هـا در ارتقـای سطح بهداشت و سلامت جامعه مفید واقع شود.

سپاسگزاری

این مطالعه حاصل طرح تحقیقاتی مصوب دانشـگاه علوم پزشکی یاسوج بود کـه بـا حمایـت مـالی معاونـت تحقیقات و فناوری این دانشگاه انجام شد.

References

1. Alavi S M, Soltani MH. Study on Urethritis and determination of its risk Factor in Male Patients attending infectious disease clinic in Ahvaz, 2005-2007. Ahwaz University Of Medical Sciences Scientific Medical Journal 2007; 8(3): 265-273 (Persian).
2. Choi JY, Cho IC, Lee GI, Min SK. Prevalence and Associated Factors for Four Sexually Transmissible Microorganisms in Middle-Aged Men Receiving General Prostate Health Checkups: A Polymerase Chain Reaction-Based Study in Korea. Korean J Urol 2013; 54(1): 53-58.

3. Jongh D, Le RM, Adam A. Co-Infection with *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* and *Trichomonas Vaginalis* in Symptomatic South Africa Men With Urethritis: Implication for Syndromic Management. The open Tropical Medical 2009; 2: 13-16.
4. El-Gamal AH, Al-Otaibi S, Alshamali A, Abdulrazzaq A, Najem N, Al Fouzan A. Mixed Urethral infection in patients with urethral discharge in Southen region of Kuwait. Indian J Sex Transm Dis 2008; 29(1): 29-32.
5. Fischer N. *Chlamydia trachomatis* infection in cervical intraepithelial neoplasia and invasive carcinoma. Eur J Gynaecol Oncol 2002; 23(3): 247-250.
6. Kevin H, Richard S. Mechanisms of Chlamydia trachomatis Entry into Nonphagocytic Cells. Infect Immun 2007; 75(8): 3925-3934.
7. Annika I. *Chlamydia trachomatis* as a risk factor for infertility in women and men, and ovarian tumor development. Umea University Medical Dissertations 2009; 1255: 1-16
8. Crotchfelt KA, Welsh lE, DeBonville D, Rosenstraus M, Quinn TC. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in genitourinary specimens from men and women by a coamplification PCR assay. J Clin Microbiol 1997; 35(6): 1536-1540.
9. Mahony JB, Luinstra KE, Tyndall M, Sellors JW, Krepel J, Chernesky M. Multiplex PCR for detection of *Chlamydia trachomatis* and *neisseria gonorrhoeae* in genitourinary Specimens. J Clin Microbiol 1995; 33(11): 3049-3053.
10. Brooks G, Butel J, Morse S. Jawetz Melnick & Adelbergs Medical Microbiology. 23th ed. New York: McGraw-Hill Companies; 2004. p. 38-39.
11. Fatholah Zadeh B, Mir Salehian A, Kazemi B, Arshadi H, Pour Akbari B. Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by PCR and Multiplex PCR from non invasive genitourinary specimen of patients with urethritis. J Tehran Uni Med Sci 2004; 62: 449-456(Persian).
12. Zaeimi YJ, Khoramizadeh MR, Badami N, Kazemi B, Aminharati F, Eftekhar *Z*, et al. Comparative Assessment of Chlamydia trachomatis infection in Iranian women with Cervicitis: A cross-Sectional study. Iran J Publ Health 2006; 35(2): 69-75 (Persian).
13. Fallah F, Kazemi B, Goudarzi H, Badami N, Doostdar F, Ehteda A, et al. Detection of Chlamydia trachomatis from urine specimens by PCR in women with cervicitis. Iran J Publ Health 2005; 34(2): 20-26 (Persian).
14. Chamani Tabriz L, Jeddi-Tehrani M, Mosavi-Jarrahi A, Zeraati H, Ghasemi J, Asgari S, et al. The prevalence of Chlamydia trachomatis infection by molecular analysis of urine samples in women attending OB & GYN clinics in Tehran. J Reprod Infertil 2006; 7(3): 234-242 (Persian).
15. Hossein Rashidi B, Chamani Tabriz L, Haghollahi F, Ramezanzadeh F, Shariat M, Rahimi Foroushani A, et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis Infection in Fertile and Infertile Women; A Molecular and Serological Study. J Reprod Infertil 2009; 10(1): 32-41 (Persian).
16. Rassjo EB, Kambugu F, Tumwesigye MN, Tenywa T, Darj E. Prevalence of sexually transmitted infections among adolescents in Kampala, Uganda, and theoretical models for

improving syndromic management. J Adolesc Health 2006; 38(3): 213-221.

17. Levidiotou S, Vrioni G, Papadogeorgaki H, Avdeliodi K, Kada H, Kaparos G, et al. Chlamydia trachomatis infections in Greece: first prevalence study using nucleic acid amplification tests. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24(3): 207-213.
18. Chiang DT, Tan EI, Baldam A. Incidence of Chlamydia infection among asymptomatic women pesented for routine papanicolaou smear: experience in South-Western Victoria, Australia. Rural Remote Health 2006; 6(3): 633.
19. Islaminejad Z, Safarian SH. A preliminary study of the prevalence of gonococcal genital infection in 500 non pregnant women referring to a private and a public clinic in Kerman, Iran. J Kerman Univ Med Sci 1995; 2(3): 135-139 (Persian).
20. Bakhtiari A, Froozjahi AR. The prevalence of gonococcal infection in non pregnant women. Iran J Public Health 2007; 36(2): 64-67 (Persian).
21. HosseinRashidi B, Chamani Tabriz L, Haghollahi F, Jeddi-Tehrani M, Ramezanzadeh F, Rahimi Foroushani A, et al. Prevalence of Neisseria gonorrhea in Fertile and Infertile Women in Tehran. J Reprod Infertil 2009; 9(4): 379-383 (Persian).
22. Workowski KA, Berman SM. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). MMWR Recomm Rep 2006; 55(11): 1-94.
23. Panaretto KS, Lee HM, Mitchell MR, Larkins SL, Manessis V, Buettner PG, et al. Prevalence of sexually transmitted infections in pregnant urban Aboriginal and Torres Strait Islander women in northern Australia. Aust N Z J Obstet Gynaecol 2006; 46(3): 217-224.
24. Nzila N, Laga M, Thiam MA, Mayimona K, Edidi B, Van Dyck E, et al. HIV and other sexually transmitted diseases among female prostitutes in Kinshasa. AIDS 1991; 5(6): 715-721.
25. Ghadimi Z, Soleimani M, Mohseni AH, Majidzadeh K. Design of a PCR method for rapid detection of *Neisseria Meningitidis* bacterium. J Army Univ Med Sci 2012; 10(1): 10-16 (Persian).
26. Ataee R, Mahrabi Tavana A, Hossaini SMJ, Karami A, Safiri Z, Allahverdi M. Simultaneous detection of common bacterial meningitis: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumonia* by multiplex PCR. TRAUMA MONTHLY 2009; 14(3): 119-126 (Persian).