

## پروتئوس میرابیلیس و رابطه آن با تشکیل سنگهای عفونی ادراری

دکتر اباصلت برجی\*، دکتر شهرام شهرکی زاهدانی\*\*، دکتر هرمز دیار اعتمادی\*\*\*

### خلاصه

سابقه و هدف: با توجه به شیوع سنگ های عفونی ادراری و گزارشهای گوناگون از شیوع پروتئوس میرابیلیس به عنوان یک باکتری اوره آز مثبت در این بیماران و عدم اطلاع از وضعیت آن در کشور، به منظور تعیین شیوع پروتئوس میرابیلیس و رابطه آن با تشکیل سنگ های عفونی ادراری، این تحقیق بر روی مراجعین بخش های اورولوژی دانشگاههای علوم پزشکی تهران و زاهدان طی سال های ۱۳۷۹-۱۳۷۸ صورت پذیرفت.

مواد و روش ها: تحقیق به روش مورد - شاهدهی (Case-Control) انجام گرفت. ۳۰۰ فرد مبتلا به سنگ های ادراری به عنوان گروه مورد و ۳۰۰ فرد سالم به عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. گروهها به لحاظ سن، جنس و مراجعه به یک بیمارستان مشابه سازی شدند. نمونه ادرار گروهها به روش میداستریم تهیه و در محیط مک کانکی کشت و میزان pH ادرار نیز اندازه گیری گردید. شیوع پروتئوس میرابیلیس در نمونه ها و ارتباط آن با بروز سنگ های عفونی ادرار و میزان pH، تعیین و مورد قضاوت آماری قرار گرفت و Odd's Ratio در آن تعیین گردید.

یافته ها: در ۶۰۰ نمونه مورد بررسی، پروتئوس میرابیلیس در ۱۴ درصد گروه مورد و ۳/۳ درصد افراد سالم مشاهده گردید ( $P < 0/0001$ ). بیماران گروه مورد ۴/۷ برابر بیشتر از گروه شاهد در مواجهه با پروتئوس میرابیلیس بوده و نوع pH قلیایی ادرار در گروه مورد ۳ برابر گروه شاهد بود.

نتیجه گیری و توصیه ها: پروتئوس میرابیلیس با افزایش pH ادرار می تواند در ایجاد زمینه مساعد برای تشکیل سنگ های عفونی ادرار نقش داشته باشد. انجام یک مطالعه تحلیلی هم گروهی و یا تجربی برای کاهش مشکل توصیه می شود.

واژگان کلیدی: سنگهای عفونی ادرار، پروتئوس میرابیلیس، باکتری های اوره آز مثبت

### مقدمه

ادرار و ایجاد هیدروکسید آمونیم موجب افزایش pH ادرار می شوند(۳،۴،۵). افزایش pH نه تنها بر روی بافت پوششی دستگاه ادراری عوارض سمی به جا می گذارد، بلکه سبب فراهم کردن شرایط مناسب جهت اشباع بیش از حد آمونیم منیزیم فسفات و کربنات آپاتیت می شود که این امر منجر به کریستالیزاسیون و رسوب

اولین نوع سنگ ادراری که در انسان شناسایی شد، سنگهای عفونی (استروویت) بود که در سال ۱۹۲۰ توسط زمین شناس سوئدی Ulex به افتخار دیپلمات و طبیعی دان روسی Von Struv نامگذاری گردید(۱). سنگهای عفونی در حدود ۲-۳ درصد کل سنگهای ادراری را شامل می شود(۲). باکتریهای اوره آز مثبت با تجزیه اوره موجود در

\* استادیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

\*\* استادیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

\*\*\* دانشیار گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

گروه شاهد افرادی بودند که دارای سنگ ادراری نبوده و هیچگونه علامت بالینی مبنی بر وجود عفونت ادراری، سنگ ادراری و ناراحتی کلیوی نشان نمی دادند. ۳۰۰ نفر از این افراد که از نظر سن و جنس متناسب با افراد بیمار بودند، انتخاب گردیدند.

در کلیه افراد مورد بررسی نمونه ادرار به روش مید استریم بعد از آموزش لازم به افراد جهت گرفتن نمونه ادرار به طور صحیح گرفته شد. نمونه های ادرار با استفاده از بطری درب دار شیشه ای استریل به آزمایشگاه انتقال یافت.

برای کشت نمونه های ادرار، ۰/۱ میلی لیتر ادرار از هر نمونه با استفاده از سرنگ استریل به محیط مک کانکی تلقیح گردید و سپس به روش استاندارد جدا سازی انجام شد و به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه قرار داده شد. باکتری پروتئوس میرابیلیس بر روی محیط مک کانکی به خوبی رشد می کند و مانند سالمونلاها و سایر باکتریهای لاکتوز منفی این خانواده کلنی های بی رنگی به وجود می آورد. کلنی های جدا شده جهت تکثیر و خالص نمودن باکتریها به محیط مولر هیتون آگار پاساژ داده شد و پس از آن جهت تشخیص تفریقی، آزمایشهای افتراقی مانند: تخمیر قندها، فنیل آلانین دامیناز، ارنیتین دکربوکسیلاز، لیزین دکربوکسیلاز، مالونات اکسیداز، سیترات، تولید هیدروژن سولفور، تولید اوره آز و ایندول انجام گرفت (۱۸). pH ادرار با استفاده از نوار ادرار اندازه گیری گردید.

سن، جنس، وضعیت سنگ های ادراری و یافته های آزمایشگاهی افراد در یک فرم اطلاعاتی ثبت گردید و با آزمون  $\chi^2$  و دقیق فیشر مورد قضاوت آماری قرار گرفت و Odd's Ratio برای پروتئوس میرابیلیس تعیین گردید.

#### یافته ها

از ۳۰۰ بیمار گروه مورد، ۲۱۰ (۷۰ درصد) نفر مرد و ۹۰ نفر (۳۰ درصد) زن و نسبت بیماری در مردان به زنان ۷ به ۳ بود. محدوده سنی بیماران بین ۲۳ تا ۷۲ سال بود. میزان مواجهه گروههای مورد و شاهد با پروتئوس

کریستالها و در نتیجه، تشکیل سنگ ادراری می گردد (۶). سنگهای مزبور که از نوع آمونیم منیزیم فسفات ( استروویت ) می باشند (۲) با عمل کردن به صورت یک هسته مرکزی برای کلونیزه شدن باکتریها، سبب وخیم تر شدن عفونت دستگاه ادراری [urinary tract infection (UTI)] یا عفونت مجرای ادراری، افزایش امکان بروز پیلونفریت و عفونت حاد متانه، Sepsis و بروز عفونتهای مکرر ادراری می گردند (۸، ۲۷).

به طور کلی بررسی ها و پژوهش های مختلفی در باره نقش بیماری زائی باکتریهای اوره آز مثبت از جمله پروتئوس میرابیلیس در ایجاد عفونت ادراری و تشکیل سنگهای عفونی انجام گرفته است (۹-۱۵). شیوع سنگ های عفونی ادرار را از حداقل ۲ درصد (۲) تا ۲۰ درصد (۱۷، ۱۶، ۱۱) و ۲۳ درصد (۹) گزارش کرده اند. میزان این نوع سنگها در کشور ما گزارش نشده است و به علاوه در هیچ تحقیق تحلیلی نقش پروتئوس میرابیلیس در بروز بیماری تعیین نشده است. در ضمن، عوامل فرعی دیگر مانند میزان pH در افراد مبتلا به سنگ های عفونی ادراری بررسی نگردیده است. از این رو، به منظور تعیین شیوع پروتئوس میرابیلیس در مبتلایان به سنگ های ادراری مراجعه کننده به بخش اورولوژی دانشگاههای علوم پزشکی تهران و زاهدان و نیز نقش آن در بروز سنگ های عفونی ادراری، این تحقیق انجام گرفت.

#### مواد و روش ها

تحقیق به روش مورد-شاهدی طی سالهای ۱۳۷۸-۷۹ صورت پذیرفت. گروه بیمار شامل ۳۰۰ نفر از افرادی بودند که دارای سنگ ادراری بوده و وجود سنگ در آنها با توجه به علائم بالینی و پرتونوگرافی به تایید رسیده بود. این گروه از بین بیماران مراجعه کننده به بخش های اورولوژی دانشگاه علوم پزشکی تهران و زاهدان انتخاب شدند.

### بحث

تحقیق نشان داد که در ۱۴ درصد مبتلایان به سنگ های عفونی ادراری، پروتئوس میرابیلیس وجود دارد. هر چند در بررسی Rodman بر روی ۳۷۴۰۰ نمونه، فقط ۲ درصد (۷۹۵ مورد) واجد سنگ استروویت بوده اند (۲)، در مراجع مختلف میزان بروز آن در بین تمام سنگها بیشتر از ۲ درصد گزارش شده است (۱، ۱۶، ۱۷). می توان حدس زد که میزان بروز این نوع سنگ در همین حدود است، اما باید توجه داشت که در بسیاری از موارد بیماران بدون شناسایی، سنگهای ریزی را دفع می نمایند و بنابراین، احتمالاً این میزان بالاتر از حد واقعی است. بروز این سنگ در مردها نسبت به زنها ۱۰ به ۲ گزارش گردیده است (۱۶)، در پژوهش حاضر این نسبت ۷ به ۳ به دست آمده است.

تحقیق نشان داد که افراد مبتلا به سنگ های عفونی ادراری، ۴/۷ برابر بیشتر از گروه شاهد در مواجهه با پروتئوس میرابیلیس قرار داشتند و هم چنین این گونه افراد کشت مثبت، در گروه بیماران ۳ برابر بیشتر از گروه شاهد واجد ادرار با pH قلیایی بوده اند.

از آنجایی که پروتئوس میرابیلیس در ابتدای پیشابراه برخی از افراد جامعه وجود دارد و ممکن است وارد نمونه ادرار گردد، بنابراین برای پرهیز از این عامل مداخله کننده بهتر است برای نمونه گیری از پونکسیون مثانه استفاده گردد، اما به دلایل مختلف امکان نمونه گیری به روش پونکسیون از مثانه وجود ندارد. بدین ترتیب ممکن است از ادرار فردی این باکتری جدا شود ولی ادرار فرد قلیایی نباشد که سویه هایی از این باکتری که از افراد بیمار و شاهد جدا شده است مویذ همین نکته هستند. این سویه ها ممکن است موتانت های فاقد آنزیم اوره آز پروتئوس باشند که نه تنها قادر به افزایش pH ادرار و در نتیجه تولید سنگ نمی باشند بلکه توانایی ایجاد عفونت ادراری را نیز ندارند (۱۹). هم چنین باتوجه به این که مجاری ادراری مانند یک بالن آزمایشگاهی نیست که تمام محتویات آن به طور کامل با یکدیگر مخلوط شوند، در نتیجه این امکان وجود دارد که از

میرابیلیس در جدول (۱) ارایه گردیده و نشان می دهد که در گروه شاهد ۳/۳ درصد و در بیماران ۱۴ درصد پروتئوس میرابیلیس وجود داشت که این اختلاف به لحاظ آماری معنی دار بود ( $P < 0.0001$ ). مبتلایان به سنگ های عفونی ادراری ۴/۷ برابر بیشتر از افراد سالم در مواجهه با پروتئوس میرابیلیس قرار داشته اند.

جدول ۱ - توزیع فراوانی مبتلایان به سنگ های عفونی ادراری و گروه شاهد آنها بر حسب رشد پروتئوس میرابیلیس در کشت ادرار آنها طی سال های ۱۳۷۸-۱۳۷۹

پروتئوس میرابیلیس	مبتلا به سنگ عفونی ادرار	
	نبوده (شاهد)	بوده (مورد)
نداشته	۲۹۰ (۹۶/۷)*	۲۵۸ (۸۶)
داشته	۱۰ (۳/۳)	۴۲ (۱۴)
جمع	۳۰۰ (۱۰۰)	۳۰۰ (۱۰۰)

\* مقادیر داخل پرانتز بیانگر درصد است.  $P < 0.0001$

pH ادرار مبتلایان به پروتئوس میرابیلیس در افراد با سنگ های عفونی ادراری و افراد شاهد آنها در جدول (۲) ارائه شده و نشان می دهد که افراد با کشت ادراری مثبت در گروه مورد، ۳ برابر بیشتر از افراد گروه شاهد با کشت مثبت دارای pH قلیایی ادرار بودند.

جدول ۲ - توزیع فراوانی کشت مثبت پروتئوس میرابیلیس در افراد با سنگهای عفونی ادراری و گروه شاهد آنها بر حسب نوع pH ادراری طی سالهای ۱۳۷۸-۱۳۷۹

PH ادرار	افراد با کشت مثبت پروتئوس میرابیلیس	
	شاهد	مورد
قلیایی	۴ (۴۰)*	۲۸ (۶۶/۷)
اسیدی	۶ (۶۰)	۱۴ (۳۳/۳)
جمع	۱۰ (۱۰۰)	۴۲ (۱۰۰)

\* مقادیر داخل پرانتز بیانگر درصد است.

گیرند و چنانچه کشت باکتری از ادرار و سنگ جدا شده از چنین بیمارانی منفی بود، می توان از روش PCR (Polymerase Chain Reaction) برای نشان دادن این باکتری استفاده کرد، زیرا در این صورت میزان جدا سازی این باکتری از نمونه افزایش می یابد به گونه ای که در گزارشی، از ۳۴ بیمار مبتلا به سنگ عفونی که با روش PCR مورد آزمایش قرار گرفتند، ۱۰ نمونه دارای پروتئوس میرابیلیس بود، در صورتی که با روش کشت از ۳ نمونه آنها، این باکتری جدا گردید (۲۱).

بدیهی است در درمان این بیماران به غیر از جراحی و گاهی (در صورت لزوم) برداشتن یک کلیه به منظور پیشگیری از عفونی شدن کلیه دیگر بیمار، حذف عفونت از اقدامات مهم و اولیه می باشد (۲). در ضمن پی گیری این بیماران حتی بعد از حذف کامل عفونت و اصلاح تغذیه آنها ضروری است (۱،۲). به علاوه، در پژوهشهای جدید امکان استفاده از ترکیبات مهارکننده اوره آزمانند هیدروکسیمات ها، مطرح و بررسی گردیده است (۲). هم چنین باید توجه داشت که حدود ۵۰ درصد بیماران واجد استروویت دارای اختلالات زمینه ای متابولیک مانند Hypercalciuria و Hyperuricosuria می باشند، بنابراین جستجو برای عامل زمینه و درمانش لازم است (۲۲).

انجام همه این پیشنهادات به عنوان موضوعات تحقیق، توصیه می گردد.

نظر شیمیایی مایع موجود در یک کالیس کلیه کاملاً با ادرار موجود در باقی همان کلیه فرق داشته باشد. برای مثال، اگر اینفندیولوم باریک باشد ممکن است یک قسمت کوچک از کلیه واجد عفونت شدید با ارگانسمهای اوره آز مثبت و در نتیجه میزان بالایی آمونیاک باشد، اما در ادرار دفعی غلظت بسیار کمتری از آمونیاک وجود داشته باشد (۲).

براساس یافته های ما، pH برخی نمونه های ادرار از هر دو گروه مورد مطالعه قلبایی است ولی پروتئوس میرابیلیس جدا نشده است که علت آن ممکن است وجود سایر باکتریهای اوره آز مثبت از قبیل کورینه باکتریوم یوره آلیتیوم، کلیسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اورئوس، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، سودوموناس آنروژینوزا در ادرار و یا عوامل دیگر باشد که برخی از این باکتریها مانند کورینه باکتریوم یوره آلیتیوم اهمیت زیادی در افزایش pH ادرار دارد (۲۰). به طور کلی، یافته های این بررسی، نقش موثر پروتئوس میرابیلیس را در قلبیانی کردن ادرار نشان می دهد و از این طریق این باکتری می تواند در تشکیل سنگهای عفونی ادراری (استروویت) نقش داشته باشد. با توجه به این که در یک بررسی ۲۰ ساله در بیماران واجد این گونه سنگها که بدون انجام جراحی پیگیری شده بودند، ۲۸ درصد مورتالیتی گزارش شده است (۱)، از این رو، پیشنهاد می گردد که افراد مبتلا به سنگهای ادراری از نظر وجود پروتئوس میرابیلیس در ادرار مورد آزمایش قرار

#### منابع

- 1- Mani M, Bhalchandra GP, Drach GW. *Urinary lithiasis*. In: Walsh PC, Retik AB, Vaughan ED, wein Aj, editors. *Campbell's urology*. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 1998: 2661-733.
- 2- Rodman JS. Struvite stones. *Nephron* 1999; 81: 50 – 9.
- 3- Cault MH, Longerich LL, Crane G, Cooper R, Dow D, best L, et al. Bacteriology of urinary tract stones. *J Urol* 1995; 153(4): 1164 – 70.
- 4- Park JM, Faerber GL. Corynebacterium-induced urethral incrustation. *J Urol* 1994; 151 (6): 1636–37.
- 5- Poore CA, Coker C, Dattelbaum JD, Mobley HL. Identification of the domains of UreR, an araC-like transcriptional regulator of the urease gene cluster in *Proteus mirabilis*. *J Bacteriol* 2001; 183(15):4526-35.
- 6 – Edin-Liljegren A, Grenabo L, Hedelin H, Pettersson S, wang YH. Long term studies of urease- induced -crystallization in human urine. *J Urol* 1994;152 (1): 208–12.

- 7- Johnson DE, Russell RG, Lockett CV, Zulty JC, Warren JW, Mobley HL. Contribution of *Proteus mirabilis* urease to persistence urolithiasis and acute pyelonephritis in a mouse model of ascending urinary tract infection. *Infect Immun* 1993; 61(7): 2748–54.
- 8- Sofras F, Yiannopoulou K, Kostakopoulos A, Dimopoulos C. *Corynebacterium*-induced cystitis with mucosal incrustation. *J Urol* 1988; 139 (4):810.
- 9- Yadav SS, Sharma KK, Chhabra MK, Mathur R, Sadasukhi TC. Nephrolithiasis in children. *Indian J Pediatr* 1993; 30 (10): 1237–42.
- 10- Thomas J, Bover CH, Benassavag E, Steg A, Debre B. Long urethral Ammonium- Magnesium phosphate (Strurite) and calcium phosphor – Carbonate calculi. *J Urol Paris* 1991; 97 (6) : 269 – 77.
- 11- Hokama S, Toma C, Jahana M, Iwanaga M, Morozumi M, Hatano T, et al. Ascorbata conversion to oxalate in alkaline milieu and *Proteus mirabilis* culture. *Mol Urol* 2000; 4(4) :321-8.
- 12- Aria Y, Takeuchi H, Tomoyoshi T. Experimental bladder stone production by human uropathogenic bacteria. *Hinyokika-kiyo* 1997; 43( 3) : 207 – 11.
- 13 - Dumanski AJ, Hedelin H, Edin-Liljegren A, Beauchemin D, Mclean RJ. Unique ability of the *Proteus mirabilis* capsule to enhance mineral growth in infectious urinary calculi. *Infect Immun* 1994; 62(7): 2998- 3003.
- 14 - Hess B, Metzger RM, Ackermann D, Montandon A, Jaeger P. Infection-induced stone formation in a renal allograft. *Am J Kidney Dis* 1994; 24(5) : 868 -72.
- 15- Diamond DA, Rickwood AM, Lee PH, Jonston JH. Infection stone in children: a twenty-seven-year review. *Urology* 1994; 43 (4): 525 – 7.
- 16 – Asplin JR, Coe FL, Favus MJ. *Nephrolithiasis*. in: Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 15 th ed. New York: McGraw-Hill Co; 2001: 1615-26.
- 17- Dinesh KC. *Major non glomerular disorder*. In: Anderoli TE (editor-in-chief). *Cecil essential of medicine*. 5 th ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2001: 266-77
- 18- Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. *Bailey and Scott's diagnostic Microbiology*. 10 th ed. ST Louis: Mosby; 1998: 510–26.
- 19- Li X, Zhao H, Lockett CV, Drachenberg CB, Johnson DE, Mobley HL. Visualization of *Proteus mirabilis* within the matrix of urease-induced bladder stones during experimental urinary tract infection. *Infect Immun*. 2002; 70(1): 389-94.
- ۲۰ - برجی اباصلت، اعتمادی هرمزدیار، مهربان داراب. نقش کورینه باکتریوم یوره آلیتیکوم در تشکیل سنگهای ادراری. طیب شرق، ۱۳۷۸، شماره ۲: صفحات ۸۹ - ۸۵.
- 21- Huang HS, Chen J, Teng LJ, Lai MK. Use of polymerase chain reaction to detect *Proteus mirabilis* and *Ureaplasma urealyticum* in urinary calculi. *J Formos Med Assoc* 1999; 98(12): 844-50.
- 22- Worcester EM, Lemann J. *Nephrolithiasis*. In: *Massry and Glassok's textbook of nephrology*. 3th ed. Baltimore: Williams and Wilkins; 1995: 1054-78.