

تشخیص عوامل باکتریایی مسبب عفونت ادراری و تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی آن‌ها در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ در شهر کرمانشاه

فرشاد یدالهی، الهه تاج بخش*، حسن ممتاز

گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۱/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۰۵)

چکیده

سابقه و هدف: دیابت از جمله شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های موجود در جهان می‌باشد و مبتلایان به این بیماری در معرض خطر بالایی از نظر ابتلا به عفونت قرار دارند. با توجه به شیوع بسیار زیاد دیابت و خطرات ناشی از عفونت ادراری، بررسی عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری و راه صحیح درمان آن بشدت احساس می‌گردد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش با کشت ادرار ۳۵۳ بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ و انجام تست های بیوشیمیایی بر روی نمونه های مثبت، تشخیص نوع باکتری پاتوژن صورت پذیرفت و پس از استخراج DNA از باکتری‌های جدا شده، آزمون PCR جهت تشخیص قطعی باکتری های عامل عفونت ادراری انجام پذیرفت و با انجام تست آنتی بیوگرام بر روی نمونه های مثبت، آنتی بیوتیک مناسب تعیین گردید.

یافته ها: عفونت ادراری در مبتلایان به دیابت ۲۸/۳٪ گزارش گردید. باکتریوری بدون علامت ۲۲/۱٪ و باکتریوری علامت دار ۶/۲۲٪ گزارش شد. شایع ترین باکتری های عامل عفونت ادراری در این بیماران به ترتیب اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اسیتوباکتر، سیتروباکتر، انتروباکتر، سودوموناس آئروژینوزا و پروویدنسیا بودند.

نتیجه گیری: با توجه به این که جمعیت باکتریایی عامل عفونت ادراری در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، تقریباً مشابه افراد غیر دیابتی مبتلا به عفونت ادراری در دیگر مطالعات می باشد، لذا درمان آنتی بیوتیکی اولیه جهت بیماران مبتلا به عفونت ادراری در بیماران دیابتی با بیماران غیر دیابتی یکسان است.

کلیدواژگان

باکتریوری، دیابت ملیتوس، عفونت ادراری، مقاومت آنتی بیوتیکی، PCR.



مقدمه

شیوع دیابت در سه دهه اخیر سه برابر شده و بر طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت در سال ۲۰۱۰ تقریباً ۳۴۶ میلیون نفر در سرتاسر جهان به دیابت مبتلا هستند. بر طبق یک ارزیابی از شیوع جهانی دیابت در بین بالغین تخمین زده می‌شود، شیوع دیابت در بین بالغین به ۴۳۹ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ برسد. بیماری دیابت از جمله شایع‌ترین اختلالات غدد درون ریز است (۱،۲). این بیماری از جمله شایع‌ترین و مهم‌ترین بیماری‌های موجود در جهان می‌باشد و مبتلایان خود را در معرض خطر بالایی از نظر ابتلا به عفونت قرار می‌دهد (۷-۳). در این میان دستگاه ادراری شایع‌ترین محل بروز عفونت در بین مبتلایان به دیابت می‌باشد (۸-۱۰). دیابت به دلیل ایجاد چندین ناهنجاری در سیستم دفاعی، سبب مستعد شدن فرد به عفونت دستگاه ادراری می‌گردد (۱۱). صدمات وارد شده در اعمال مختلف گلبول‌های سفید از جمله مهاجرت، فاگوسیتوز و کموتاکسی از جمله این ناهنجاری‌ها می‌باشند (۱۲). علاوه بر این، نوروپاتی دیابتی نیز به علت نقص در تخلیه کامل مثانه، سبب ایجاد عفونت دستگاه ادراری می‌شود (۱۳،۱۴). غلظت‌های بالاتر قند در ادرار ممکن است نقش مهمی در افزایش بروز UTI در بیماران دیابتی بازی کند. افزایش خطر ابتلا به عفونت در بیماران دیابتی را می‌توان تا حدودی با کاهش لنفوسیت‌های T میانه پاسخ ایمنی (۳) و اختلال عملکرد نوتروفیل در مبتلایان به دیابت توضیح داد (۱۵، ۱۶). برخی از مطالعات حتی نشان داد که دیابت باعث افزایش خطر بستری شدن در بیمارستان و مرگ و میر ناشی از عفونت‌ها می‌شود (۶). در یک مطالعه که بر روی اتوپسی‌ها انجام گردیده است، ۱۸٪

از دیابتی‌ها دچار عفونت دستگاه ادراری بوده‌اند (۱۷). عوارض ناشی از UTI، از قبیل باکتری‌می، آبسه کلیه و نکروز کلیه در افراد مبتلا به دیابت بیشتر بوده و حتی گرفتاری کلیوی بدون علامت مانند پیلونفریت تحت حاد هم در این بیماران شایع‌تر است (۱۸). عفونت‌های مجاری ادراری در تمام گروه‌های سنی ایجاد شده و از عفونت‌های باکتریایی شایع در تمام سنین هستند، که می‌توانند همراه با علائم بالینی یا بدون علائم بالینی باشند. این عفونت‌ها نسبت به باکتری‌می و پنومونی باکتریایی و هم‌چنین مننژیت باکتریایی شایع‌تر می‌باشند. شیوع عفونت ادراری با علائم و یا بدون علائم بالینی در بیمار اندیابتیک بالاست و مطالعات انجام شده نیز حاکی از این است که شیوع عفونت ادراری در بیماران دیابتیک بالا می‌باشد و الگوی میکروبی و حساسیت آنتی‌بیوتیکی عفونت ادراری بیماران دیابتیک با افراد عادی متفاوت است. به علاوه عفونت ادراری یک مکان مهم باکتری‌می ثانویه در بیماران دیابتیک است. مطالعات هم‌چنین نشان دهنده این مسئله می‌باشند که عفونت ادراری بدون علامت در بین خانم‌های دیابتیک بالا است (۲۰-۲۲).

مشکلات اصلی این عفونت‌ها، مقاومت آنتی-بیوتیکی و هزینه‌های هنگفت درمانی است. علی‌رغم استفاده گسترده از آنتی‌بیوتیک‌ها، عفونت‌های سیستم ادراری که توسط باکتری‌های پاتوژن ایجاد می‌شوند، منبع چشمگیری از بیماری و مرگ و میر در پزشکی مدرن هستند. اگر چه موارد بسیاری از عوامل این عفونت‌ها به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف حساس هستند و به درمان کوتاه مدت به سرعت پاسخ می‌دهند اما درمان عفونت‌های برق آسا ناشی از ارگانیزم‌های مقاوم مشکل بوده و به درمان چند بعدی نیاز دارد و حتی با روش‌های درمانی نیز، میزان مرگ و میر چشمگیر است. خوشبختانه ارگانیزم‌های مسئول UTI، کاملاً قابل پیش‌بینی بوده و درک بهتر



استفاده از سوند ادراری در فرم گرد آوری اطلاعات ثبت شد.

جستجو و شناسایی باکتری ها: پس از مشخص شدن نمونه های UTI مثبت، تعیین هویت باکتریها توسط آزمون های بیوشیمیایی و PCR جهت تشخیص مولکولی نوع باکتری ها صورت پذیرفت. از کلونی های موجود در کشت های تهیه شده، رنگ آمیزی گرم تهیه شد و پس از تشخیص نوع گرم باکتری برای شناسایی کوکسی های گرم مثبت ابتدا تست کاتالاز صورت پذیرفت. در صورت مثبت شدن تست کاتالاز، از تست کوآگولاز برای شناسایی استافیلوکوک های کوآگولاز مثبت و منفی استفاده گردید. برای شناسایی باکتری های گرم منفی از محیط های کشت TSI، SIM، Agar، سیمون سترات آگار و اوره آگار ساخت شرکت مرک آلمان استفاده گردید.

همچنین DNA مربوط به باکتری ها از کلنی های مربوطه توسط کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران استخراج گردیده و پس از آماده سازی DNA ها، واکنش زنجیره ای پلیمرز توسط دستگاه ترمال سایکلر ایندورف^۲ ساخت کشور آلمان انجام گرفت. به منظور تایید تشخیص باکتری ها، پرایمر های اختصاصی بر اساس ژن *16srRNA* طراحی گردیدند. پس از انجام الکتروفورز محصولات PCR، نوع باکتری ها تشخیص داده شد.

لیست پرایمرهای مورد استفاده برای تایید تشخیص باکتری ها که در این تحقیق توسط نرم افزار Gene runner ورژن ۳/۰۱ طراحی و توسط شرکت سیناژن سنتز گردید، در جدول ۱ نشان داده شده است.

پاتوزن UTI نیز به اقدامات درمانی بهتر برای بیمار منجر خواهد شد و به ویژه این که به پزشک اجازه میدهد تا درمان را با فرآیندهای عفونی خاص متناسب کند و به این ترتیب نتایج زیان آور درمان را کاهش دهد. پژوهش حاضر مطالعه ای برای بررسی باکتری های شایع در عفونت های ادراری بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ در شهرستان کرمانشاه می باشد که توسط کشت، آزمون های بیوشیمیایی و مولکولی، نوع باکتری عامل عفونت مشخص گردیده و سپس بررسی مقاومت آنتی بیوتیکی در حضور آنتی بیوتیک های مختلف به روش دیسک دیفیوژن صورت گرفته است.

مواد و روش ها

نمونه ها: نمونه ادرار از ۳۵۳ بیمار زن و مرد مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، مراجعه کننده به آزمایشگاه کلینیک شماره ۲ تامین اجتماعی شهر کرمانشاه به روش تکنیک ادرار وسط جمع آوری شده و سپس با لوپ ۰/۰۱ بر روی پتری های Blood Agar و EMB Agar ساخت شرکت مرک آلمان کشت داده شد. کشت های مربوط به نمونه های عفونی تشخیص داده شده و در صورتی که تا دو هفته قبل از نمونه برداری، بیمار سابقه سوند گذاری و یا انجام عمل جراحی دستگاه ادراری را نداشت، از آزمایشگاه کلینیک کرمانشاه به آزمایشگاه دانشگاه آزاد شهرکرد منتقل گردید. بیمارانی که دارای علائم بالینی از جمله تب، سوزش ادرار، تکرر ادرار و ... بودند به عنوان باکتریوری با علامت و بیمارانی که کشت ادراری آنها مثبت بوده ولی علائم بالینی مشخصی نداشتند، به عنوان بیماران دارای باکتریوری بدون علامت قلمداد شدند. هنگام جمع آوری نمونه اطلاعاتی هم چون سن، جنس، سابقه ابتلا به UTI در گذشته، سابقه بستری شدن در بیمارستان و سابقه



جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده برای تایید تشخیص باکتری های عامل UTI در بیماران دیابتی

نام باکتری	توالی پرایمر (5'-3')	اندازه محصول (bp)	Annealing Temperature (°C)
<i>Escherichia coli</i>	5'- AGAGTTTGATCMTGGCTCAG -3' 5'- CCGTCAATTCATTTGAGTTT -3'	919	59
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5'- CAAGTCGAGCGGTAGCACAGAG -3' 5'- ACCGTGTCTCAGTTCCAGTGTG -3'	274	62
<i>Proteus spp</i>	5'- ACTTGGGAATTGCATCTGAAACTG -3' 5'- ACATCGTTTACAGCGTGGACTACC -3'	201	64
<i>Enterobacter spp</i>	5'- ATGTCTGGGAAACTGCCTGATG -3' 5'- CGGGTAACGTCAATAGACAAGG -3'	372	62
<i>Citrobacter spp</i>	5'- TAATACCGCATAACGTCGCAAG -3' 5'- CTTCTTCTGCGAGTAACTCAATG -3'	331	63
<i>Acinetobacter spp</i>	5'- ATGCAAGTCGAGCGGAGATGAG -3' 5'- TACCCACCAACTAGCTAATCCG -3'	202	65
<i>Serratia marcescens</i>	5'- TGGGGAGCAAACAGATTAGATAC -3' 5'- AACCAACATTCCACAACACGAG -3'	320	65
<i>Morganella spp</i>	5'- ATAACACAGGAAACGGTTCGCTAATAC -3' 5'- CACCTTCTCCCGACTGAAAGTAC -3'	308	65
<i>Providencia spp</i>	5'- GTAGTCCACGCTGTAAACGATGTC -3' 5'- TCTGGATGTCAAGAGTAGGTAAGGT -3'	202	62
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5'- AATACCTTGCTGTTTTGACGTTAC -3' 5'- TCAGTGTCAAGTATCAGTCCAGGTG -3'	295	61
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5'- AAGCTGTAACAAAAGGTATTAAGGAAC -3' 5'- TTACCTGTGATTGGCAAATATAATAG -3'	281	61

میکرولیتزر آنزیم Taq DNA Polymerase ساخت شرکت سیناژن و ۲/۵ میکرولیتزر از DNA انجام گرفت. برنامه واکنش PCR در جدول ۲ نشان داده شده است.

آزمون PCR با استفاده از مواد زیر انجام گرفت. این واکنش در حجم ۵۰ میکرولیتزر، شامل ۵ میکرولیتزر PCRBuffer10X، ۲ میکرولیتزر Mgcl2، ۱ میکرولیتزر dNTP، ۰/۳ میکرو...

جدول ۲- برنامه واکنش PCR برای باکتری های شایع در UTI بیماران دیابتی

نام باکتری	برنامه واکنش زنجیره ای پلیمرز
<i>Escherichia coli</i>	1 cycle: 95 °C ----- 6 min.
	31 cycle: 95 °C ----- 45 s 59 °C ----- 60 s 72 °C ----- 60 s
	1 cycle: 72 °C ----- 5 min
	1 cycle: 94 °C ----- 1 min.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30 cycle: 94 °C ----- 60 s 62 °C ----- 30 s 72 °C ----- 90 s
	1 cycle: 72 °C ----- 5 min



ادامه جدول ۲- برنامه واکنش PCR برای باکتری های شایع در UTI بیماران دیابتی

نام باکتری	برنامه واکنش زنجیره ای پلیمرز
<i>Proteus spp</i>	1 cycle: 95 ^{0C} ----- 1 min. 31 cycle: 95 ^{0C} ----- 45 s 64 ^{0C} ----- 30 s 72 ^{0C} ----- 90 s
<i>Enterobacter spp</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 5 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 1 min. 31 cycle: 95 ^{0C} ----- 62 ^{0C} ----- 30 s 72 ^{0C} ----- 90 s
<i>Citrobacter spp</i>	1 cycle: 94 ^{0C} ----- 1 min. 30 cycle: 94 ^{0C} ----- 60 s 63 ^{0C} ----- 30 s 72 ^{0C} ----- 90 s
<i>Acinetobacter spp</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 5 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 2 min. 30 cycle: 95 ^{0C} ----- 45 s 65 ^{0C} ----- 30 s 73 ^{0C} ----- 30 s
<i>Serratia marcescens</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 10 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 2 min. 30 cycle: 95 ^{0C} ----- 45 s 65 ^{0C} ----- 30 s 73 ^{0C} ----- 30 s
<i>Morganella spp</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 10 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 2 min. 30 cycle: 95 ^{0C} ----- 45 s 65 ^{0C} ----- 30 s 73 ^{0C} ----- 30 s
<i>Providencia spp</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 10 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 6 min. 31 cycle: 95 ^{0C} ----- 45 s 62 ^{0C} ----- 60 s 72 ^{0C} ----- 60 s
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 cycle: 72 ^{0C} ----- 5 min 1 cycle: 95 ^{0C} ----- 6 min. 31 cycle:



ادامه جدول ۲- برنامه واکنش PCR برای باکتری های شایع در UTI بیماران دیابتی

نام باکتری	برنامه واکنش زنجیره ای پلیمرز
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	95 ^{0C} ----- 45 s
	61 ^{0C} ----- 60 s
	72 ^{0C} ----- 60 s
	1 cycle:
	72 ^{0C} ----- 5 min
	1 cycle:
	95 ^{0C} ----- 6 min.
	31 cycle:
	95 ^{0C} ----- 45 s
	61 ^{0C} ----- 60 s
72 ^{0C} ----- 60 s	
1 cycle:	
72 ^{0C} ----- 5 min	

آنتی بیوگرام

جدول ۳- تعداد و درصد بیماران دیابتیک مبتلا به UTI علامتدار و یا

بدون علامت

بیماران با باکتریوری بدون علامت	بیماران با باکتریوری علامتدار	بیماران دیابتی مبتلا به UTI	بیماران دیابتی مورد مطالعه	تعداد	درصد
۷۸	۲۲	۱۰۰	۳۵۳		
٪ ۲۲/۱	٪ ۶/۲۳	٪ ۲۸/۳۳	٪ ۱۰۰		

جدول ۴- جنسیت و میانگین سنی بیماران دیابتیکی مبتلا به UTI

بیماران دیابتیک مبتلا به UTI	تعداد	میانگین سن	رنج سنی
زن	۷۰	۵۵/۶۹ ± ۸/۱۹	۴۰ تا ۷۳ سال
مرد	۳۰	۵۷/۲۳ ± ۱۰/۹۹	۴۰ تا ۷۹ سال
زن و مرد	۱۰۰	۵۶/۱۵	۴۰ تا ۷۹ سال

باندهای تشکیل شده در ژل الکتروفورز، وجود DNA باکتری های اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، اسنیتوباکتر، سیتروباکتر، انتروباکتر، سودوموناس آئروژینوزا و پروویدنسیا را اثبات نمود. نتایج در شکل های ۹-۱ نشان داده شده است.

آزمایش تعیین حساسیت باکتری نسبت به عوامل ضد میکروبی نیز بر روی باکتری های ایزوله شده به روش Kirby - bauer با استفاده از دیسک های آمیکاسین، سفتریکسون، نیتروفورانتین، سفپیم، سفالوتین، نالیدیکسیم اسید، آمپی سیلین، تتراسایکلین، جنتاماسین، وانکومايسين، استرپتومایسین ایمی پنم ساخت شرکت پادتن طب ایران صورت گرفت.

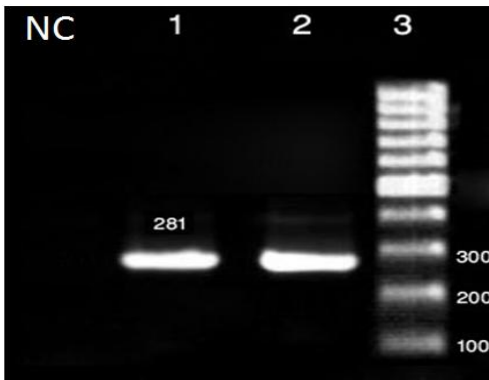
روش تجزیه و تحلیل داده ها (اطلاعات): جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SAS و آزمون Chi-Square و تایید این آزمون با تست فیشر^۳ استفاده گردید. در برخی آزمون های صورت گرفته، سطح معنی داری کوچکتر از ۱ درصد ($P < 0.01$) و در بقیه تست ها، سطح معنی داری کوچکتر از ۵ درصد ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

یافته ها

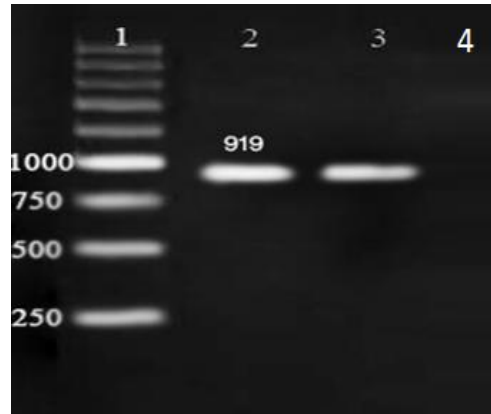
مطالعه حاضر بر روی ۳۵۳ نمونه ادرار بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، مراجعه کننده به آزمایشگاه کلینیک شماره ۲ تامین اجتماعی شهر کرمانشاه صورت گرفت، که اطلاعات مربوط به این بیماران به شرح زیر می باشد:

3. Fisher's Exact Test

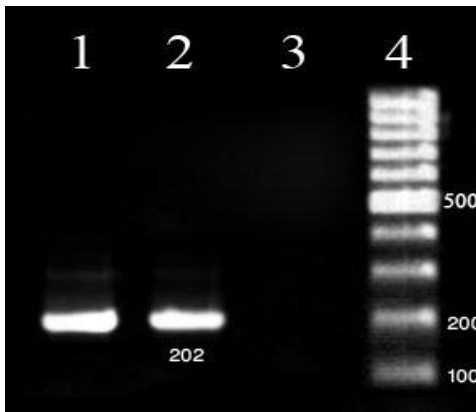




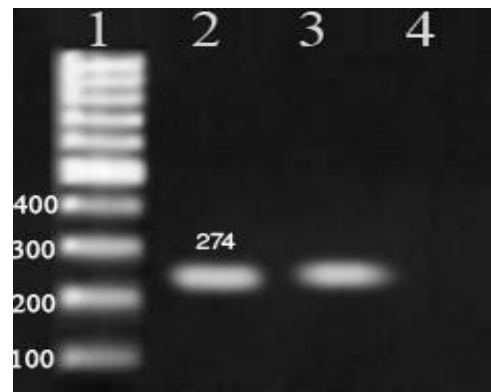
شکل ۴- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*. ستون ۳: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۱ و ۲: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس*



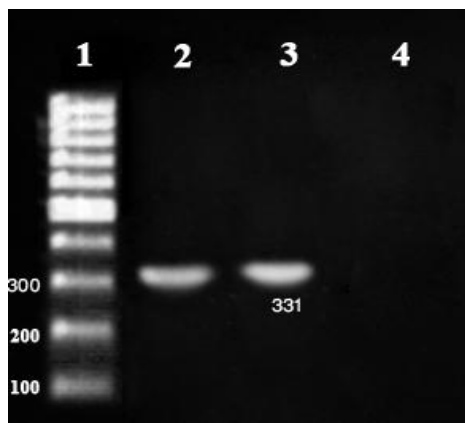
شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *اشریشیا کلی*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *اشریشیا کلی*، ستون ۴ کنترل منفی



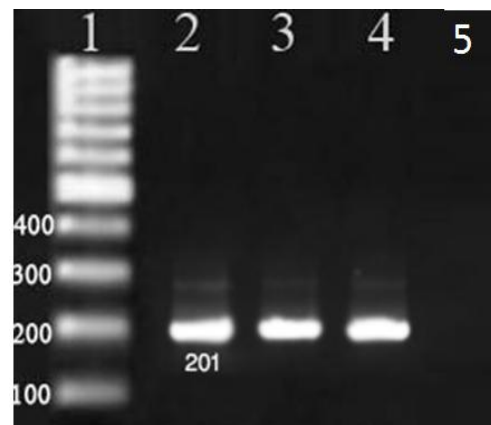
شکل ۵- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *اسیتوباکتر*. ستون ۴: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۱ و ۲: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *اسیتوباکتر*، ستون ۳: کنترل منفی.



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *کلبسیلا پنومونیه*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *کلبسیلا پنومونیه*، ستون ۴: کنترل منفی.



شکل ۶- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *سیتروباکتر*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *سیتروباکتر* ستون ۴: کنترل منفی.



شکل ۳- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص *پروتئوس*. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲-۴: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به *پروتئوس*، ستون ۵: کنترل منفی

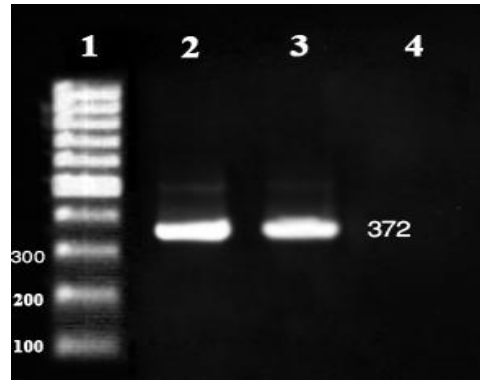


آلودگی به اشریشیاکلی ۵۱/۲۲٪، کلبسیلا پنومونیه ۱۵/۲۴٪، پروتئوس ۱۰/۹۸٪، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس ۷/۳۲٪، اسنیتوباکتر ۵/۴۹٪، سیتروباکتر ۴/۲۷٪، انتروباکتر ۳/۰۴٪، سودوموناس آئروژینوزا ۱/۲۲٪ و پروویدنسیا ۱/۲۲٪ برآورد گردید. از ۷۰ بیمار زن دیابتی مبتلا به UTI، آلودگی به اشریشیاکلی ۴۶/۴٪، کلبسیلا پنومونیه ۱۳/۶٪، پروتئوس ۱۲٪، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس ۸٪، اسنیتوباکتر ۷/۲٪، سیتروباکتر ۵/۶٪، انتروباکتر ۴٪، سودوموناس آئروژینوزا ۱/۶٪ و پروویدنسیا ۱/۶٪ گزارش گردید. در صورتی که از ۳۰ بیمار دیابتیک مرد مبتلا به UTI، به ترتیب آلودگی به اشریشیاکلی ۶۶/۶۷٪، کلبسیلا پنومونیه ۲۰/۵۱٪، پروتئوس ۷/۶۹٪ و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس ۵/۱۳٪ برآورد گردید.

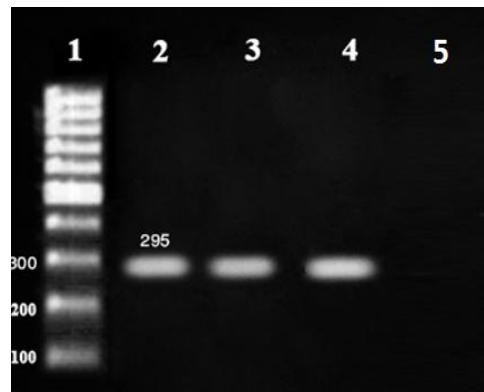
بیشترین میزان مقاومت و حساسیت باکتری‌های عامل UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ در جدول شماره ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- مقاومت آنتی بیوتیکی به باکتری‌های عامل UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو

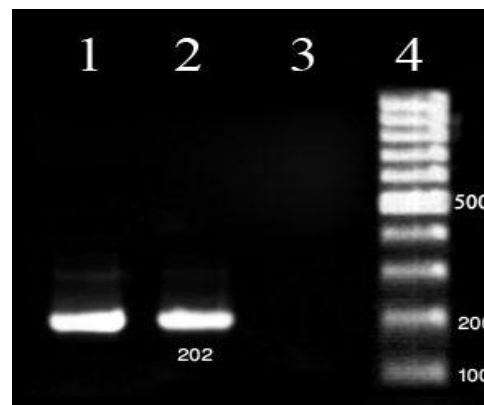
نام باکتری	بیشترین مقاومت	بیشترین حساسیت
اشریشیاکلی	آمی سیلین و نالیدیکسیک اسید (۳۸/۱٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)
کلبسیلا	آمی سیلین (۷۲٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪) و آمیکایسین (۱۰۰٪)
سیتروباکتر	آمی سیلین (۷۱/۴۳٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪)، تتراسایکلین (۱۰۰٪)، آمیکایسین (۱۰۰٪) و سفپیم (۱۰۰٪)
انتروباکتر	نالیدیکسیک اسید (۱۰۰٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، تتراسایکلین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪)، جنتامایسین (۱۰۰٪)، آمیکایسین (۱۰۰٪)



شکل ۷- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص انتروباکتر. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲ و ۳: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به انتروباکتر. ستون ۴: کنترل منفی.



شکل ۸- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص سودوموناس آئروژینوزا. ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۲-۴: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به سودوموناس آئروژینوزا. ستون ۵: کنترل منفی



شکل ۹- الکتروفورز محصول PCR برای تشخیص پروویدنسیا. ستون ۴: مارکر ۱۰۰ جفت بازی فرمتناز. ستون‌های ۱ و ۲: نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی به پروویدنسیا. ستون ۳: کنترل منفی.



ادامه جدول ۳- مقاومت آنتی بیوتیکی به باکتری های عامل UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو

نام باکتری	بیشترین مقاومت	بیشترین حساسیت
	سفتریاکسون (۱۰۰٪) و سفپیم (۱۰۰٪)	سفتریاکسون (۱۰۰٪) و سفپیم (۱۰۰٪)
سودوموناس آئروژینوزا	آمپی سیلین (۱۰۰٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪)، آمیکاسین (۱۰۰٪)، سفپیم (۱۰۰٪)، تتراسایکلین (۱۰۰٪) و جنتامایسین
پروتئوس	آمپی سیلین (۶۱/۱۱٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، سفپیم (۱۰۰٪) و ایمی پنم (۱۰۰٪)
پروویدنسیا	سفالوتین و نالیدیکسیک اسید (۵۰٪)	سفپیم (۱۰۰٪)، آمیکاسین (۱۰۰٪)، نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، سفتریاکسون (۱۰۰٪)، تتراسایکلین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪)، جنتامایسین (۱۰۰٪) و آمپی سیلین (۱۰۰٪)
اسینتوباکتر	آمپی سیلین (۶۶/۶۷٪)	نیتروفوراننتین (۱۰۰٪)، ایمی پنم (۱۰۰٪)، سفپیم (۱۰۰٪) و آمیکاسین (۱۰۰٪)
استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس	پنی سیلین (۱۰۰٪)	سیپروفلوکساسین (۱۰۰٪)، جنتامایسین (۱۰۰٪)، وانکومایسین (۱۰۰٪) و استریپتومایسین (۱۰۰٪)

بحث

در مطالعه حاضر شیوع UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، ۲۸/۳۳٪ گزارش گردید. در مطالعات مختلف شیوع متفاوتی از UTI در بیماران دیابتی گزارش شده است. در مطالعات انجام شده توسط Makuyana و همکاران (۲۳) در سال ۲۰۰۲ و نیز Medoza و همکاران (۲۴) در سال ۲۰۰۲، شیوع باکتریوری در افراد دیابتی ۳۲٪ بوده است. این موضوع ممکن است به دلایلی از جمله، مراجعه کمتر بیماران دیابتی برای درمان UTI یا عدم اطلاع آنها از

بیماری خود باشد. عوارض ناشی از UTI (از قبیل باکتریمی، آبسه کلیه، نکروز کلیه) در افراد مبتلا به دیابت بیشتر بوده و حتی گرفتاری کلیوی بدون علامت (مانند پیلوونفریت تحت حاد) هم در این بیماران شایع تر است (۱۸). در مطالعه حاضر مشخص شد، که شیوع باکتریوری علامت دار ۶/۲۳٪ (۲۲ نفر) و شیوع باکتریوری بدون علامت ۲۲/۱٪ (۷۸ نفر) در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ می باشد. در مطالعه Turan و همکاران از ۱۲۳ بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، تعداد ۲۳ نفر (۱۷/۸٪) دارای باکتریوری بدون علامت بودند (۲۵). در گزارش Alebiosu و همکاران (۲۶) در سال ۲۰۰۳ شیوع باکتریوری بدون علامت ۲۶/۶٪ و در مطالعه سال ۱۹۹۶ توسط Kayima و همکارانش (۲۷) این میزان ۱۱/۱٪ و همچنین در مطالعه Zhanel و همکارانش (۲۸) در سال ۱۹۹۵، ۷/۹٪ گزارش گردیده است. در مطالعه Greelings و همکاران، شیوع باکتریوری بدون علامت در بیماران دیابتی زنجود ۲۶ درصد بود (۲۹). در بررسی Hoepolman مشخص شد که باکتریوری بدون علامت در زنان مبتلا به دیابت شیوع بیشتری دارد، ولی در مردان این چنین نیست (۳۰). در مطالعه Hoepolman نیز مشخص شد که افراد دیابتی دارای ریسک بالاتری برای باکتریوری بدون علامت هستند (۳۱). در مطالعه Zhanel و همکاران مشخص شد که شیوع باکتریوری بدون علامت دار زنان دیابتی ۳ برابر زنان غیر دیابتی است، در حالیکه ریسک ابتلا مردان دیابتی و غیردیابتی یکسان بود (۳۲). در بررسی Greelings مشخص گردید که افزایش شیوع باکتریوری بدون علامت در زنان دیابتی نتیجه تغییر نوع باکتری نیست بلکه تاثیر فاکتورهای ویرولانس و کاهش حساسیت های آنتی بیوتیکی در افراد غیر دیابتی می باشد (۲۹). لذا به بیماران دیابتی خصوصاً خانمهای مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ توصیه می گردد، جهت شناسایی باکتریوری بی



و میانگین سنی زنان دیابتی مبتلا به UTI، $8/19 \pm$ و همکاران، که از سال ۱۹۹۶ تا سال ۲۰۰۳ بر روی ۳۴۶ بیمار دیابتی مبتلا به UTI صورت گرفت، مشخص گردید میانگین سنی بیماران دیابتی $15 \pm$ و $73/7$ سال می باشد (۳۶). در مطالعه Turan و همکاران میانگین سن بیماران مبتلا به باکتریوری بی علامت $9/5 \pm 60/8$ می باشد (۲۵). تفاوت میانگین سنی ابتلا به UTI در بیماران دیابتی، می تواند به دلیل شرایط زندگی و بهداشت فردی نامناسب در بیماران مورد مطالعه ما باشد.

در این مطالعه از باکتری های ایزوله شده، آلودگی به اشریشیا کلی $51/22\%$ ، کلبسیلا پنومونیه $15/24\%$ ، پروتئوس $10/98\%$ ، استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس $7/32\%$ ، اسنیتوباکتر $5/49\%$ ، سیتروباکتر $4/27\%$ ، انتروباکتر $3/04\%$ ، سودوموناس آئروژینوزا $1/22\%$ و پروویدنسیا $1/22\%$ برآورد گردید که شایعترین عامل عفونت ادراری/شریشیا کلی بوده، که هم در بیماران دیابتی زن و هم در بیماران دیابتی مرد، عامل عمده عفونت ادراری بود. هر چند که از نظر فراوانی اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد. بین سن بیماران دیابتی و میزان ابتلا به باکتری/شریشیا کلی رابطه آماری معنی داری مشاهده گردید، به نحوی که با افزایش هر سال به سن بیماران دیابتی مبتلا به UTI، $0/9\%$ از احتمال آلودگی به/شریشیا کلی کاسته می شود ($P < 0.05$). در مطالعه حاضر، بجز/شریشیا کلی هیچ یک از باکتری ها با سن بیماران، دارای ارتباط معنی داری نبودند. تنوع میکروبی در عفونت های ادراری در زنان مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ بیشتر از مرد ها بود. با توجه به اینکه در خانم ها و آقایان به ترتیب اشریشیا کلی، کلبسیلا پنومونیه، پروتئوس و استافیلوکوک ساپروفیتیکوس عامل اصلی عفونت هستند ولی باید مد نظر داشت که تنوع میکروبی در عفونت های

علامت احتمالی و درمان سریع آن، به صورت دوره ای آزمایش کشت ادرار بدهند.

در مطالعه حاضر از ۳۵۳ نفر زن و مرد مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲، تعداد ۳۰ نفر از مردها ($8/5\%$) و ۷۰ نفر از زن ها ($19/83\%$) به UTI مبتلا بودند. در بررسی Edward و همکاران شیوع UTI در زنان مبتلا به دیابت $12/2\%$ بود (۳۳). Boroumand و همکاران نیز شیوع باکتریوری بدون علامت را در زنان دیابتی $10/9\%$ درصد گزارش نمودند (۳۴).

در مطالعه حاضر نسبت جنسی بیماران زن $2/33$ برابر بیشتر از مردها می باشد، به طوری که 70% جمعیت را زنان دیابتی مبتلا به UTI و 30% باقی مانده را مردها تشکیل می دهند. در تجزیه و تحلیل آماری ارتباط معنی داری با سطح ($P < 0.01$) بین جنس و ابتلا به UTI مشاهده گردید، اما از لحاظ ارتباط آماری بین جنسیت بیماران و باکتری های عامل UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ هیچ گونه ارتباط آماری مشاهده نشد، بجز اسنیتوباکتر که در خانم ها با سطح آماری ($P < 0.05$) شایع تر می باشد.

در یک مطالعه ۷ ساله توسط Dimitrov و همکاران که در کویت بر روی ۱۶۰۶ بیمار با باکتریوری قابل ملاحظه انجام شده بود، $74/5\%$ از زنان و $25/5\%$ را مردان تشکیل می دادند، که تقریباً مشابه مشاهدات ما می باشد (۳۵). در مطالعه Bonadio و همکاران از سال ۱۹۹۶ تا سال ۲۰۰۳ بر روی ۳۴۶ بیمار دیابتی مبتلا به UTI، ۲۲۹ نفر زن ($66/18\%$ درصد) و ۱۱۷ نفر مرد ($33/82\%$ درصد) بودند که مشاهدات ما را تصدیق می کند (۳۶). در مطالعه Turan و همکاران $72/2\%$ بیماران زن و $27/8\%$ آنها مرد بودند که مشابه مشاهدات ما می باشد (۲۵).

در مطالعه حاضر میانگین سنی بیماران دیابتی مبتلا به UTI، $56/15$ سال بود و میانگین سنی بیماران مرد دیابتی مبتلا به UTI، $57/23 \pm 10/99$.



دستگاه ادراری در خانم ها نسبت به آقایان بیشتر می باشد.

در مطالعه Turan و همکاران، در بیماران مبتلا به باکتریوری بی علامت، باکتری های اشریشیا کلی ۶۸ درصد، کلبسیلا پنومونیه ۲۳ درصد، انتروباکتر آروژنز ۴/۵ درصد و استرپتوکوک های بتا همولیتیک گروه B ۴/۵ درصد یافت شدند (۲۵). در مطالعه Bonadio و همکاران، مشخص گردید ارگانسیم های جدا شده از بیماران زن مبتلا به دیابت عبارتند از: اشریشیا کلی ۵۴/۱ درصد، گونه های انتروکوکوس ۸/۳ درصد، گونه های سودوموناس ۳/۹ درصد و ۳۳/۶ درصد بقیه باکتری ها و در بیماران مرد مبتلا به دیابت عبارتند از: اشریشیا کلی ۳۲/۵ درصد، گونه های انتروکوکوس ۹/۴ درصد و گونه های سودوموناس ۸/۵ درصد و ۴۹/۵ درصد بقیه باکتری ها (۳۶). در بررسی های Greelings نیز، اشریشیا کلی ارگانسیم غالب بود (۲۹، ۲). هم چنین مشخص گردیده است که در عفونت های ادراری در بیماران بدون دیابت و در بیماران دیابتی نوع ۲ با باکتریوری بدون علامت، شایع ترین عامل عفونت ادراری، اشریشیا کلی است (۳۷، ۳۸، ۳۹، ۳۴، ۲۴، ۲۳).

در مطالعه حاضر ۹۲/۶۸٪ باکتری های عامل عفونت ادراری در بیماران دیابتی را باکتری های گرم منفی تشکیل داده که این باکتری ها بیشترین حساسیت را به نیتروفورانترین داشته و بیشترین مقاومت را به آمپی سیلین نشان دادند. ۷/۳۲٪ باکتری های عامل UTI در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس نوع دو را باکتری های گرم مثبت تشکیل

داده که مقاومت مطلق نسبت به پنی سیلین از خود نشان داده و به دارو های سیپروفلوکساسین، جنتامایسین، وانکومایسین و استرپتومایسین، ۱۰۰ درصد حساس بودند.

در مطالعه Bonadio و همکاران، میزان مقاومت آنتی بیوتیکی اشریشیا کلی در بیماران دیابتی مبتلا به UTI به داروهای آمپی سیلین، کوتریموکسازول، سیپروفلوکسازین و نیتروفورانترین، به ترتیب ۱۹/۲٪، ۱۱/۶٪ و ۸/۴٪ بود (۳۶).

مشابه اکثر مطالعات دانشمندان، در این مطالعه نیز مشخص گردید، اکثر جمعیت مبتلا به دیابت را خانم ها تشکیل داده و ارگانسیم شایع در اکثر بیماران دیابتی، اشریشیا کلی می باشد. در مطالعاتی که بر روی بیماران غیر دیابتی صورت گرفته نیز، خانم ها بیشتر از آقایان به UTI دچار شده و در آنها نیز اشریشیا کلی ارگانسیم غالب می باشد. ولی در جمعیت باکتریایی عامل UTI، در بیماران دیابتی نسبت به بیماران غیر دیابتی تغییراتی وجود دارد و همچنین درصد مقاومت و حساسیت به آنتی بیوتیک های مختلف در بیماران دیابتی متفاوت می باشد. با توجه به اینکه اکثر باکتری های گرم منفی، بیشترین مقاومت را به آمپی سیلین و تمامی باکتری های ایزوله شده از بیماران دیابتی مبتلا به عفونت ادراری، به نیتروفورانترین حساسیت مطلق ۱۰۰ درصد نشان دادند و با توجه به اینکه در این مطالعه ۹۲/۶۸ درصد باکتری های عامل UTI در بیماران دیابتی را باکتری های گرم منفی تشکیل می دهند، بهترین دارو برای درمان نیتروفورانترین می باشد.



منابع و مأخذ

1. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res ClinPract* 2010; 87(1): 4-14.
2. Greelings SE, Meiland R, Hoepelmn A.IM. Pathogenesis of bacteriuria in women with diabetes mellitus. *J Antimicrobial Agents* 2002; 19: 539-545.
3. Balasoiu D, van Kessel KC, Van kats-Renaud HJ, Collet J, Hoepolman AI. Granulocyte function in women with diabetes and asymptomatic bacteriuria. *Diabetes Care* 1997; 20:393-395.
4. Bertoni AG, Saydah S, BrancatiFL Diabetes and the risk of infection related mortality in the US. *Diabetes Care.*2001; 24: 1044-1049.
5. Pozzilli P, Lesli RDG. Infections and diabetes: Mechanisms and prospects for prevention. *Diabet Med* 1994; 11: 935-941.
6. Carton JA, Maradona JA, Nuno FJ, Fernandez-Alvarez R, Perez-Gonzalez F, Asensi V. Diabetes mellitus and bacteremia: A comparative study between diabetic and non diabetic patients. *Eur J Med* 1992; 1: 281-287.
7. Boyko EJ, Fihn SD, Scholes D, Abraham L, Monsey B. Risk of Urinary Tract Infection and Asymptomatic Bacteruria among Diabetes and Nondiabetic Postmenopausal Women. *J Am Epidemiol* 2005; 161: 557-564.
8. Bonadio M, Boldirini E, Forrotti G, Matteucci E, Vigna A, Mori S, Giampietro O Asymptomatic bacteriuria in women with diabetes: inXuence of metabolic control. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 41-45.
9. MacFarlane IA, Brown RM, Smyth RW, Burdon DW, FitzGerald MG. Bactereamia in diabetics. *J Infect* 1986; 12: 213-219.
10. Wheat LJ. Infection and diabetes mellitus. *Diabets care* 1980; 3: 187-197.
11. Stapleton A. Urinary tract infection In patients with diabetes. *Am J Med* 2002; 113(1A): 80-84.
12. Hosking DJ, Bennet T, Hampton JR. Diabetic autonomic neuropathy. *J Diabetes Care* 1978; 27: 1043-54.
13. Ronald A, Ludwig E. Urinary tract infection in adults with diabete. *J Antimicrobial Agent* 2001; 17: 287-289.
14. Brown JS, Vittinghof E, Kanaya AM, Agrawal SK, Hulley S, Foxman B, Urinary tract infection in postmenopausal women: eVect of hormone therapy and risk factors. *ObstetGynecol* 2001; 98:1045-1052.
15. Brown JS, Wessells H, Chancellor MB, Howards SS, Stamm WE, Stapelton A, Steers WD, Van Den Eden S, Mcvary KT. Urologic complication of diabetes. *Diabetes Care* 2005; 8(1):177-185.
16. Boyko EJ, Fihn SD, Scholes D, Chen CL, Normand EH, Yarbo P. Diabetes and the risk of acute urinary tract infection in postmenopausal women. *Diabetes Care* 2002; 25:1778-1783.
17. Baldwin AD, Root HF. Infections of the upper urinary tract in the diabetic patient. *N Engl J Med* 1940; 244-250.
18. Hoepelman IMA, Meiland R, Greelings SE. Pathogenesis and management of bacterial urinary tract infections in adult patients with diabetes mellitus. *J Antimicrobial Agent* 2003; 22: 535-543.
19. Thomas GN, Jiang CQ, Taheri S, Xiao ZH, Tomlinson B, Cheung BM, Lam TH, Barnett AH, Cheng KK. A systematic review of lifestyle modification and glucose intolerance in the prevention of type 2 diabetes. *Curr Diabetes Rev.* 2010; 6: 378-87.
20. Forland M., Thomas V., sheloko VA. Urinary tract infection inpatient with diabetes mellitus. *JAMA.*2004; 232:1921-6.



21. Korzeniowski OM. Urinary Tract infection in the impaired host. *Med Clin North Am.* 2005; 75(2): 391-404.
22. Naber KG. Characteristics of patients with urinary tract infections. *Infection Diseases.* 2002; 3(1):145-150.
23. Makuyana D , Mhlabi D, Chipfupa M, MunyombweT, Gwanzare L Asymptomatic bacteriuria among outpatients with diabetes mellitus in an urban black population. *Cent Afr J Med* 2002;48(7.8):78-82.
24. Mendoza T, García de los Ríos M, Lafourcade M, Soto C, Durruty P, Alvo M. Asymptomatic bacteriuria in type 2 diabetic women. *Rev Med chil* 2002;130(9):1001-7.
25. Turan H, Serefhanoglu K, Torun AN, Kulaksizoglu S, Kulaksizoglu M, Pamuk B, Arslan H. Frequency, Risk Factors, and Responsible Pathogenic Microorganisms of Asymptomatic Bacteriuria in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61: 236-238.
26. Alebiosu CO, Osinube OA, Olajubu FA. Significant asymptomatic bacteriuria among Nigerian type 2 diabetics. *J Natl Med Assoc* 2003; 95(5):344-9.
27. Kayima JK, Otieno LS, Twahir A, Njenga E. Asymptomatic bacteriuria among diabetics attending Kenyatta National Hospital. *East African Medical Journal* 1996; 73(8): 524-6.
28. Zhanel GG, Nicolle LE, Harding GK. Prevalence of asymptomatic bacteriuria and associated host factors in women with diabetes mellitus. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 316-322.
29. Greelings E.S. Urinary Tract Infection in patients with diabetes mellitus: epidemiology, pathogenesis and treatment. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 31S. 2008: 54-57.
30. Hoepolman, I.M. Urinary tract infection in patients with diabetes mellitus. *International Journal of Antimicrobial Agents* 1994; 4(2):113-116.
31. Hoepolman, I.A, Meilad, R., Greelings. E.S. Part I of the International Symposium Hot Topics in Urinary Tract Infection Pathogenesis and management of bacterial Urinary tract infection in Adult patients with diabetes mellitus. *International Journal of antimicrobial Agents* 2003. 22(2): 35-43.
32. Zhanel, G.G., Harding, O.k., Nicolle, L.E. Asymptomatic bacteriuria in patient with diabetes mellitus. *Reviews of Infectious Diseases.* 1991; 13(1):150-154.
33. Edward J. Stephan D. Scholes D. Abraham L. Monsey B. Risk of urinary Tract Infection and Asymptomatic Bacteriuria among Diabetic and Nondiabetic Post menopausal Woman. *American Journal of Epidemiology* 2005, 161(6): 557-564.
34. Boroumand, M.A. and et al. Asymptomatic bacteriuria in type 2 Iranian diabetic woman: a cross sectional study. *BMC Woman Health.* 2006: 6(4):1-7.
35. Dimitrov TS, Udo EE, Emara M, Awni F, Passadilla R. Etiology and antibiotic susceptibility patterns of community-acquired Urinary tract infection in a Kuwait hospital. *Med Prince Pract.* 2004; 13(6):334-90.
36. Bonadio M, Costarelli S, Morelli G, Tartaglia T. The influence of diabetes mellitus on the spectrum of uropathogens and the antimicrobial resistance in elderly adult patients with urinary tract infection. *BMC Infectious Diseases* 2006; 6(54): 1-7.
37. Akya A, Akya F, Rashidtabar, E. The causative agents and the cellular profile of urinary tract infections of patients referred to Vige clinic in Kermanshah 2008-2009. *J Clin Res Paramed Sci.* 2012, 1(1):16-21.
38. Moniri R, Momenheravi M, Musavi G, Sarebani S. 39. Prevalence and risk factors of asymptomatic bacteriuria in diabetic hospitalized patients in Kashan Shahid Beheshti hospital during 2006-7. *Journal of kashan University of medical Sciences (Fez).* 2009, 13(2): 148-152. (full Text in Persian).
39. Brauner A, Flodin U, Hylander B, Ostenson CG. Bacteriuria, bacterial virulence and host factors in diabetic patients. *Diabet Med* 1993;10(6):550-4.

