مقاله پژوهشی

بررسی عوامل باکتریایی غیرشایع ایجادکننده عفونت مجاری ادراری و تناسلی در مراجعه‌کنندگان به بیمارستان ایران با روش مولکولی

امیر امامی[۱]، سیدرضا خدمتی[۲*]

[۱]استادیار، بخش میکروب شناسی، مرکز تحقیقات سوختگی و ترمیم زخم، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، ایران

[۲]کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی، پردیس شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۱ اصلاح نهایی: ۱۳۹۹/۰۶/۲۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها بخصوص از نوع عفونت بیمارستانی در انسان، عفونت مجاری ادراری (UTI) است. عوامل ایجادکننده UTI شامل باکتری‌ها، قارچ‌ها و ویروس‌ها است. باکتری‌ها بخصوص *اشریشیا کلی* با حدود ۸۵٪ شایع‌ترین عامل ایجادکننده این نوع عفونت است. سایر باکتری‌ها شامل *کلبسیلا*، *اینتروکوکوس*، *سودوموناس*، *استافیلوکوکوس*، *پروتئوس*، *نایسریا*، *مایکوپلاسما* و *کلامیدیا* هستند. هدف این تحقیق بررسی شیوع باکتری‌های غیرشایع در بروز UTI، با استفاده از روش‌های تشخیص فنوتیپی و ملکولی(PCR) می باشد.

مواد و روشها: در این تحقیق طی شش ماه، ۲۳۵ نمونه ادرار از مراجعین به بیمارستان ایران شیراز که علائم UTI داشتند، جمع‌آوری و همزمان با کشت میکروبی در آزمایشگاه، استخراج DNA با استفاده از کیت‌های استخراج انجام و آزمایش PCR با پرایمرهای اختصاصی برای تشخیص این باکتری‌ها در هر نمونه انجام شد.

یافته‌ها: از ۲۳۵نمونه، ۱۳۷ نمونه (۵۸/۲۹٪) حاوی باکتری‌های غیرشایع UTI بودند. شیوع باکتری‌های غیرشایع به ترتیب بدین شرح بود: *سودوموناس‌آئرژینوزا* ۷۴ نمونه (۳۱/۴٪)، *اینتروکوکوس‌فکالیس* ۶۱ نمونه (۲۵/۹٪)، *کلبسیلاپنومونیه* ۳۲ نمونه (۱۳/۶٪)، *استافیلوکوکوس‌ساپروفتیکوس* ۲۴ نمونه (۱۳/۲٪)، *پروتئوس-میرابیلیس* ۱۳ نمونه (۵/۵٪)، *نایسریاگنوره‌آ* ۷ نمونه (۲/۹٪)، *کلامیدیاتراکوماتیس* و *مایکوپلاسما* هر کدام ۵ نمونه (۲/۱٪). با روش معمول آزمایشگاهی (تشخیص فنوتیپی) فقط ۱۹/۷٪ از نمونه‌های حاوی باکتری غیرشایع تشخیص داده شد.

نتیجه گیری: میزان شیوع این باکتری‌ها با توجه به موقعیت جغرافیایی، سطح بهداشت، کنترل بهداشت و سطح فرهنگ هر کشور متفاوت می‌باشد و تأخیر در شناسایی دقیق این باکتری‌ها باعث افزایش مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های تجویزی توسط پزشک می‌شود.

واژه های کلیدی: *عفونت ادراری، باکتری‌های غیرشایع، تشخیص مولکولی و فنوتیپی*

* *نویسنده مسئول:* سید رضا خدمتی،کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی پردیس شیراز، ایران.

تلفن: 09172259291، Email: s.reza.khedmati@gmail.com

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

مقدمه

عفونت مجاری ادراری (UTI) به حضور پاتوژن‌های میکروبی درون مجاری ادراری اطلاق می‌شود و یکی از شایع‌ترین عفونت‌ها در بیماران سرپایی و یا بستری در بیمارستان است. از دیدگاه میکروبیولوژیکی UTI هنگامی رخ می‌دهد که میکروارگانیسم‌های پاتوژن در ادرار، مجاری ادراری، مثانه، کلیه و یا پروستات مشاهده و جداسازی شوند (Naveen and Mathai, 2005). سالیانه حدود ۱۰۹ میلیون نفر در دنیا به عفونت مجاری ادراری مبتلا و بیش از ۶ میلیون دلار هزینه بر اقتصاد کشورها تحمیل می‌شود (Wright and Safranek, 2006). *اشریشیا کلی* (*E.coli*) علت ۸۰ تا ۸۵٪ و *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* علت ۵ تا ۱۰٪ UTI است. این عفونت‌ها ندرتاً ممکن است به علت عفونت ویروسی یا قارچی باشند. سایر علل باکتریایی بروز UTI عبارتند از: *کلبسیلا پنومونیه*، *پروتئوس میرابلیس*، *سودوموناس ائروژینوزا* و *انتروکوکوس فکالیس* این موارد چندان معمول نبوده و به‌طور معمول به ناهنجاری‌های سیستم ادراری، آمیزش جنسی، نگه داشتن ادرار در طولانی مدت، سوند ادراری، عدم رعایت مسائل بهداشتی و کوتاه بودن مجاری ادراری در خانم‌ها مربوط هستند. عفونت دستگاه ادراری ناشی از *استافیلوکوکوس آرئوس* به طور معمول به‌صورت عوارض جانبی عفونت‌های منتقله از راه خون رخ می‌دهد (Amdekar *et al*., 2011; Nicolle *et al*., 2008; Lane and Takhar, 2011; Salvator *et al., 2011*). باکتری *مایکوپلاسما هومینیس* (*Mycoplasma hominis*) از خانواده *مایکوپلاسماسه*، پاتوژن‌های فرصت‌طلب دستگاه ادراری- تناسلی می‌باشند. از دلایل عمده بیماری‌زایی این باکتری‌ها می‌توان به تغییر شرایط واژن و جایگزینی آنها به جای فلور نرمال از جمله لاکتوباسیلوس‌ها اشاره نمود. تشخیص سریع مایکوپلاسماهای تناسلی در بیماران دارای UTI به دلیل نقش این باکتری در سقط جنین، تب بعد از زایمان، زایمان پیش از موعد و کوریوآمنیوئیت بسیار حائز اهمیت است(Najar Peerayeh and Samimi. 2007; Kayser *et al.,* 2005; Donders *et al.,* 2000; Yoon *et al.,* 2000). *نایسریا گنوره‌آ* دومین عامل ایجاد عفونت تناسلی و سیستمیک بعد از *کلامیدیا تراکوماتیس* در سراسر دنیا می‌باشد. در زنان تقریباً ۵۰ درصد عفونت *گنوره‌آ* بدون علامت می‌باشد. عوارضی شامل ناباروری، مقاربت دردناک، زایمان زودرس، پارگی کیسه آمنیوتیک و انتقال به جنین در حین زایمان و سوزاک چشمی نوزاد است (CDC, 2006; CDC, 2005; Penna *et al.,* 2000). *کلامیدیا تراکوماتیس* شایع‌ترین عامل باکتریایی عامل بیماری-های مقاربتی (Sexually Transmitted Disease) است

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

که یک پاتوژن اجباری داخل سلولی است (حیدر، ۱۳۹۰). علائم UTI شامل: درد در ناحیه کلیه و لگن، تکرر ادرار، سوزش هنگام ادرار، وجود ترشحات غیرطبیعی در ادرار، تغییر رنگ و بوی بد ادرار است (Colgan *et al*., 2011; Nicolle *et al*., 2014; Salvator *et al*., 2011; Arellano and Ronald., 2011)

مواد و روشها

جمع آوری نمونه‌ها

در این مطالعه مقطعی- تجربی، جمع‌آوری نمونه‌های ادرار در بازه زمانی شش ماهه از ابتدای سال ۱۳۹۶تا شهریور ماه ۱۳۹۶ و از جامعه مورد بررسی که ۲۳۵ نفر از مراجعه‌کنندگان دارای علائم UTI به بیمارستان ایران شهر شیراز بود، انجام شد. در آزمایشگاه بیمارستان کشت نمونه‌ها در محیط‌های EMB (ائوزین متیلن بلو آگار) و بلاد آگار بلافاصله پس از نمونه-گیری انجام و برابر پروتکل استاندارد کشت و تشخیص میکروبی نمونه‌های ادراری انجام و باقیمانده نمونه جهت استخراج DNA در یخچال قرار گرفت. همچنین بلافاصله پس از کشت، استخراج و خالص‌سازی DNA از نمونه‌های ادراری با استفاده از کیت استخراج یکتا تجهیز ساخت کشور ایران که مخصوص مایعات حاوی DNA می‌باشد، بر اساس دستورکار کیت انجام شد.

PCR و پرایمرهای مورد استفاده

ضمن بررسی مقالات و شناسایی پرایمرهایی که بهترین عملکرد در تشخیص اختصاصی هر باکتری را داشتند (جدول۱)، شرایط بهینه PCR با این پرایمرهای اختصاصی و با استفاده از سوش استاندارد هرباکتری ارزیابی، بهترین باندهای تشخیص برای باکتری‌ها به ترتیب ذکرشده در جدول ۱ به این شرح بود: الف) مرحله آغاز: برای تمامی نمونه‌ها ۹۴درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰دقیقه، ب) مرحله دناتوره شدن: دمای ۹۴درجه سانتی گراد، زمان برای باکتری‌های ردیف ۱، ۳ و ۴ به مدت۵۰ثانیه، سایر باکتری‌ها ۴۵ ثانیه، ج) مرحله اتصال: برای همه باکتری‌ها ۳۵ دوره، باکتری‌های ردیف۱، ۲ و ۷ دمای ۵۵ درجه‌سانتی‌گراد، ردیف۳، ۵ و ۶ دمای ۵۸ درجه‌سانتی‌گراد، ردیف ۴ دمای ۴۶ درجه‌سانتی‌گراد و ردیف ۸ دمای ۵۴ درجه‌سانتی‌گراد، د)مرحله سنتز: دما ۷۲درجه سانتی‌گراد و برای باکتری ردیف ۱ به مدت ۷۵ ثانیه، باکتری ردیف۲ مدت ۵۰ ثانیه، باکتری‌های ردیف۳ و ۴ به مدت ۶۰ ثانیه و سایر باکتری‌ها به مدت ۴۵ ثانیه و و) مرحله طویل سازی نهایی: دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۰دقیقه برای همه باکتری‌ها.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

ردیف	باکتری	توالی رفت	توالی برگشت	طول قطعه	رفرنس
۱	*کلبسیلا پنومونیه*	GTCGGTAGCTGTTAAGCCAGGGGCGGTAGCG	TATTCATCAGAAGCACGCAGCTGGGAGAAGCC	۱۱۲۱	Abdul Razzaq *et al.*, 2013
۲	*پروتئوس میرابیلیس*	GTATGTCTGCACCTGCGGTA	TTTGAGTTTGTCTTCTGGTAGTGC	۴۶۴	Badi *et al.*, 2014
۳	*سودوموناس آئرژینوزا*	GGGGGATCTTCGGACCTCA	TCCTTAGAGTGCCCACCCG	۹۵۶	Spilker *et al.*, 2004
٤	*انتروکوکوس فکالیس*	ATCAAGTACAGTTAGTCT	ACGATTCAAAGCTAACTG	۹۴۱	Vankerckhoven *et al.*, 2004
٥	*استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس*	GTTGAAGCAATATTGAAGAAAGC	TTCTTCATTTAGTTTACCCATATCAAC	۳۱۵	King *et al.*, 2011
٦	*مایکوپلاسما*	AGTTGATGAAACCTTAACCCCTTG	CATTACCAGTTAAACCAAAGCCT	۳۴۷	Lee *et al.*, 2007
۷	*کلامیدیا تراکوماتیس*	CTAGGCGTTTGTACTCCGTCA	TCCTCAGGAGTTTATGCACT	۱۹۹	Lee *et al.*, 2007
۸	*نایسریا گنوره‌آ*	CAACTATTCCCGATTGCGA	GTTATACAGCTTCGCCTGAA	۲۶۰	Ho *et al.*, 1992

جدول ۱. توالی پرایمرهای استفاده شده برای شناسایی باکتری‌های مورد نظر

نتایج

کشت

با توجه به مورفولوژی کلنی‌های جداسازی شده از محیط‌های کشت (شکل ۱) باکتری‌های *کلبسیلا پنومونیه* (۲ نمونه معادل ۰/۸۵٪)، *سودوموناس آئرژینوزا* (۱۳ نمونه معادل ۵/۵٪) و *استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* (۱۴ نمونه معادل ۵/۹٪) شناسایی و تائید شد. بدون احتساب باکتری *اشریشیاکلی*، در مجموع ۲۹ نمونه از ۲۳۵ نمونه با کشت مثبت باکتری‌های غیرشایع تشخیص داده شدند.

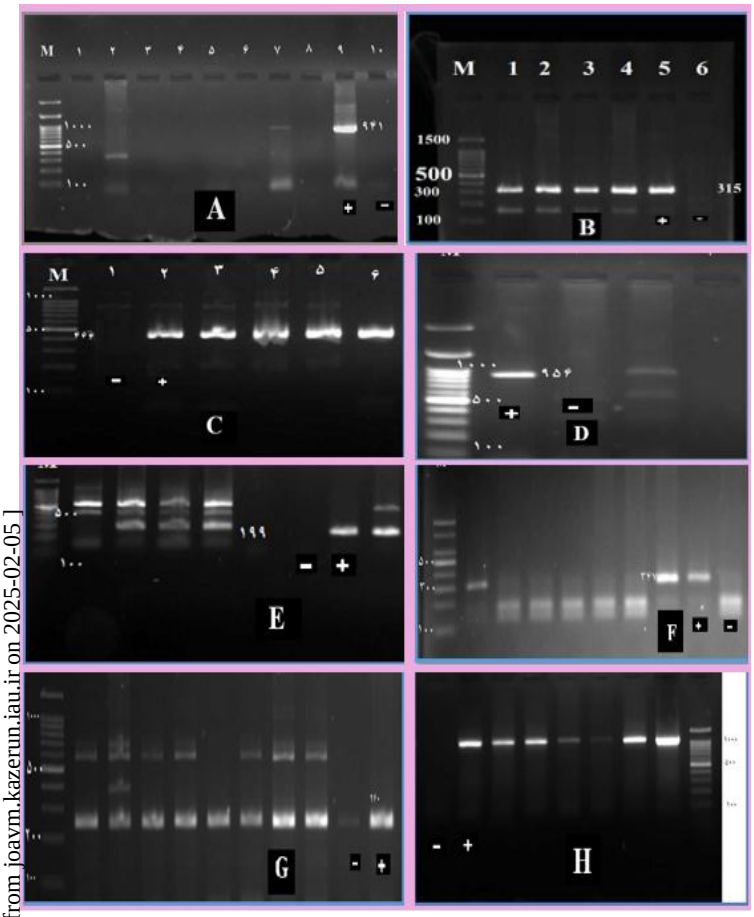
شکل ۱. *نتایج کشت نمونه‌های حاوی باکتری‌های غیرشایع. ۱-کلنی کلبسیلا پنومونیه، ۲-کلنی سودوموناس آئرژینوزا و ۳-کلنی استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس.*

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

شناسایی مولکولی باکتری‌ها

بعد از استخراج DNA، ۸ تست PCR جداگانه برای نمونه‌ها (هر تست برای تشخیص یک نوع باکتری غیرشایع) با نمونه-های کنترل مثبت و منفی از سوش استاندارد باکتریایی انجام گردید. نتایج PCR در شکل‌های۲ تا ۹ آورده شده است. این نتایج حاکی از آن بود در ۵۴ نمونه معادل ۲۲/۹٪ نمونه‌ها بیش از یک باکتری غیرشایع مولد عفونت ادراری (حداقل دو باکتری غیرشایع) وجود داشت. مجموعاً در ۱۳۷ نمونه از ۲۳۵ نمونه بررسی شده (معادل۵۷/۳٪) باکتری‌های غیرشایع شناسایی شد. این در حالی است که تنها ۲۹ نمونه از ۱۳۷ نمونه(۲۱٪/۶) که وجود باکتری‌های غیرشایع در آنها قطعی بود در کشت آزمایشگاهی تشخیص داده شده است. در شکل ۱ تنوع باکتریهای شناسایی شده نمایش داده شده است.

در شکل ۲ نمونه تست PCR تشخیصی باکتری‌های مختلف نمایش داده شده است. در همه شکل‌ها M مارکر، + نمونه کنترل مثبت و –نمونه کنترل منفی هستند. قسمت A تست *PCR* باکتری *اینتروکوکوس‌فکالیس*، قسمت B باکتری *استافیلوکوکوس‌ساپروفتیکوس*، قسمت C باکتری *پروتئوس-میرابیلیس*، قسمت D باکتری *سودوموناس‌آئرژینوزا*، قسمت E باکتری *کلامیدیاتراکوماتیس*، قسمت F باکتری *مایکوپلاسما*، قسمت G باکتری *نایسریاگنوره‌آ*، قسمت H باکتری *کلبسیلاپنومونی* می باشد. طول باندهای ایجادشده در جدول ۱ نیز ذکرشده است.



شکل ۲. نتایج PCR نمونه های باکتریایی

در این بررسی شیوع باکتری‌های *نایسریا گنوره‌آ* و *اسافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* در میان مردان بیشتر از نسبت شیوع این دو باکتری در میان زنان بوده است. در مقابل شیوع باکتری‌های *مایکوپلاسما*، *کلامیدیا تراکوماتیس*، *پروتئوس میرابیلیس*، *کلبسیلا پنومونیه*، *اینتروکوکوس فکالیس* و *سودوموناس آئرژینوزا* در میان زنان بیشتر از نسبت شیوع این باکتری‌ها در مردان بوده است.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

در این تحقیق مراجعین مبتلا به UTI در ۶ بازه سنی ده ساله تقسیم بندی شدند: افراد زیر ۱۰ سال (۱۸ نفر)، افراد با ۲۰-۱۰ سال سن (۲۴ نفر)، افراد با ۳۰-۲۰ سال سن (۷۵ نفر)، افراد با ۴۰-۳۰ سال سن (۵۶ نفر)، افراد با ۵۰-۴۰ سال سن (۳۸ نفر) و افراد با سنی بالاتر از ۵۰ سال (۲۴ نفر). باکتری *اینتروکوکوس فکالیس* در بازه‌های سنی ۳۰-۲۰ سال و ۴۰-۳۰ سال، باکتری *سودوموناس آئرژینوزا* در بازه‌های سنی ۲۰-۱۰ سال، ۵۰-۴۰ سال و بالای ۵۰ سال شیوع بیشتری نسبت به سایر باکتری‌های در افراد داشته است. باکتری‌های غیرشایع ایجادکننده UTI در بازه‌های سنی زیر ۱۰ سال و بالای ۵۰ سال تنوع کم‌تری نسبت به سایر رده‌های سنی که بلحاظ جنسی فعال بودند، داشته است. در زنان باردار که تعداد آن‌ها در این بررسی ۲۸ نفر بود، باکتری *نایسریا گنوره‌آ* شناسایی نشد. باکتری‌های *سودوموناس آئرژینوزا* و *اینتروکوکوس فکالیس* هر کدام با ۴۲/۸٪، باکتری *استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* با ۱۴/۲٪، باکتری‌های *پروتئوس میرابیلیس* و *کلبسیلا پنومونیه* هر کدام با ۱۰/۷٪، باکتری‌های *کلامیدیا تراکوماتیس* و *مایکوپلاسما* هر کدام به میزان ۳/۵٪ در میان زنان باردار شیوع داشتند. همچنین در این بررسی ۸۲ نفر از افراد مبتلا به UTI، سابقه قبلی ابتلا داشتند. این افراد بر اساس آخرین سابقه عفونت به سه دسته تقسیم شدند. همه باکتری‌های غیرشایع در افرادی که شش ماه قبل از مراجعه به بیمارستان و انجام آزمایش تشخیص مولکولی، سابقه عفونت داشته اند، مشاهده شد.

بحث

تکرر ادراری- وجود خون در ادرار- ادرار شیری رنگ، درد در ناحیه لگن و تحتانی از علائم کلینیکی UTI می‌باشند (Poulsen *et al.*, 2012). در این بررسی بر اساس علائم بالینی شامل درد در ناحیه لگن و کلیه، تکرر ادرار، وجود ترشحات رنگی و تغییر رنگ در ادرار، تغییر بو در ادرار، احساس سوزش هنگام ادرار و وجود علائم کلینیکی- آزمایشگاهی (وجود گلبول سفید و باکتری در نمونه ادرار بیش از حد معمول) اقدام به شناسایی افراد مبتلا به عفونت مجاری ادراری شد که نتایج بررسی‌های شناسایی مولکولی، حکایت از وجود باکتری‌های غیرشایع به میزان ۵۸/۳٪ معادل ۱۳۷ نمونه از ۲۳۵ نمونه داشت.

براساس مطالعات اخیر مشخص شده است در ایالات متحده آمریکا عفونت‌های ادراری باعث حدود ۷ میلیون مراجعه به پزشک یک میلیون مراجعه به اورژانس و یک هزار بستری شدن در بیمارستان طی یک سال بوده است. عفونت‌های ادراری ممکن است ۱۰ درصد افراد را در سن کودکی مبتلا کند (Williams and Schaeffer, 2004; Salvatore et al., 2011) در این بررسی حدود ۸٪ مبتلایان، کودکان

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

زیر ۱۰ سال بودند و در تحلیل نتایج شناسایی مولکولی مشخص شد از این تعداد کودک، ۵۵/۵٪ (در ۱۰ نمونه از۱۸نمونه) حاوی باکتری‌های غیرشایع ایجاد کننده UTI بوده است.

بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد ۵۰ درصدزنان جوان حداقل یکبار UTI را تجربه کرده‌اند و حداقل یکی از سه زن جوان با سن۲۴سال به دلیل UTI نیاز به درمان آنتی‌بیوتیکی داشته است (Rosen *et al.*, 2007; Weichhart *et al.*, 2008; Dielubanza and Schaeffer, 2011). بررسی جنسیت افراد در این مطالعه ، حاکی از آن بود ۶۴٪ افراد (حدود $\frac{2}{3}$) زنان و ۳۶٪ (حدود $\frac{1}{3}$) را مردان تشکیل داده‌اند.

بررسی‌های انجام شده در ایران حاکیست قارچ *کاندیدا* و باکتری *اشریشیا کلی* فراوانترین عامل UTI بوده و باکتری های *کلبسیلا*، *پروتئوس*، *اسینتو باکتر*، *اینتروباکتر*،*سودوموناس* از باکتری های غیرشایع مولدUTI بوده اند (Tajbakhsh *et al.*, 2015; Farajnia *et al.*, 2009). در این بررسی جز باکتری *اشریشیا کلی* که مورد بررسی قرار نگرفت، به ترتیب باکتری *سودوموناس آئرژینوزا* با ۳۱/۴٪، *اینتروکوکوس فکالیس* با ۲۵/۹٪، *کلبسیلا پنومونیه* با ۱۳/۶٪، *استافیلوکوکوس ساپروفتیکوس* با ۱۰/۲٪، *پروتئوس میرابیلیس* با۵/۵٪، *نایسریا گنوره‌آ* با ۲/۹٪ و باکتری‌های *مایکوپلاسما* و *کلامیدیا تراکوماتیس* هرکدام با ۲/۱٪ بیشترین شیوع را داشتند.

عفونت‌های دستگاه ادراری شایع‌ترین عفونت باکتریایی در زنان است(Nicolle, 2008). این عفونت‌ها اغلب بین سنین ۱۶ و ۳۵ سالگی رخ می‌دهد، و ۱۰٪اززنان در هر سال به عفونت دچار می‌شوند و ۶۰٪ آن‌ها در طول زندگی خود یکبار دچار عفونت می‌گردند (Colgan *et al.*, 2011). بروز مجدد بیماری امری شایع است و نزدیک به نیمی از افراد در طی یک سال برای بار دوم دچار عفونت می‌شوند. عفونت‌های دستگاه ادراری در زنان نسبت به مردان چهار برابر بیشتر رخ می‌دهد. در این تحقیق ۶۴ درصد زنان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری بودند. پیلونفریت به میزان۲۰-۳۰ بار کمتر اتفاق می‌افتد. این بیماری شایع‌ترین علت عفونت‌های مبتلایی در بیمارستان بوده و حدود ۴۰٪ موارد آن را تشکیل می‌دهند (Woodford and George, 2011). با افزایش سن، میزان باکتری بدون علامت در ادرار، از دو تا هفت درصد در زنانی که در سنین باروری هستند و به میزان ۵۰٪در زنان مسن درخانه‌های سالمندان بیشتر است. میزان باکتری بدون علامت در ادرار مردان ۷۵ سال به بالا بین ۷-۱۰٪ است (Dielubanza and Schaeffer, 2011).در این بررسی، مردان و زنانی که بین ۲۰ تا ۴۰ سال سن داشتند شامل۵۵/۷٪ از

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

کل افراد بوده(۱۳۱نمونه از ۲۳۵ نمونه) و در ۶۲/۶٪ این افراد معادل۸۲ نمونه از۱۳۱، نمونه باکتری‌های غیرشایع شناسایی شده است. جالب آنکه تمام باکتری‌های غیرشایع هشت گانه در افراد فعال از نظر جنسی که بین ۲۰ تا۴۰ سال سن داشتند، شناسایی شد بنابراین وجود باکتری‌های غیرشایع هم به لحاظ تنوع و هم به لحاظ میزان شیوع، در افراد فعال از نظر جنسی بیشترین میزان آلودگی را داشته است.

در زنانی که از لحاظ جنسی فعال هستند فعالیت جنسی عامل ۷۵ الی ۹۰ درصد عفونت مثانه است. تغییرPH و تغییرات سطح استروژن بخاطر مصرف داروهای ضدبارداری، انسداد مجاری ادراری- دفع ناقص ادرار- ساختار و آناتومی‌های ناهنجار مجاری ادراری و عوامل خطرسازی مانند سابقه عفونت ادراری، زمینه‌های ژنتیکی ،تعداد دفعات آمیزش جنسی خطر ابتلا به عفونت را افزایش می‌دهد. ادرار کردن بلافاصله پس از مقاربت‌های جنسی، نوع لباس زیر مورد استفاده، شیوه‌های بهداشت شخصی پس از ادرار و مدفوع نیز از عوامل موثر در بروز UTI است. در خانم‌ها پس از یائسگی فعالیت جنسی تاثیری بر بروز UTI ندارد. اگر UTI در بخش فوقانی(کلیه) باشد، در فرد مبتلا به دیابت شیرین- زنان باردار- مردان و افراد دچار نقص ایمنی شرایط پیچیده تری را دنبال می کند (Colgan *et al.,* 2011; Salvatore *et al.,* 2011; Konder *et al.,* 2010). در این بررسی از میان زنان (۱۵۲نفر)، در۹۲ نفر معادل ۶۲/۵٪ باکتری‌های غیرشایع شناسایی شد. در میان زنانی که از نظر جنسی فعال و سنی بین ۲۰ تا۴۰ سال داشتند (از۸۴ نفر)، در۵۶ نفر معادل ۶۶/۶٪ باکتری‌های غیرشایع شناسایی شده است که بیانگر شیوع قابل توجه عفونت با باکتری‌های غیرشایع در بین زنان فعال از نظر جنسی می باشد.

تا۶۰ درصد زنانی که به UTI مبتلا می‌شوند، دچار عود UTI می‌شوند. ارگانیسم‌هایی شناسایی شده عامل عود UTIعمدتاً همان ارگانیسم‌هایی هستند که باعث UTI اولیه شده اند. فراوانی رابطه‌های جنسی ،قوی‌ترین عامل برای پیش بینی عود عفونت‌های ادراری در بیمارانی است که با سوزش مکرر ادرار مراجعه می‌کنند. مشاهده‌ها نشان داده است ۲۷ درصد زنان جوان دانشجویی که اولین بار دچار UTI شده اند حداقل یک کشت تائید کننده عود عفونت در ۶ ماه بعدی داشتند و ۷/۲ درصد همین زنان دچار عود دوم شدند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهد در بخش مراقبت‌های اولیه ۵۳ درصد از زنان بالای ۵۰ سال و ۳۶ درصد زنان جوان تر در یک سال دچار عود عفونت شدند (Salvatore *et al.,* 2011; Konder *et al.,* 2010). در این بررسی از میان زنان(۱۵۲نفر)، ۶۶نفر معادل۴۳/۴٪ سابقه قبلی ابتلا به UTI داشته اند. از میان این ۶۶

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

نفر زن که دارای سابقه قبلی ابتلا به UTI داشته اند، در ۵۰ نفر از این افراد معادل۷۵/۷٪ باکتری‌های غیرشایع شناسایی شده است و این بدین معنی است $\frac{3}{4}$ زنانی که سابقه قبلی ابتلا به UTI داشته اند، نمونه ادرار آنها حاوی باکتری‌های غیرشایع ایجاد کننده UTI بوده است.

فرج نیا و همکارانش در سال ۲۰۰۹ با تحقیق بر روی نمونه‌ها ی عفونت‌های ادراری شمال کشور ایران در رده‌های سنی زیر ده سال، ۱۰-۲۰، ۲۰-۳۰، ۳۰-۴۰، ۴۰-۵۰ و بالای ۵۰ سال به ترتیب برای باکتری *کلبسیلا* ۲/۷، ۱۱/۵، ۹/۷، ۱۱/۳، ۱۷/۹ و ۳۰/۳ و *پروتئوس* ۲/۷، ۱/۳، ۱۰، ۱/۹، ۰ و ۱/۶ و *سودوموناس* ۶/۷، ۱/۳، ۰/۵، ۰، ۱/۲، ۹/۵ و *استافیلوکوکوس* ۱/۳، ۰، ۲/۱، ۰، ۲/۴ و ۳/۱ و *اینتروکوکوس* ۰، ۱/۳، ۱۰، ۳/۸، ۱/۲ و ۱/۲ درصد بیان کردند که بیشترین درصد در خانم‌ها گزارش گردیده است که ارقام در تحقیق حاضر برای رده‌های سنی زیر ده سال، ۱۰-۲۰، ۲۰-۳۰، ۳۰-۴۰، ۴۰-۵۰ و بالای ۵۰ سال به ترتیب برای باکتری *کلبسیلا* ۹/۳، ۲۱/۸، ۲۱/۸، ۲۱/۸، ۲۱/۸ و ۳/۱ و *پروتئوس* ۱۵/۳، ۷/۷، ۳۸/۴، ۰، ۱۵/۳، ۲۱/۸ و ۰ و *سودوموناس* ۸/۱، ۱۲/۱، ۲۵/۶، ۲۴/۳، ۱۷/۵، ۱۲/۱و *استافیلوکوکوس* ۰، ۱۲/۵، ۳۷/۵، ۳۷/۵، ۴/۱ و ۸/۳ و *انتروکوکوس* ۹/۸ ۱۳/۱، ۰، ۳۲/۷، ۳۴/۴، ۳/۲ و ۶/۵ درصد گزارش گردیده است که در کل عوامل متعددی از جمله سابقه بیماری، تکرار عفونت، مصرف آنتی بیوتیک سنگ کلیه، مقاربت و دیگر عوامل در تغییر این اعداد می‌تواند دخیل باشد ولی در انتها و گزارش‌های متعدد از این عفونت اعداد متفاوتی از وجود هر باکتری در UTI به ما می‌دهد که منطقه مورد بررسی موثر در تغییر این اعداد و ارقام می باشد (فرج نیا و همکاران، ۲۰۰۹).

نتیجه گیری

به طور کلی آنچه که در این پژوهش و مطالعات قبلی مشخص می‌شود، این مسأله است که میزان شیوع این باکتری ها با توجه به موقعیت جغرافیایی، سطح بهداشت، کنترل بهداشت و سطح فرهنگ هر کشور متفاوت می باشدکه تاخیر در شناسایی این باکتری‌ها باعث افزایش مقاومت باکتریها نسبت به آنتی بیوتیک‌های غیرموثر می شود. از آنجایی که UTI در زنان به ویژه زنان باردار شیوع بالایی دارد، بدیهی است اگر به این مساله به طور جدی رسیدگی نشود، در سالیان آتی در امر بهداشت زنان با مشکل بزرگی روبرو خواهیم شد. بنابراین توصیه می‌شود که پزشکان کشور حتی‌المقدور برای تجویز دارو جهت درمان UTI حتماً با آزمایشگاه‌های تشخیص طبی مولکولی در ارتباط باشند و انتخاب و تجویز دارو را براساس شناسایی عامل بیماری قرار دهند.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

تشکر و قدردانی

از ریاست محترم بیمارستان‌های ایران، مسلیمن و درمانگاه تخصصی بقیه اله شیراز همچنین مسئولین آزمایشگاه و کارکنان پذیرش این واحدها به جهت مساعدت و همکاری بی‌دریغ در انجام آزمایشات و تکمیل پرسشنامه از مراجعین تشکر و قدردانی بعمل می آید.

تعارض منافع

تعارضی در منافع وجود ندارد.

References

حیدر ز. کلامیدیا تراکوماتیس. نشریه تخصصی زنان و مامایی ایران، ۱۳۹۰؛ ۶(۱): ۴۱-۴۶.

فرج نیا ف.، اظهری ص. و رهنما م .(۱۳۸۹). بررسی شیوع بتا لاکتامازهای وسیع الطیف تیپ ۱ و ۲ و اینتگرون تیپ ۱ درسویه های *اسنیتوباکتر* بومانی جداشده از بیمارستان امام رضای تبریز. فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحدزنجان، ۱۳۸۹؛ ۴(۴): ۶-۱۳.

Abdul Razzaq MS., Kadhim Trad J. and Ker-Alla Al-Maamory EH. Genotyping and Detection of Some Virulence Genes of Klebsiella pneumonia Isolated from Clinical Cases. Med J Babylon, 2013; 10(2): 387-399.

Amdekar S., Singh V. and Singh DD. Probiotic therapy: immunomodulating approach toward urinary tract infection. Curr microbiol, 2011; 63(5): 484–90.

Arellano Ronald S. Non-vascular interventional radiology of the abdomen. New York: Springer. 2011; 67: 71.

Badi SA., Nowroozi J. and Sepahi AA. Detection luxS, qseC and rsbA genes' band in Proteus mirabilis and Escherichia coli isolated frozm urinary tract infections. Pajoohandehjournal, 2014; 19(3): 142-147.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention (CDC), (Workowski KA, BermanSM. Sexually transmitteddiseases treatment guidelines. MMWR RecommRep, 2006; 55(RR-11): 1-94 .

CDC. Sexually transmitted disease surveillance. Atlanta,GA: USDepartment of Health and HumanSer, Centers for Disease Control and Prevention, 2005 .

Colgan R., Williams M. and Johnson, JR. Diagnosis and treatment of acute pyelonephritis in women. Am Fam physician, 2011; 84(5): 519–26.

Dielubanza, EJ. and Schaeffer AJ. Urinary tract infections in women. Med Clin North Ame, 2011; 95(1): 27–41.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

Donders GG, Van Bulck B, Caudron J, Londers L, Vereecken A, Spitz B. Relationship of bacterial vaginosis and mycoplasmas to the risk of spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol. 2000; 183(2): 431-437.

Farajnia S., Alikhani MY., Ghotaslou R., Naghili B. and Nakhlband A. Causative agents and antimicrobial susceptibilities of urinary tract infections in the northwest of Iran. Int J Infect Dis, 2009; 13(2): 140-4.

Ho BS., Feng WG., Wong BK. and Egglestone SI. Polymerase chain reaction for the detection of Neisseria gonorrhoeae in clinical samples. J Clin Pathol, 1992; 45(5): 439-42.

Kayser F H. *Mycoplasma*. In: Kayser F H, Bienz K A, Eckert J, Zinkernagel R M. Medical Microbiology. 9th edition, Germany, 2005; 340-42.

King NP., Sakinç T., Ben Zakour NL., Totsika M., Heras B., Simerska P., et al. Characterisation of a cell wall-anchored protein of Staphylococcus saprophyticus associated with linoleic acid resistance. BMC Microbiol, 2012; 12: 8.

Konder cm. and Gupton EKT. Recurrent urinary tract infections in women: diagnosis and management. Am Fam Physician, 2010; 82: 638-43.

Lane DR. and Takhar SS. Diagnosis and management of urinary tract infection and pyelonephritis. Emerg Med clin N Am, 2011; 29(3): 539-52.

Lee SR., Chung JM. and Kim YG. Rapid one step detection of pathogenic bacteria in urine with sexually transmitted disease (STD) and prostatitis patient by multiplex PCR assay (mPCR). J Microbiol, 2007; 45: 453-459.

Najar Peerayeh SH. and Samimi R, Detection of Ureaplasma Urealyticum in Clinical Samples from Infertile Women by Polymerase Chain Reaction. Int J Pharm Thecnol, 2007; 6(1): 23-26.

Naveen R. and Mathai E. Some virulence characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* in different patient groups. Indian J Med Res, 2005; 122(2): 143.

Nicolle LE. Catheter associated urinary tract infections. Antimicrob Resist Infect Control, 2014; 3: 23.

Nicolle LE. Uncomplicated urinary tract infection in adults including uncomplicated pyelonephritis. Urol Clin North Am, 2008: 35(1): 1-12.

Penna GO., Hajjar LA. and Braz TM. [Gonorrhea]. Rev SocBras Med Trop, 2000; 33(5): 451-64.

Poulsen LL., Bisgaard M., Son NT., Trung NV., An HM. And Dalsgaard A. Enterococcus and Streptococcus spp. associated with chronic and self-medicated urinary tract infections in Vietnam. BMC Infect Dis, 2012; 12: 320.

Rosen DA., Hooton TM., Stamm WE., Humphrey PA. and Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. PLoS Med, 2007;4(12): e329.

Salvatore S., Salvatore S., Cattoni E., Siesto G., Serati M., Sorice P., et al. Urinary tract infections in women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011; 156(2): 131-6.

Spilker T., Coenye T., Vandamme P. and LiPuma JJ. PCR-based assay for differentiation of Pseudomonas aeruginosa from other Pseudomonas species recovered from cystic fibrosis patients. J Clin Microbiol, 2004; 42(5): 2074-9.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]
[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

Tajbakhsh E., Tajbakhsh S. and Khamesipour E. Isolation and molecular detection of gram negative bacteria causing urinary tract infection in patients referred to shahrekord hospitals, Iran. Iran Red Crescent Med J. 2015; 17(5): e24779.

Vankerckhoven V., Van Autgaerden T., Vael C., Lammens C., Chapelle S., Rossi R., et al. Development of a multiplex PCR for the detection of asa1, gelE, cylA, esp, and hyl genes in enterococci and survey for virulence determinants among European hospital isolates of Enterococcus faecium. J Clin Microbiol, 2004; 42(10): 4473-9.

Weichhart T., Haidinger M., Hörl WH. and Säemann MD. Current concepts of molecular defence mechanisms operative during urinary tract infection. Eur J Clin Invest, 2008; 38(Suppl 2): 29-38.

Williams DH. and Schaeffer AJ. Current concepts in urinary tract infections. Minerva Urol Nefrol, 2004; 56: 15-31.

Woodford HJ. and George J. Diagnosis and management of urinary infections in older people. Clin Med (Lon), 2011; 11(1): 80-3.

Wright OR. and Safranek S. Urine dipstick for diagnosing urinary tract infection. Am Fam Phys, 2006; 73(1): 129-131.

Yoon BH., Romero R., Kim M., Kim EC., Kim T., Park JS., et al. Clinical implications of detection of Ureaplasma urealyticum in the amniotic cavity with the Polymerase chain reaction. Am J Obstet Gynecol, 2000; 183(5): 1130-7.

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]

Journal of Alternative Veterinary Medicine
(JOAVM) Winter 2020; 3(7): 401-413

Research Article

Evaluation of the uncommon bacterial pathogens in urogenital infection of patients referred to Iran Hospital with phenotypic and molecular methods

Amir Emami [1], Seyed Reza Khedmati[2*]

[1]Assistant Professor, Department of Microbiology, Burn and Wound Healing Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Iran

[2]Master of Microbiology, Islamic Azad University of shiraz, Iran

Received: 01/Jul/2020 Revised: 16/Sep/2020 Accepted: 14/Oct/2020

Abstract

Background and aim: One of the most common infections, especially nosocomial infections in humans, is urinary tract infection (UTI). UTI-causing agents include bacteria, fungi and viruses. Bacteria, especially *Escherichia* coli with about 85% is the most common cause of this type of infection. Other bacteria include *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Neisseria*, *Mycoplasma* and *Chlamydia*. The aim of this study is evaluation the prevalence of uncommon bacteria in the incidence of UTI using phenotypic and molecular (PCR) methods detection.

Materials and methods: In this study, during six months, 235 urine samples were collected from patients referred to Iran Hospital who had UTI symptoms, and simultaneously with microbial culture in the laboratory, DNA extraction was performed using extraction kits and PCR test with specific primers to detect these bacteria in each Samples were taken.

Results: In the samples, 137 samples (58.29%) contained uncommon UTI bacteria. The prevalence of uncommon bacteria was as follows: *Pseudomonas aeruginosa* 74 samples (31.4%), *Enterococcus faecalis* 61 samples (25.9%), *Klebsiella pneumoniae* 32 samples (13.6%), *Staphylococcus saprophyticus* 2 Sample (10.2%), *Proteus Myrabilis* 13 specimens (5.5%), *Neisseria gonorrhoea* 7 specimens (2.9%), *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma* 5 specimens each (2.1%). Only 19.7% of samples containing uncommon bacteria were detected by routine laboratory methods (phenotypic diagnosis).

Conclusion: The prevalence of these bacteria varies according to the geographical location, level of health, health control and level of culture of each country. Delay in accurate identification of these bacteria increases bacterial resistance to antibiotics prescribed by physicians.

Keywords: *Urinary tract infections, uncommon bacteria, molecular and phenotypical diagnosis.*

**** Corresponding author:***
Master of Microbiology, Islamic Azad University of shiraz, Iran.
Tel: 09172259291, Email: s.reza.khedmati@Gmail.com

Cite this article as: Emami A. and Khedmati SE. Evaluation of the uncommon bacterial pathogens in urogenital infection of patients referred to Iran Hospital with phenotypic and molecular methods. J Altern Vet Med, 2020; 3(7): 401-413

[Downloaded from joavm.kazerun.iau.ir on 2025-02-05]

[DOR: 20.1001.1.2717378.2020.3.7.5.1]