

بررسی باکتریولوژیک ادرار ۵۰۰ بیمار

دکتر وحیده طبیبی*

مقدمه

۲- با دانستن تعداد پرکنه در میلی لیتر ادرار میتوان به میزان عفونت پی برد .
مواد و روش آزمایش :

بهترین موقع برای جمع آوری ادرار جهت منظور فوق صبح میباشد ولی در صورتیکه مقدار زیادی آب وارد بدن بیمار نشده باشد از ادرار همه ساعات روز میتوان استفاده نمود .

باین ترتیب که بیمار پس از شستشوی دستگاه تناسلی خارجی با صابون یا با يك ماده ضد عفونی کننده مانند هگزا کلورفن قسمت میانی ادرار را در يك ظرف استریل میریزد .

در مواردیکه منظور تشخیص عفونت یکی از کلیهها باشد از سیستم اسکوپپی وسوند داخل حالب کمک گرفته میشود . هم چنین میتوان با وارد نمودن فشار از روی شکم بر حالب یکطرف ادرار کلیه دیگر جمع آوری نمود . برای بدست آوردن ادرار کاملاً استریل میتوان از روش پونکسیون مثانه نیز استفاده نمود در اطفال شیر خوار معمولاً پس از تمیز نمودن دستگاه تناسلی خارجی از کیسههای مخصوص که اطراف آن بوسیله چسب به بدن طفل میچسبند استفاده میشود ولی مدت چسباندن کیسه نباید طولانی باشد .

معمولاً حداکثر یکساعت پس از گرفتن نمونه ادرار باید به کشت آن برای شمارش کلنی اقدام نمود و اگر کشت ادرار باعللی بیش از مدت مذکور بتعویق افتد لازم است ادرار در یخچال (در حرارت ۴ تا ۸ درجه سانتیگراد) نگاهداری شود زیرا ادرار محیط مناسبی برای رشد میکربهاست و در مدت کوتاهی تعداد باکتریها به ۲ تا ۵۰ برابر تعداد اولیه میرسد در غیر اینصورت

تاکنون راجع به رابطه بین باکتری اوری و پبوری و نوع میکرب آمارهای مختلف و متفاوتی گزارش شده است . برای مقایسه نتایج آزمایشگاهی مرکز پزشکی بهلوی با آمارهای فوق ، ادرار ۵۰۰ بیمار که بعلت بیماری دستگاه ادراری و یا تبهای نامعلوم کشت داده شده است از نظر تعداد پرکنه ، نوع میکرب و تعداد گویچههای سفید آن بررسی شده و نتیجه حاصله بصورت جدول و نمودار نشان داده شده است :

۵۰۰ بیمار بستری و سرپائی در مرکز پزشکی بهلوی در مدت ۹ ماه در يك گروه سنی از ۳ ماهه تا ۷۰ ساله از نظر عفونت های دستگاه ادراری مورد مطالعه قرار گرفتند . از کلیه بیماران که ۲۵۶ نفر از آنها زن و ۲۴۴ نفر بقیه مرد بودند آزمایش شمارش سلول و هم چنین کشت ادرار برای شمارش پرکنه بعمل آمد . تنها وجود میکرب یا میکربهای بیماریزا در ادرار نمیتواند دلیل بر بیماری باشد زیرا در دستگاه تناسلی خارجی و قسمت انتهائی مجرا بخصوص در زن ها ، تعداد زیادی میکرب بعنوان فلور میکربی طبیعی وجود دارد که در محیط های کشت رشد مینماید . بنا بر این فقط تعداد میکرب در واحد حجم برای تشخیص عفونتهای دستگاه ادراری اهمیت دارد . امروز بدلائل زیر شمارش پرکنه ادرار جانشین کشت معمولی ادرار گردیده است :

۱- برای گرفتن ادرار جهت شمارش پرکنه از کاتتر استفاده نمیشود ، در نتیجه از عوارض آن که ایجاد عفونت اضافی و بالارونده در دستگاه ادراری است و گاهی هم ممکن است سبب ایجاد سپتی سمی باسپیل گرام منفی شود جلوگیری بعمل آمده است .

*آزمایشگاه مرکز پزشکی بهلوی

۵- روش نوار: نوارهای مخصوصی را در ادرار فرو میبرند و سپس بر روی محیط کشت قرار میدهند و پس از ۲۴ ساعت که در اتوو قرار گرفت تعداد پرکنه‌های ایجاد شده را می‌شمارند و بعد در واحد حجم محاسبه میکنند.

بطور کلی بهتر است از میکربهای بدست آمده آنتی بیوگرام Sensivity Test بعمل آورد زیرا پس از ۱۸ تا ۲۴ ساعت هم میتوان اطلاعات مفیدی برای درمان بدست آورد و هم آنکه گاهی در کشت‌هایی که دو نوع میکرب رشد نموده است دیسک‌های آنتی بیوتیک میتوانند تا حدی به جدا نمودن میکربها از یکدیگر کمک نمایند.

برای شمارش سلولهای ادرار: ۱۰ میلی لیتر ادرار را مدت ۵ دقیقه با ۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ مینمائیم سپس رسوب آنرا با یک میلی لیتر ادرار رقیق می‌کنیم و با بزرگ نمایی قوی میکروسکپ (h. p. f.) میانگین تعداد لکوسیت‌ها را در میدان میکروسکپی تعیین مینمائیم.

نتیجه

در کشت ۵۰۰ نمونه ادرار که با روش Platinum Loop Technique انجام شده، ۱۳۵ نمونه آن مثبت بوده است که آنها را از نظر تعداد پرکنه سه گروه تقسیم میکنیم:

I- تعداد پرکنه بیش از ۱۰۰ هزار در میلی لیتر ادرار ۶۴ مورد (۴۷/۴ درصد)

II- تعداد پرکنه بین ۱۰ هزار تا یکصد هزار در میلی لیتر ادرار ۵۸ مورد (۴۲/۹ درصد)

III- تعداد پرکنه کمتر از ۱۰ هزار در میلی لیتر ادرار ۱۳ مورد (۹/۷ درصد)

نسبت درصد نوع میکرب در گروه‌های سه گانه متفاوت بوده است و اینک بشرح آن می‌پردازیم.

گروه I- از ۶۴ مورد یکصد و بیست و پنج پرکنه در میلی لیتر ادرار داشته است ۵۷ مورد آن یک میکرب بی: ۲۵ مورد اشریشیا کلی (۳۹ درصد) - ۱۳ مورد کلبسیلا پنومونیه (۲۰/۳ درصد) ۱۱ مورد پاراکولون (۱۶/۱ درصد) - ۴ مورد استافیلوکوک کواگولاز مثبت (۶/۲ درصد) - ۳ مورد پروتئوس (۴/۶ درصد) و یک مورد آئروباکتر آئروژنس (۱/۵ درصد) و از ۷ مورد بقیه که دومیکروبی بوده است ۶ مورد اشریشیا کلی با کلبسیلا و یک مورد اشریشیا کلی همراه با آئروباکتر بوده است.

با اضافه نمودن اسید بوریک به نسبت ۱/۸ درصد با درار میتوان آنرا چندین ساعت بدون آنکه میکربها تکثیر نمایند نگاهداری نمود.

روشهای متعددی برای شمارش پرکنه ادرار وجود دارد که اینک طرق متداول در آزمایشگاه شرح داده میشود:

۱- روش رقیق نمودن: ظرف محتوی ادرار را چندین بار بشدت تکان میدهیم تا یکنواخت گردد (۲۵ مرتبه در مدت ۷ ثانیه بطرف بالا و پائین) سپس آنرا به نسبت $\frac{1}{10}$ و $\frac{1}{100}$ و $\frac{1}{1000}$ با آب مقطر استریل رقیق مینمائیم. یک میلی لیتر از ادرار رقیق شده را در بشقاب پتری سترون شده میریزیم و روی آن ۱۵ تا ۲۰ میلی لیتر تریپتیک سوی آگار (۴۰ گرم در لیتر) با حرارت ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتیگراد اضافه مینمائیم و آنرا بمدت ۱۸ تا ۲۴ ساعت در حرارت ۳۵ درجه نگاهداری مینمائیم. پرکنه بشقاب‌هایی را که تعداد آنها بین ۳۰ تا ۳۰۰ عدد باشد با دستگاه مخصوص شمارش پرکنه Colony Counter می‌شماریم و سپس در واحد حجم محاسبه مینمائیم.

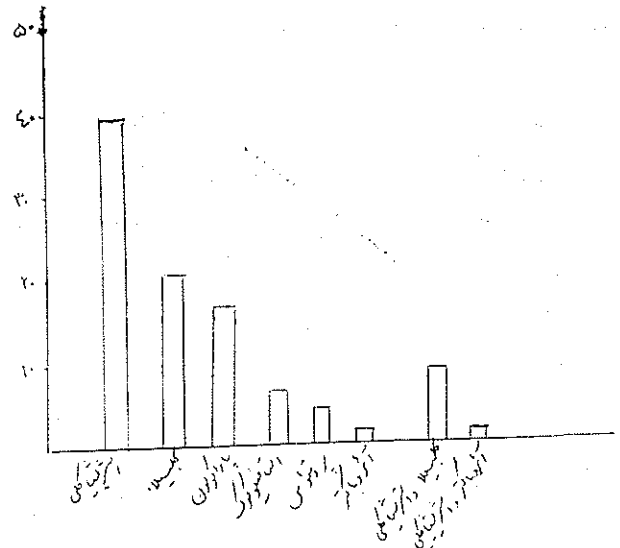
۲- روش Platinum Loop Technique که با یک حلقه استاندارد فیل دو پلاتین بقطر ۴ میلی متر انجام میگردد: حلقه نامبرده ۰/۰۱ میلی لیتر ادرار برداشت مینماید و بکمک آن همین مقدار ادرار را در سطح محیط‌های مناسب مانند آگار خون دار کشت میدهیم (محیط کشت مزبور برای رشد میکربهای خون دوست و گرام مثبت و دیدن عمل لیز بعضی از میکربها مناسب است). برای کشت باسیلهای گرم منفی میتوان از محیط‌های آئوزین متیلن بلو آگار E. M. B. Agar و مک کانکی و دزاکسی کلات آگار استفاده نمود.

در صورت لزوم میتوان از یک محیط کشت بی‌هوایی مانند تیو گلیکولیت هم استفاده نمود، پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت تعداد پرکنه‌ها را در عدد ۱۰۰ ضرب مینمائیم. سپس با روشهای شیمیائی و تخمیر قندها نوع میکرب را تعیین مینمائیم.

۳- روش جدید Henteg یک میلی لیتر ادرار را که به نسبت $\frac{1}{1000}$ رقیق شده باشد در بشقاب پتری محتوی دزاکسی کلات لاکتوز آگار و آگار خون دار میریزیم و بشقاب را بمدت ۲۴ ساعت بطور معکوس در اتوو قرار میدهیم و سپس پرکنه‌ها را می‌شماریم.

۴- روش Dip Slide در این روش محیط کشت بر روی اسلاید ریخته میشود و آنرا در ادرار یکباره کاملاً استریل گرفته شده فرو میبریم و سپس آنرا برای مدت ۲۴ ساعت در حرارت ۳۷ درجه قرار میدهیم و بعد پرکنه‌ها را می‌شماریم.

نمودار شماره ۱ - نسبت درصد انواع میکروبهای گروه I



استافیلوکوک بیماریزا، آئروباکتر و سودووناس (پیوسیانیك) از هر کدام يك مورد و دومورد استافیلوکوک غير بیماریزا و ۴مورد هم دومیکروبی از میکروبهای فوق الذکر بوده است . در این گروه تنها در دو مورد تعداد لکوسیتها فوق العاده زیاد بوده در صورتیکه تعداد پرکنه در یکی از آنها ۳۰۰۰ و در دیگری ۵۰۰۰ استافیلوکوک غير بیماریزا و کلی فرم بوده است چون تعداد پرکنهها کم بوده تعیین نوع کلی فرم لزومی نداشت. دومورد اخیرا میتوان جزء موارد منفی که دارای تعداد زیادی گویچه سفید میباشند بحساب آورد. ادرار را از نظر تعداد گویچههای سفید در میدان میکروسکپ میتوان بسه دسته تقسیم نمود:

دسته ۱: ۵ تا ۱۰ گویچه سفید و بیشتر در میدان میکروسکپی قوی (بزرگ نمائی ۴۰)

دسته ۲: ۳ تا ۵ گویچه سفید در میدان میکروسکپی قوی
دسته ۳: کمتر از سه گویچه سفید در میدان میکروسکپی قوی

۱۳۵ نمونه ادرار مثبت که از نظر تعداد گروه بندی شده از نظر تعداد گویچههای سفید هم تقسیم بندی گردیده و نسبت آنها در جدول زیر نشان داده شده است.

گروه I	گروه II	گروه III
دسته ۱ ۸۹ / ۱ درصد	دسته ۱ ۴۲ درصد	دسته ۱ ۱۵ / ۳ درصد
دسته ۲ ۷ / ۸ درصد	دسته ۲ ۲۹ درصد	دسته ۲ ۳۰ / ۹ درصد
دسته ۳ ۳ / ۱ درصد	دسته ۳ ۲۹ درصد	دسته ۳ ۵۳ / ۸ درصد

گاه تعداد گویچههای سفید در میدان میکروسکپی بسیار زیاد بود تا حدیکه شمارش آن ممکن نبود.

این نکته را نیز باید تسذ کرد که از ۳۶۵ نمونه ادرار که کشت آنها منفی بوده است ۱۲ مورد (۳ / ۲ درصد) از نظر درجه پیوری در دسته ۱ قرار داشتند (تعداد گویچههای سفید آن بیش از ۵ عدد در هر میدان میکروسکپی بود).

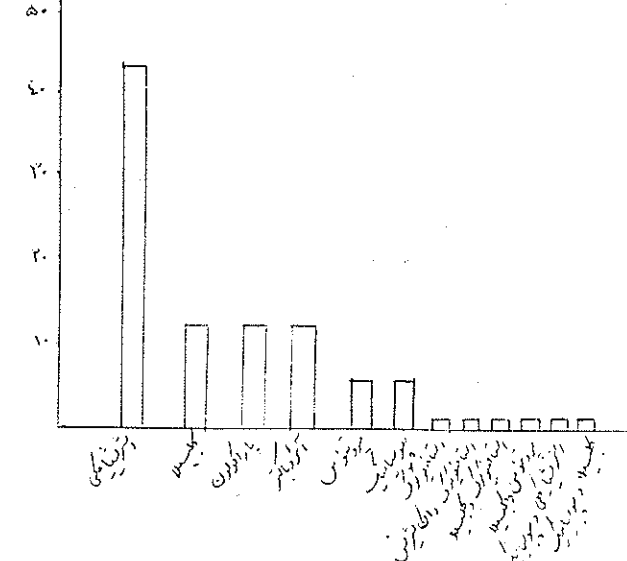
بحث

Kark و همکاران متوجه شدند در صورتیکه شمارش سلولهای ادرار در میدان میکروسکپی بطور دقیق انجام شود نتیجه آن با آدیس کاونت (Addis Count) و دبی مینوت متناسب است و میتوان در حقیقت آنرا يك شمارش نیمه کمی بحساب آورد.

باین ترتیب که شمارش صفر تا پنج لکوسیت در میدان میکروسکپی قوی High Power field تقریباً برابر است با يك میلیون لکوسیت و ارقام بین ۵ تا ۱۰ لکوسیت تقریباً برابر است با يك تا ۱۰ میلیون

گروه II - در ۵۸ مورد تعداد پرکنه در میلی لیتر ادرار ۱۰ تا یکصد هزار بوده است که اشریشیا کلی ۲۵ مورد (۴۳ / ۱ درصد) کلبسیلا - پارا کولون - آئروباکتر هر کدام ۷ مورد (۱۲ درصد) پروتئوس و باسیل پیوسیانیك هر کدام سه مورد (۵ / ۱ درصد) و يك مورد هم استافیلوکوک گولازم مثبت (۱ / ۷ درصد) بوده است . در ۵ مورد بقیه که دو میکروبی بوده است يك مورد استافیلوکوک همراه الكالیزنس يك مورد استافیلوکوک همراه با کلبسیلا پنومونیه يك مورد کلبسیلا با پروتئوس، يك مورد اشریشیا کلی با پیوسیانیك و يك مورد کلبسیلا همراه با پیوسیانیك بوده است.

نمودار شماره ۲ - نسبت درصد انواع میکروبهای گروه II



گروه III : در ۱۳ موردیکه کمتر از ده هزار پرکنه در میلی لیتر ادرار داشته است اشریشیا کلی سه مورد - دیفتر و بید -

در مواردیکه تعداد زیادی گویچه سفید در ادرار مشاهده شود (کلاس ۱) و کشت ادرار ۲۴ تا ۴۸ ساعته منفی باشد باید موارد زیر را در نظر گرفت:

۱- سل دستگاه ادراری: در این صورت معمولاً تعداد زیادی هم‌ماسی با ادرار دفع می‌گردد و وجود بیماری سل در آزمایش مستقیم و با کشت ادرار در محیط‌های مخصوص تشخیص داده می‌شود.

۲- بیمار مبتلا به عفونت دستگاه ادراری هست ولی عامل مولد آن ممکن است میکربهای بی‌هوازی، میکوپلازماها، قارچ‌ها (مانند کاندیدا آلبیکانس و کرپیتو کوکوس ثوفر مانس که در بیماران دیابتی یا بیمارانی که از کورتیزون و ایمنوسوپرسیوها استفاده می‌نمایند پیدا می‌شود [۳])، ویروس‌ها و یا نوع پروتوپلاستیک (L-Form) میکرب باشد.

انواع پروتوپلاستیک میکربها باعث اثر آنتی‌بیوتیک‌ها یا مواد شیمیائی ضد میکربی بر روی سنتز جدار میکرب که از جنس Peptidoglycan میباشد بوجود می‌آید در نتیجه با کتری شکل طبیعی خود را از دست می‌دهد و در این صورت برای کشت آنها باید از روش‌های خاصی استفاده نمود. دومینگ [۹] از کشت ادرار ۱۰۲ بیمار توانسته است ۲۱ مورد L-Form (۲۰ درصد) جدا نماید که با ۱۳ مورد آن میکروارگانیزم اولیه رشد کرده ولی ۸ مورد بقیه از نظر میکرب اولیه منفی بوده است.

۳- بعلت مصرف آنتی‌بیوتیک غیرانتخابی یا در اثر مواد ضد باکتری که گاه با غلظت زیاد با ادرار دفع می‌شود با کتری از بین می‌رود ولی چون دفاع بدن باقی است گویچه سفید دفع می‌گردد. در اینجا لازم است متذکر شویم که جمعاً ۳/۷ درصد از بیماران ما با وجود پیوری شدید کشت ادرار آنها از نظر میکرب منفی یا در گروه III بوده است و از طرف دیگر ۳/۱ درصد از بیماران که بیش از یکصد هزار پرکنه در میلی‌لیتر ادرار آنها رشد نموده بود از نظر دفع گویچه سفید و علائم بسالینی طبیعی بوده‌اند [با کتری بدون علامت Asymptomatic Bacteriuria] که درین صورت یا دفاع بدن کم بوده و یا بیماری در مراحل اولیه بوده است و بدن هنوز فرصت دفاع را پیدا ننموده.

بطور کلی عامل مولد عفونتهای حاد دستگاه ادراری معمولاً آنتروباکتریاسها بخصوص اشریشیا کلی میباشد. در عفونتهای مزمن یا عودکننده یا عفونتهائی که در اثر دستکاری دستگاه ادراری ایجاد می‌شود بنظر می‌رسد که پروتئوس، کلبسیلا - پseudomonasها - آنتروکوک و استافیلوکوک طلائی دخالت داشته باشد.

درخانمه لازم میدانم از همکاری خانم فروردین انارکی تکنولوژیست آزمایشگاه سپاسگزاری نمائیم.

لکوسیت در ادرار ۱۲ ساعته. در حالت طبیعی تعداد گلبولهای سفید ادرار ۱۲ ساعته از یک میلیون تجاوز نمی‌کند در صورتیکه در عفونت‌های مزمن پارانشیم کلیه تعداد لکوسیت‌ها به ۲۴۰۰۰۰ و در موارد خاص به ۴۸۰۰۰۰ و بیشتر می‌رسد. Kass اولین کسی بود که در سمپوزیوم بیمارستان هانری فورد این عقیده را که عفونت دستگاه ادراری همیشه همراه با پیوری است رد نمود.

تشخیص بالینی پیلو نفریت‌ها گاهی بعلت عدم علائم کلینیکی مثبت دستگاه ادراری و همچنین پیوری بسیار مشکل میباشد. حتی گاهی فقط در اتوپسی مشخص می‌گردد. در بیماران ما کشتهای انجام شده بعلت وجود علائم عفونت دستگاه ادراری مساند دیزوری و پلاگوری و یا بعلت تب‌های نامعلوم بوده است. امروزه ثابت شده است تعداد پرکنه از یکصد هزار به بالا در میلی‌لیتر دال بر وجود عفونت حقیقی میباشد. چنانچه تعداد پرکنه ادرار کمتر از ۱۰ هزار باشد یا میکروب از خارج وارد شده است یا فلور طبیعی ادرار است که رشد نموده است (در صورتیکه ادرار بطور معمولی و بدون استفاده از کاتتر گرفته شده باشد).

ارقام بین ۱۰ هزار تا یکصد هزار مشکوک تلقی می‌گردد و در این صورت آزمایش نمونه‌های دوم و سوم ادرار میتواند عفونت حقیقی را تأیید یا رد نماید.

۴۲ درصد از بیماران که از نظر میکرب در گروه II بودند از نظر پیوری در دسته یک قرار داشتند چون در کشت‌های بعدی همان نوع میکرب رشد نموده بود و بعد از تجویز آنتی‌بیوتیک انتخابی اغلب علائم بیماری آنها برطرف گردید و بعد از چندی کشت ادرار آنها منفی و از نظر سلول طبیعی گردیدند و از طرف دیگر تعداد درصد انواع میکربها در گروه II مشابه گروه I میباشد ازینرو بیماران را که شمارش پرکنه ادرار آنها در گروه II باشد مخصوصاً در صورتیکه تعداد پرکنه نزدیک به یکصد هزار باشد و از نظر پیوری در دسته ۱ قرار داشته باشد میتوان مبتلا به عفونت دستگاه ادراری دانست.

آنتی‌بیوتیک‌ها در کشت میکربها و تشکیل پرکنه آنها بسیار مؤثرند زیرا هر چند که آنتی‌بیوتیک مصرف شده برای نوع معینی از میکرب انتخابی نباشد و اثر باکتریسیدهم در روی آن نداشته باشد معذک در بدن تا حدی از رشد آنها جلوگیری مینماید بنابراین باید در انتخاب موقع کشت ادرار دقت نمود که یا قبل از تجویز آنتی‌بیوتیک باشد و یا چند روز پس از قطع آن انجام گیرد.

REFERENCES:

- 1- Addis, T. *J. Clin Invests.*, 2 : 509, 1926.
- 2- Davidsohn, I. *Clinical Diagnosis by lab. methods.* 13th ed. 731-3 Saunders & Co. 1965
- 3- Ergert, H. et al. *Wien. Vinn. Med.*, 50:274, 1969.
- 4- Feingold, D. S. *New. Eng. J. Med.*, 281:1159, 1969.
- 5- Gerald, J. Domingue. *J: Urology.*, 6:790, 1970.
- 6- Henteg, D. J. *Amer. J. Clin. Path.*, 38:304, 1964.
- 7- Kaitz, A. L. *New. Eng. J. Med.*, 262:425, 1960.
- 8- Kass, E. H. *New. Eng. J. Med.*, 265:556, 1957.
- 9- Kass, E. H. *Amer. J. Med.*, 18:764, 1955;
- 10- Kuenssby E. V. *Lancet.*, 1:290, 1970.
- 11- Mc. Donald and others, *New. Eng. J. Med.*, 256:915, 1957.
- 12- Mann, P. G. et al, *Lancet.*, 2:473, 1970.
- 13 Wille. L. et al. *Lancet.*, 1:105-6 1970.