

جداسازی باکتری های فستی دیوس (Fastidious) در نمونه های ادراری زنان سالمند (مقاله پژوهشی)

نجم السادات موسوی^۱

چکیده :

هدف: هدف تحقیق حاضر این بوده است تا با استفاده از روش جداسازی باکتریهای Fastidious در نمونه‌های ادراری زنان سالمند که با روش معمول نتایج کشت آنها منفی می‌باشد ولی بیماران دارای علائم عفونت هستند در تشخیص و درمان آنها موثر واقع گردد.

روش بررسی: این تحقیق در بیمارستان امام خمینی انجام یافته و مسئولیت جداسازی و تشخیص باکتریهای فستی دیوس از ۱۰۷۵ نمونه ادراری زنان سالمند بالاتر از ۶۰ سال را بر عهده داشته است که با تغییر در محیط‌های کشت و شرایط انکوبه کردن و میزان گازها توانسته است باکتریهای فستی دیوس را جداسازی نماید. همچنین از تعداد لکوسیت در نمونه ابتدایی جهت تعیین وجود چرک در ادرار استفاده گردیده ضمناً مطالعه پرونده‌های پزشکی به منظور تعیین نشانه‌ها و مصرف آنتی بیوتیک انجام و در پایان کلیه نتایج با یکدیگر تطبیق و با گروه شاهد مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند.

یافته‌ها: پس از کشت هوازی و شبانه ۱۰۷۵ نمونه ادراری، ۳۸۳ مورد مثبت، ۹۹ مورد دارای شمارش پایین، ۱۵۹ مورد به صورت مخلوط و ۴۳۴ مورد منفی بود. از ۴۳۴ مورد منفی در روش مذکور، با استفاده از تکنیک جداسازی باکتریهای فستی دیوس ۱۴۷ مورد دارای باکتریهای فستی دیوس در این تحقیق بود که بیش از ۵۰ درصد آنان با نشانه‌های عفونت همراه بود که اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: جهت جداسازی و تشخیص عوامل عفونت ادراری زنان سالمند بیمار که کشت هوازی و شبانه آنها منفی می‌باشد به خصوص اگر همراه با حضور نشانه‌ها باشد کشت نمونه آنها در محیط‌های اضافی و انتخابی همراه با تغییر در شرایط انکوباسیون برای جداسازی باکتریها الزامی می‌باشد.

کلید واژه‌ها : عفونت ادراری- باکتریهای fastidious - جداسازی - زنان سالمند

۱- نجم السادات موسوی
عضوهیت علمی، دانشگاه علوم بهزیستی
و توانبخشی
تلفن تماس: ۲۲۱۸۰۰۴۶
Email: n.moosavi@uswr.ac.ir

مقدمه

علاوه بر این در بعضی از موارد مثل اسکار کلیوی پیشرفته یا سنگهای کلیه و مجاری ادرار به مخصوص در سالمندان زن که دچار پیوری مزمن می‌باشد نتیجه‌ی کشت ادرارشان بر اساس روش معمول همواره منفی می‌باشد (۵).
با توجه به موارد ذکر شده تحقیق حاضر می‌کوشد میکروبیولوژیست‌های کلینیکی رابه این باور معطوف دارد که باید توجه بیشتری نسبت به آزمایشات باکتریولوژیکی ادرار در سالمندان زن مبذول داشت و با استفاده از تکنیک جدید جداسازی باکتری‌های فستی دیوس، محدودیت‌های روش‌های معمول را مورد شناسایی قرار داد تا این امر بتواند، نقش مهمتری در تشخیص و درمان عفونتهای دستگاه ادراری و ساختمانهای مجاور آن در زنان سالمند داشته و از مصرف بی رویه آنتی بیوتیکها در آنان جلوگیری کند.

عفونتهای مجاری ادراری امروزه به عنوان یکی از بیماریهای عفونی و بیمارستانی با میزان بروز بالا در سالمندان مطرح است (۱) (تعداد زیاد نمونه‌های آزمایشگاهی بیانگر اهمیت و گستردگی ابعاد مسئله است) چنانچه می‌دانیم عفونت دستگاه ادراری (UTI) براساس تحقیقات Kass در آزمایشگاههای تشخیص طبی به صورت کشت هوازی و شبانه (۲۴ ساعته) انجام می‌گیرد. (۲)
علی رغم اینکه، این روش توانسته است خدمت بزرگی به تشخیص عفونت دستگاه ادراری انجام دهد اما این امر نمی‌بایست ما را از شناخت در محدودیت‌های آن باز دارد زیرا آزمایشات باکتریولوژیکی بر روی نمونه ادراری برخی از زنان و مردان بیمار بر اساس روش معمول نتیجه‌ی منفی بدست می‌دهد حال آنکه نشانه‌های عفونت در آنها از لحاظ کلینیکی قابل افتراق از بیماران دارای کشت مثبت نبوده و گویای حضور عفونت می‌باشد. (۳ و ۴)

جدول (۳): توزیع علائم عفونت ادراری در نمونه های منفی پس از کشت هوازی و شبانه

کل نمونه منفی پس از کشت هوازی و شبانه (۴۳۴)			
نمونه های مثبت (fastidious) پس از بکارگیری تکنیک جدید (۱۴۷)		نمونه منفی پس از بکارگیری تکنیک جدید (۲۸۷)	
بدون علائم عفونت (۲۶۱)	همراه با علائم عفونت (۱۰۶)	بدون علائم عفونت (۲۶۱)	همراه با علائم عفونت (۲۶)

جدول (۴): نتایج وضعیت ساختمان دستگاه ادراری در ۴۳ زن سالمند واجد نشانه همراه با کشت مثبت باکتری fastidious

تعداد	وضعیت غیرطبیعی
۱	پیلونفریت مزمن
۲	وجود سنگ در کلیه
۲	ناپایداری عضله دترسور
۲	بی اختیاری اورژانسی درادرار کردن
۱	کلیه های بزرگ
۲	بی اختیاری درادرار کردن در اثر استرس
۱	اختلال درسنیرژی گردن مثانه
۱۱	جمع

جدول (۵): توزیع فراوانی باکتری های Fastidious در گروه های سنی مختلف زنان سالمند

درصد	تعداد	سن
۵۲/۳۸	۷۷	۶۰ - ۷۰
۴۱/۴۹	۶۱	۷۰ - ۸۰
۶/۱۲	۹	<۸۰

روش بررسی

پژوهش حاضر از اول مهرماه ۱۳۸۵ تا اواخر خردادماه ۱۳۸۶ به طول انجامید که فعالیتهای آزمایشگاهی آن در بیمارستان امام خمینی و سایر فعالیتهای پژوهشی در دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی انجام یافته است. این تحقیق مسئولیت جداسازی و تشخیص باکتریهای فستی دیوس از ۱۰۷۵ نمونه ادراری زنان سالمند در محدوده سنی ۸۳ - ۶۱ ساله را برعهده داشته است که شامل کشت نمونه (IU)؛^۱ (Msu)؛^۲ و در برخی مواقع (SPA)؛^۳ بوده است. در این مطالعه از محیطهای کشت مولر هیتتون (MH)؛^۴، مک کانکی (MC)؛^۵ و شکلات آگار (CHA)؛^۶ با شرایط نگهداری روتین جهت کشت شبانه و ۲۴ ساعته استفاده شده است و از بلادآگار غنی شده (BA)؛^۷، سلد آگار (CLEDar)؛^۸ و شکلات آگار همراه با تغییر در شرایط انکو باسیون یعنی با ۷ درصد دی اکسید کربن و دمای ۳۷ درجه سانتیگراد در مدت ۵ شبانه روز جهت انکوبه استفاده شده است. در هر ۲۴ ساعت پلیت ها مورد ارزیابی قرار می گرفتند (۴).

جدول (۱): مطالعه اولیه با روش معمول بر روی ۱۰۷۵ نمونه ادراری زنان سالمند

موارد	تعداد	درصد
تعداد کل نمونه	۱۰۷۵	٪۱۰۰
شمارش مثبت	۳۸۳	٪۳۵/۶۲
شمارش پایین	۹۹	٪۹/۳
مخلوط	۱۵۹	٪۱۴/۷۹
منفی	۴۳۴	٪۴۰/۳۸

جدول (۲): فراوانی ارگانسیم های fastidioun با استفاده از تکنیک جدید

موارد	تعداد	درصد
کل نمونه منفی پس از کشت هوازی و شبانه	۴۳۴	٪۱۰۰
باکتریهای فستی دیوس	۱۴۷	٪۳۳/۸۷
شمارش منفی پس از تکنیک جدید	۲۸۷	٪۶۶/۱۳

۳- اسپراسیون فوق عانه ای supra public aspiration

4- Muller -Hilton Agar

7- Blood agar Base with sheep Blood 5%

۲- بخش میانی ادرار Mid-streamspeciment urine

5- Macconkey agar medium

8- cysteine - lactose - Electrolite deficient agatr

۱- بخش ابتدایی ادرار Initial urine

6- chklet agar

با نشانه‌های عفونت بود جدول (۳) که اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد.

همچنین با بررسی پرونده پزشکی ۴۳ زن سالمند دارای باکتری، ۱۱ نفر از آنان دارای مشکلات آناتومیکی مندرج در جدول شماره (۴) بودند بررسی توزیع سنی زنان سالمند در جدول شماره (۵) نشان داده شده است.

بحث

نتایج بالا نشان می‌دهد که حدوداً یک سوم بیمارانی که کشت نمونه آنها به روش Kass منفی می‌شود می‌توانند دارای باکتریهای فستی دیوس باشد به خصوص آنهایی که دارای کشت منفی همراه با نشانی‌های عفونت می‌باشند.

نتیجه‌گیری

بنابراین جهت جداسازی و تشخیص عوامل عفونت ادراری در بیمارانی که کشت هوازی و شبانه آنها منفی می‌باشد به خصوص اگر همراه با حضور نشانه‌ها باشد نمونه آنها جهت کشت در محیط‌های اضافی و انتخابی همراه با تغییر در شرایط انکوباسیون برای جداسازی باکتریها بطور الزامی در دستور کار قرار گیرد. زیرا با توجه به نتایج تحقیق مبنی بر وجود ارگانیزمهای fastidioan ناشی از تغییرات و جهش‌های ژنتیکی در باکتریها، ما را بر آن می‌دارد تا تغییراتی در تکنیکهای جداسازی و تشخیص عفونتهای ادراری داده و بدین وسیله با ارائه راهکارهای بهینه درمان بهتری را برای بیماران پیش گرفته و از مصرف بی رویه آنتی بیوتیک‌ها و ایجاد پاتورژنهای ثانویه و نیز عفونت‌های بیمارستانی کاسته و نیز از پیشرفت بیماری و ایجاد پیوری‌های مزمن جلوگیری نماییم.

در صورت مثبت شدن، کلونیه‌ها شمارش شده و یادداشت می‌گردید ما در این تحقیق رشد خالص و بیش از ۱۰ به توان ۵ در هر میلی لیتر ادرار را مثبت تلقی کرده و به عنوان نمونه مثبت یادداشت می‌کردیم که در این صورت، لام بطریق رنگ‌آمیزی گرم تهیه شده و مجدداً جهت اطمینان از اینکه ویژگی‌های ارگانیزمهای جدا شده منطبق با ویژگی‌های باکتری‌های fastidious می‌باشند از همان نمونه مثبت، کشت دیگری بر روی محیط‌های سلدرا آگار و شکلات آگار تهیه می‌گردید. (۶) و سپس برای دومین مرتبه به مدت ۵ روز با ۷ درصد دی اکسید کربن انکوبه می‌شد. در ضمن بخش ابتدایی ادرار جهت پیوری سانتریفوژ شده مورد بررسی قرار می‌گرفت و چنانچه بیش از ۵ لکوسیت در یک میدان میکروسکوپ مشاهده می‌گردید به عنوان چرک در ادرار تلقی می‌شد. (۴) جهت اطمینان بیشتر در برخی موارد نمونه MSU بیمار از نظر تعداد لکوسیت نیز مورد ارزیابی قرار می‌گرفت که در کلیه این موارد به جزء دو مورد تعداد لکوسیت‌ها در نمونه بخش اولی ادرار بیشتر بود و گاهی مساوی بودند و چون اغلب این ارگانیزم‌ها قادر به رشد در محیط‌های دیگر نبودند بنابراین از کیت‌های مربوط به تست‌های کاتالاز، اکسیداز، رنگ آمیزی گرم و توجه به تغییر رنگ بر روی محیط سلدرا آگار و ایجاد همولیز بر روی بلاک آگار و بندرت در برخی از آنها از کیت‌های تشخیصی جهت تست‌های گلوکز، نیترات، اوره آز، مانیتول و آرژنین استفاده می‌شد. (۷) سپس باز هم از کشت‌های مجدد، لام تهیه و کلیه تست‌ها انجام می‌شد و با لام اولیه و تست‌های اولیه مورد مقایسه قرار می‌گرفت.

همچنین تعداد لکوسیت‌ها در نمونه ابتدایی جهت وجود چرک در ادرار تعیین می‌گردید. (۴)

ضمناً مطالعه پرونده‌های پزشکی به منظور تعیین نشانه‌ها و مصرف آنتی بیوتیک بررسی می‌شد (۱۰ و ۸ و ۹) و سپس کلیه نتایج با یکدیگر تطبیق و با گروه شاهد مورد ارزیابی قرار می‌گرفتند.

یافته‌ها

با توجه به حجم بالای نمونه‌ها و کشت تمامی آنها در محیط‌های روتین و اختصاصی و انتخابی و سپس انجام تمام تکنیک‌ها، تست‌ها، رنگ آمیزیها و بررسی پرونده‌ها توانستیم نتایجی بدین شرح بدست آوریم: پس از کشت هوازی و شبانه ۱۰۷۵ نمونه ادراری زنان سالمند ۳۸۳ مورد مثبت، ۹۹ مورد با شمارش پایین، ۱۵۹ مورد مخلوط و ۴۳۴ مورد منفی بود جدول (۱). از ۴۳۴ مورد منفی توانستیم با استفاده از تکنیک جداسازی با کتریهای فستی دیوس که در بالا اشاره شد ۱۴۷ مورد دارای باکتریهای فستی دیوس را جداسازی نماییم جدول (۲) که بیش از ۵۰ درصد آنها همراه

REFERENCES

منابع

- 1- Maskel , R, pead,L, and . Sanderson , R, A. Fastidious Bacteria and The urethral Sandrome : a 2-year clinical and bacteriological study of 51 women , Lancet , 1983ii , 1277-80
- 2- Birch., D.F.,fairley,k.f.,and pavillard,R.E. “un conventional bacteria in urinary tract disease: ureaplasma urealyticam.’ Kidney Int 1981.,19, 58-64
- 3- Nuritti Ardic, oral oncvl , ugvr Ilga , vedat turhan , Tuncer Haznedaroglu , Mustafa ozyurt:investigation of the frequency and Antibiotic susceptibility of mycoplasma/ureaplasma in urine samples with Leakocyturia by different commercia methods. The internet journal of infectious diseases. 2005 . volume 4 Number 2.
- 4- Vellzzoi . M, henryd. et al :nosocomial uronary tract infection with a slowly crowing fastidious Escherichia coli,j,clin microbiology , 1988, 364-5
- 5- Meyer and janet L. schottel. Novel Transcriptional Response by the cat gene during slow growth of Escherichia coli . J, of , Bacteriolog, june 1991.3523-3530
- 6- Nicol , Lindsay.E A practical guide to Antimicrobial management of complicated urinary tract infection thrapy in practice , drag and Aging , 2001,18(4) ,243-254.
- 7- Payne SR, Timoney AG, Mckenning st, den Hollander D, pead L j, maskell RM, Microbiological look at urodynamic studies . Lancet 1988;2:1123-6
- 8- Kelly J. wright & Scott.J.sticky fibers and uropathogenesis : bacterial ashesins in the urinary tract, june 2006, vol. 1No.1,pages 75-87
- 9- Maskel , R, Anew look at the diagnosis of infection of the urinary tract and its adjacent structures J. infect , 1989, 19,207-217
- 10- finger, H., wirsing von koening , c.h., wichman, s., Backer –Boost, E., and Drechsler, H.J,clinical significance of resistant corynebacteria group JK. Lancet , I 1983, 538.