

میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن های 16S rRNA و rec A سویه های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس به دست آمده از سنگ های شاخ گوزنی کلیه

پگاه نوری*^۱، جمیله نوروزی^۲، رباب رفیعی طباطبایی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۲- استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

۳- استاد دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال

*نشانی برای مکاتبه: تهران، میدان آرژانتین، خیابان الوند، کوچه اسفراین، نبش اهورامزدا پلاک ۹ واحد ۲، تلفن: ۰۰۹۱۲۵۹۷۳۶۵۴-۸۸۷۷۷۹۰۱
Pegah_nourii@yahoo.com

پذیرش برای چاپ: آذر نود و چهار

دریافت مقاله: مهر نود و چهار

چکیده

سابقه و هدف: سویه های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس، بیشترین باکتری های جدا شده از سنگ های کلیه را شامل می شوند. ژن *16S rRNA* و ژن *recA* برای نشان دادن روابط تکاملی بین باکتری ها مورد استفاده قرار می گیرد. هدف از این مطالعه، ایزوله و شناسایی پروتئوس میرابیلیس و اشریشیا کلی از سنگ های شاخ گوزنی کلیه بیماران مراجعه کننده به بیمارستان لبافی نژاد به روش بیوشیمیایی و تعیین میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن های *16S rRNA* و *recA* در بین هر دو باکتری بوده است. **روش کار:** از ۱۵۰ بیمار مراجعه کننده به بخش جراحی کلیه بیمارستان لبافی نژاد دارای سنگ شاخ گوزنی کلیه نمونه های سنگ جمع آوری و قسمتی از آن جهت آنالیز جنس سنگ و قسمت دیگر جهت شناسایی باکتری ها بررسی شد. شناسایی باکتری های رشد کرده بر اساس تست های فنوتیپی، بیوشیمیایی و *PCR* انجام گرفت و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها بررسی شد. جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس شناسایی شده، ژن های *16S rRNA* و *recA* توالی یابی شد و درخت فیلوژنتیک توسط نرم افزار *MEGA 4* برای آنها ترسیم شد.

یافته ها: از میان ۱۵۰ بیمار، ۷۳/۳٪ مرد و ۲۶/۷٪ زن بودند و ۴۴٪ نمونه های سنگ از نظر کشت میکروبی مثبت بودند. بیشترین موارد گونه های باکتریایی شناسایی شده شامل ۲۲/۸٪ اشریشیا کلی، ۱۸/۲٪ پروتئوس میرابیلیس، ۱۳/۶٪ استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس بودند. میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن *16S rRNA* در سویه های اشریشیا کلی، ۹۶٪ و در سویه های پروتئوس میرابیلیس، ۹۷٪ را نشان داد. میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن *recA* برای سویه های هر دو باکتری در تمام ژن ها تشابه ۹۸٪ داشتند. بیشترین ترکیب سنگ که کشت باکتریایی مثبت داشتند، از جنس کلسیم اگزالات (۵۷/۵٪) بود.

نتیجه گیری: نتایج این بررسی نشان داد که ژن *recA* نسبت به ژن *16S rRNA* جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس در نمونه های سنگ کلیه مختصری مناسب تر و دقیق تر است. و بهتر است به جای ژن *16S rRNA* از ژن *recA* استفاده شود. که البته این امر به اطلاعات بیشتری نیاز دارد.

واژگان کلیدی: ژن *recA* ژن *16S rRNA*، سنگ کلیه، باکتری اشریشیا کلی، پروتئوس میرابیلیس

مقدمه

التهاب مثانه، پروستات (التهاب پروستات و آبسه پروستات)، مجاری ادرار (اورتریت) ظاهر شود (۱). سنگ شاخ گوزنی کلیه، تهدیدی بزرگ برای سلامت انسان به علت عفونت راجعه دستگاه ادراری می باشد، این سنگ ها بخش اعظم سیستم جمع کننده مجاری ادراری را پر می کنند

عفونت دستگاه ادراری، یکی از شایعترین عفونت های باکتریایی در تمام گروه های سنی می باشد و ممکن است با علائم مختلفی، از باکتریوری بدون علامت، تا عفونت با اختلال عملکرد چندین عضو ادراری، بروز کند. عفونت ممکن است در قسمت های مختلف دستگاه ادراری، مثل: کلیه (آبسه کلیه و

نگهداری و بخش دیگر آن در ۵ میلی لیتر BHI برات کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، از محیط BHI برات بر روی محیط های بلاآگار، مک کانکی و BHI آگار کشت داده شد. نمونه های BHI براتی که بعد از ۲۴ ساعت، جواب کشت منفی داشتند تا ۷۲ ساعت نگهداری و برای نمونه هایی که بعد از ۷۲ ساعت همچنان از نظر رشد منفی بودند، دوباره مقداری از پودر سنگ مرتبط به آنها را در مقداری سرم فیزیولوژی استریل حل نموده و در یک ویال BACTEC کشت داده شد و از نظر رشد بررسی شدند. باکتری ها به دنبال رنگ آمیزی گرم، کشت بر روی محیط های بلا آگار، مک کانکی و BHI آگار و مشاهده مثبت بودن تست های افتراقی، تأیید شدند. برای آنالیز جنس سنگ ها از کیت شرکت صبا استفاده شد.

جهت تعیین حساسیت نسبت به آنتی بیوتیک ها، طبق روش انتشار از دیسک و استاندارد CLSI انجام شد (۷). ابتدا از ایزوله های باکتریایی، کشت تازه ۲۴ ساعته بر روی محیط BHI آگار تهیه شد و سپس از کلنی های رشد کرده در سرم فیزیولوژی، غلظت نیم مک فارلند (1.5×10^8 CFU/ml) تهیه گردید و توسط سوآب استریل، از آن بر روی محیط مولر هینتون آگار، کشت داده شد و سپس دیسک های آنتی بیوتیکی بر روی سطح پلیت قرار داده شد و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای 37°C نگهداری و قطر هاله عدم رشد توسط خط کش اندازه گرفته شد.

جهت استخراج ژنوم باکتریایی از کیت DNA Extraction MBST استفاده شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر (۱۸ میکرولیتر آب، $2/5$ میکرولیتر بافر PCR، ۱ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر پرایمر Forward، ۱ میکرولیتر پرایمر Reverse، ۱ میکرولیتر از DNA ژنوم و در انتها $0/5$ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase) انجام شد. واکنش دناتوراسیون اولیه DNA به مدت ۲ دقیقه برای هر دو (recA و 16S rRNA) در دمای 95°C ، دناتوراسیون ثانویه به مدت ۳۰ ثانیه برای هر دو (recA و 16S rRNA) با قرار دادن در دمای 94°C ، الحاق پرایمر ها به DNA هدف در دماهای 57°C برای recA و 58°C برای 16S rRNA به مدت ۳۰ ثانیه برای هر دو و توسعه پرایمرها در دمای 72°C به مدت ۱ دقیقه در 30 چرخه تکرار و سرانجام در ۷ دقیقه در دمای 72°C برای هر دو واکنش صورت گرفت.

و غالباً لگنجه، اینفاندیبول و حداقل یک کالیس را درگیر می کنند. اثرات زیان بار این نوع سنگها، منشأ نگرانی حتی بعد از عمل جراحی هستند. اکثر سنگهای شاخ گوزنی، سنگهای ناشی از عفونت بوده که جنس آنها استروویت (sturvite) و یا آپاتیت (apatite) می باشند (۳،۲).

پروتئوس میرابیلیس از خانواده انتروباکتریاسه (باکتری روده ای) و یکی از مهمترین پاتوژن های مرتبط با عفونت ادراری دارای عارضه مانند پیلونفریت حاد، عفونت مثانه، سنگ های کلیه و باکتری می و همچنین در بیماران مبتلا به ناهنجاری های آناتومی، دارای نقص سیستم ایمنی و استفاده طولانی مدت از کاتتر می باشد (۴).

اشریشیا کلی نیز شایع ترین باکتری های جدا شده از سنگ می باشد. پتانسیل اشیریشیا کلی در شکل گیری سنگهای شاخ گوزنی و نقش آن در توسعه عفونت بعد از جراحی، به ویژه در بیماران مبتلا به سنگهای حاوی فسفات، اثبات شده است. اشیریشیا کلی همزمان با سایر باکتریها به عنوان عامل UTI (عفونت مجرای ادراری) در سنگ شاخ گوزنی گزارش شده است (۵). اشیریشیا کلی، شایع ترین عامل عفونت ادراری است و ۸۰ درصد از عفونت های UTI را شامل می شود (۶). چون عفونت ادراری به احتمال زیاد میتواند موجب ایجاد سنگهای ادراری عفونی شود، بنابراین با شناخت نوع باکتریهای موجود در سنگ و با آزمایشهای مکرر ادرار و انتخاب آنتی بیوتیک مناسب احتمال دارد که بتوان از تشکیل سنگهای کلیه پیشگیری نمود. هدف اصلی این مطالعه، تعیین میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن های 16S rRNA و rec A سویه های اشیریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس به دست آمده از سنگ های شاخ گوزنی کلیه می باشد.

روش کار

نمونه های سنگ از ۱۵۰ بیمار دارای سنگ شاخ گوزنی که به بخش جراحی بیمارستان لبافی نژاد مراجعه کرده بودند جمع آوری شد. سنگهای شاخ گوزنی با روش جراحی PCNL (Percutaneous Nephrolithotomy) که توسط پزشک متخصص اورولوژی از کلیه بیماران خارج شدند، به میکروتیوپ های حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل شدند. نمونه های سنگ ابتدا توسط سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند و سپس در داخل هاون استریل ریخته و کاملاً خرد و له شدند. پودر سنگ بدست آمده به دو بخش تقسیم شد. یک بخش آن جهت آنالیز ترکیبات سنگ در ظرف استریل

یافته ها

اپیدرمیدیس، ۶٪ میکروکوکوس لوتئوس، ۶٪ انتروباکترکلوآکه، ۴/۵٪ استرپتوکوکوس آگالاکتیه و ۴/۵٪ سودوموناس آئروژینوزا بودند. سویه های اشیریشیا کلی، دارای بیشترین مقاومت (۹۰٪) نسبت به آنتی بیوتیک سفتری زوکسیم، سویه های پروتئوس میرابیلیس بیشترین مقاومت (۵۵٪) نسبت به آنتی بیوتیک سفتریاکسون بودند. ۴۴٪ سنگ های مورد مطالعه از نظر کشت مثبت بودند. بیشترین ترکیب سنگ مربوط به کلسیم اگزالات (۵۷٫۵٪) بود (جدول ۱).

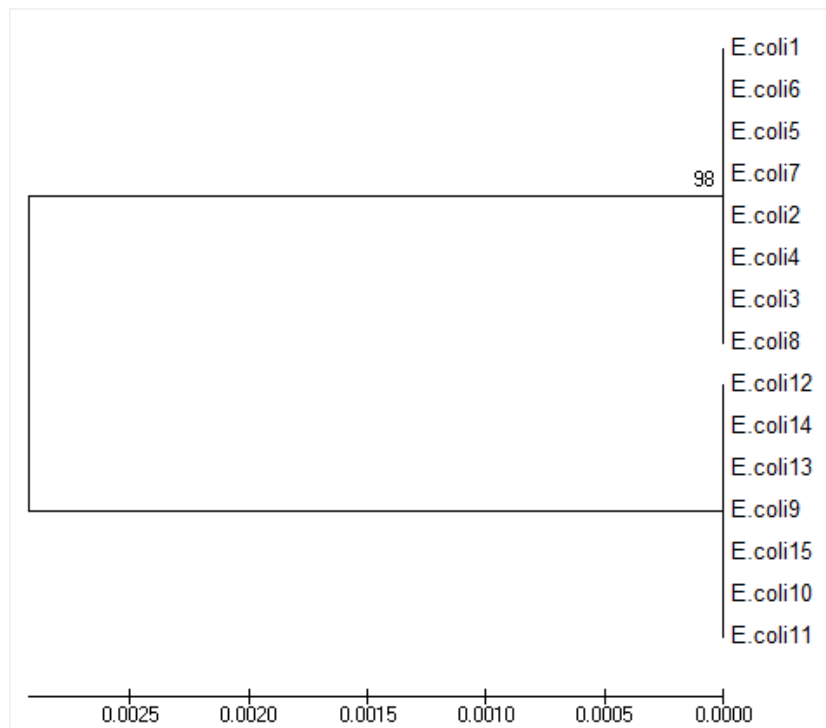
از میان ۱۵۰ بیمار مبتلا به سنگ شاخ گوزنی کلیه مراجعه کننده به بخش جراحی کلیه بیمارستان لبافی نژاد، ۷۳/۳٪ بیماران مرد و ۲۶/۷٪ بیماران زن بودند و ۳۱/۳٪ بیماران دارای شغل های آزاد، ۲۶/۷٪ کارگر، ۲۰/۶٪ خانه دار، ۱۰/۶٪ کارمند و ۱۰/۶٪ کشاورز بودند. باکتری های بدست آمده شامل ۲۲/۸٪ اشیریشیا کلی، ۱۸/۲٪ پروتئوس میرابیلیس، ۱۳/۶٪ استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس

جدول ۱- آنالیز ترکیب سنگ های شاخ گوزنی

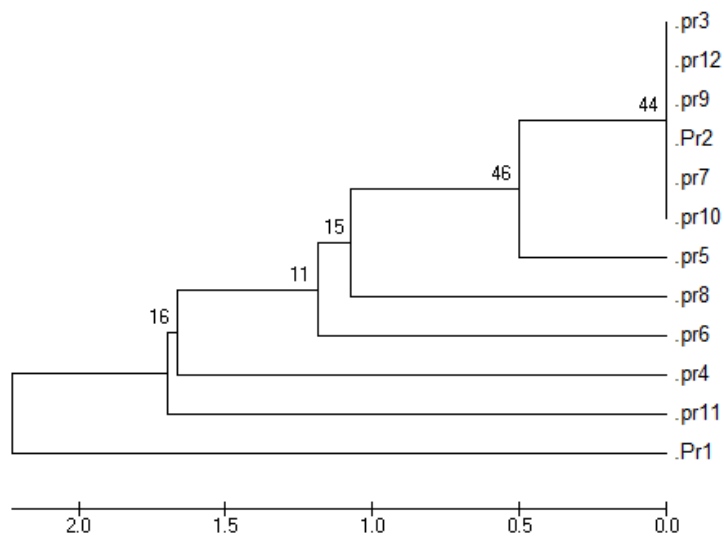
سنگ های با کشت منفی	سنگ های با کشت مثبت	در کل سنگ ها	آنالیز ترکیبات سنگ
تعداد (%)	تعداد (%)	تعداد (%)	
۸۴ سنگ	۶۶ سنگ	۱۵۰ سنگ	کلسیم اگزالات
۱۳ (۱۵/۴٪)	۳۸ (۵۷/۵٪)	۸۰ (۵۳/۳٪)	اسید اوریک
۱۲ (۱۴/۳٪)	۸ (۱۲/۱٪)	۲۳ (۱۵/۳٪)	فسفات کلسیم
۱۶ (۱۹٪)	۱۲ (۱۸/۲٪)	۲۰ (۱۳/۳٪)	کلسیم اگزالات، فسفات
۱۳ (۱۵/۵٪)	۵ (۷/۶٪)	۱۵ (۱۰٪)	کلسیم اگزالات، اسید اوریک
۱۲ (۱۴/۳٪)	۲ (۳٪)	۷ (۴/۷٪)	کلسیم اگزالات، منیزیم فسفات آمونیوم،
۲۱ (۲۵٪)	۱ (۱/۵٪)	۵ (۳/۳٪)	تریپل فسفات

ژن *16S rRNA* و رسم درخت فیلوژنتیک تنها ۶ سویه، شامل سویه های شماره ۳، ۱۲، ۹، ۲، ۷ و ۱۰ تشکیل یک گروه دادند و تشابه ژنتیکی با هم داشتند (شکل ۲). شش سویه دیگر پروتئوس میرابیلیس هر یک به تنهایی در یک شاخه درخت فیلوژنتیک قرار گرفتند و ۹۷٪ تشابه ژنتیکی بین سویه ها وجود داشت.

براساس نتایج بدست آمده از نرم افزار MEGA4 برای آنالیز توالی های ژن *16S rRNA* و ترسیم درخت فیلوژنتیک، سویه های اشیریشیا کلی به دو شاخه یا گروه تقسیم شدند (شکل ۱). هشت سویه اشیریشیا کلی، شامل سویه های شماره ۱، ۶، ۵، ۷، ۲، ۴، ۳ و ۸ در یک گروه قرار داشتند و ۷ سویه، شامل ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۹، ۱۵، ۱۰ و ۱۱ در گروه دیگر قرار داشتند و سویه های پروتئوس میرابیلیس در آنالیز توالی های



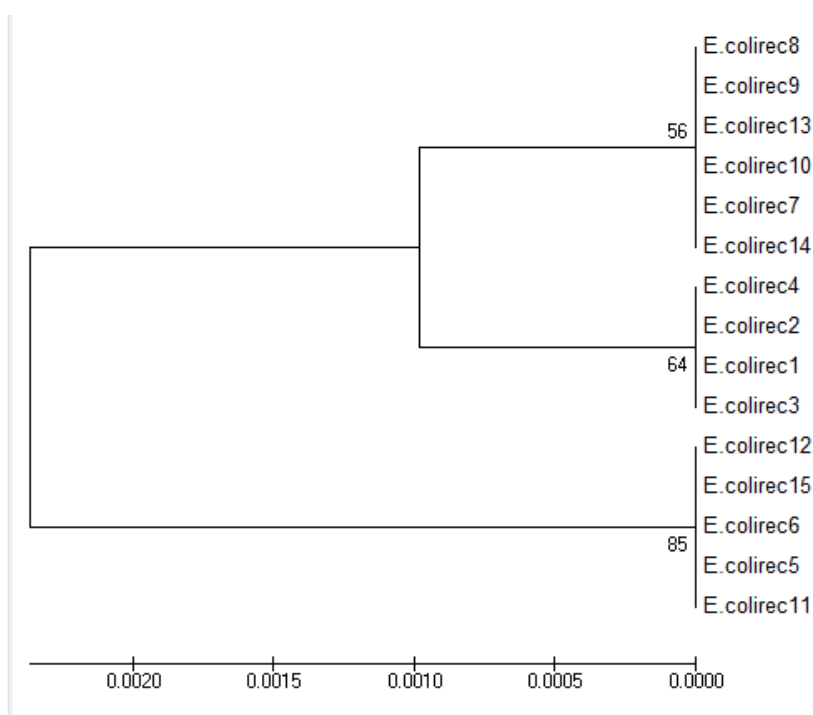
شکل ۱ - درخت فیلوژنتیک ژن 16S rRNA سویه های اشریشیا کلی.



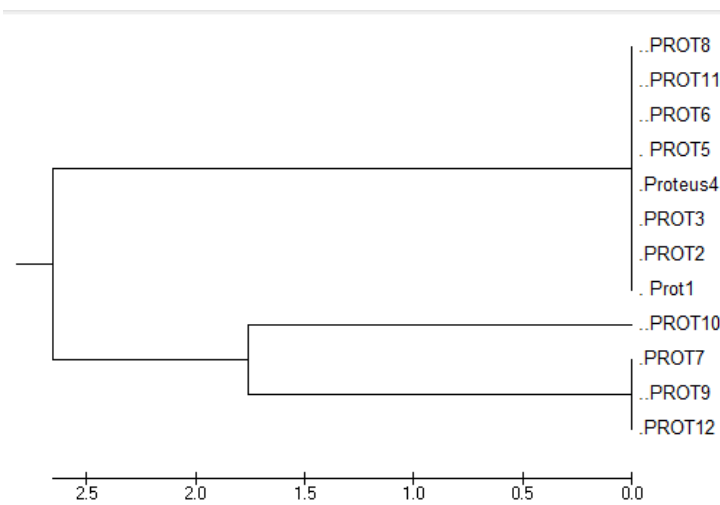
شکل ۲- درخت فیلوژنتیک ژن 16S rRNA سویه های پروتئوس میرابیلیس.

فیلوژنتیک برای ژن *recA* مشخص شد که سویه های پروتئوس میرابیلیس ۳ گروه را تشکیل می دهند. گروه اول شامل ۸ سویه: ۸، ۱۱، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ بود. گروه دوم شامل سویه های ۷، ۹ و ۱۲ بود و گروه سوم تنها شامل سویه شماره ۱۰ بود (شکل ۴). تشابه ژنتیکی بین سویه های هر دو باکتری ۹۸٪ بود.

در آنالیز توالی های ژن *recA* و ترسیم درخت فیلوژنتیک، سویه های /شیریشیا کلی به سه شاخه یا گروه تقسیم شدند (شکل ۳). سویه های موجود در هر یک از گروه ها تشابه ژنتیکی بالا را نشان دادند. شش سویه /شیریشیا کلی، شامل سویه های شماره ۱۴، ۷، ۱۰، ۱۳، ۹، ۸ در یک گروه و ۴ سویه، شامل ۳، ۱، ۲، ۴ در گروه بعدی و ۵ سویه، شامل ۱۵، ۱۲، ۶، ۵، ۱۱ در گروه دیگر قرار داشتند. و با ترسیم درخت



شکل ۳- درخت فیلوژنتیک ژن *recA* سویه های /شیریشیا کلی



شکل ۴- درخت فیلوژنتیک ژن *recA* سویه های پروتئوس میرابیلیس.

بحث

مقاومت آنتی بیوتیکی در باکتری های جدا شده از بیماران سنگ ساز کلیه که دارای عفونت ادراری هستند، بیشتر دیده می شود و بیشترین نوع سنگ های ادراری نشأت گرفته از عفونت های ادراری، سنگ های استروویت بوده که شامل: منیزیم، آمونیوم، فسفات می باشند (۸). آنچه که باعث تمایز مطالعه حاضر از مطالعات سایر محققان شده است، مقایسه وجود ژن *recA* و *16S rRNA* و به دنبال آن آنالیز توالی های این دو ژن به منظور نشان دادن ارتباط ژنتیکی سویه های *اشریشیا کلی* و پروتئوس میرابیلیس بوده است. در مطالعه اخیر، درخت فیلوژنتیک برای ژن *recA* در مورد پروتئوس میرابیلیس و *اشریشیا کلی* ترسیم شد و نتایج نشان داد که توالی این ژن در بین سویه ها تغییرات مختصری داشته (تمام ژن ها تشابه ۹۸٪ داشتند). میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن *16S rRNA* در مورد سویه های *اشریشیا کلی* ۹۶٪ و در مورد سویه های پروتئوس میرابیلیس تشابه ۹۷٪ را نشان داد. در مطالعه ای که توسط Gutacker در سال ۲۰۰۲ در کشور سوئیس انجام شد، آنها نشان دادند که آنالیز و سکانس ژن *recA* روش فیلوژنتیک مناسبی برای بررسی ارتباط سویه های باکتریایی بدست آمده از بیماران است، که نتایج آنها با مطالعه حاضر همخوانی داشت (۹).

Mushtaq و همکارانش در سال ۲۰۱۱ در انگلیس گزارش نمودند که ژن *recA* جهت شناسایی و بررسی ارتباط ژنتیکی سویه های *اشریشیا کلی* عامل عفونت های بیمارستانی مفید می باشد (۱۰). در مطالعه حاضر نیز نتایج بررسی فیلوژنتیک نشان داد که ژن *recA* نسبت به ژن *16S rRNA* جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه های *اشریشیا کلی* و پروتئوس میرابیلیس در نمونه های سنگ کلیه مناسب تر است. در حقیقت توالی ژن *16S rRNA* نسبت به توالی ژن *recA*، تغییرات ژنتیکی بیشتری در بین سویه ها داشت و به علاوه ژن *16S rRNA* در گونه های یک جنس مشترک و اختصاصی جنس است و برای شناسایی سویه های یک جنس حتما نیاز به سکانس شدن دارد. اما ژن *recA* اختصاصی گونه است و نیازی به سکانس شدن ندارد.

Eisen و همکارانش در سال ۱۹۹۵، پروتئین *RecA* را برای مطالعات سیستماتیک مولکولی باکتری ها و مقایسه *recAs* و *16 SrRNAs* از گونه های مشابه، مورد بررسی قرار دادند و نتایج، شباهت ها و تفاوت های بین آنها را به طور خاص نشان دادند و برخی از ویژگی های مفید *recA* برای نظام مولکولی و مطالعات تکامل پروتئین نیز پیشنهاد نمودند که نتایج آنها با مطالعه حاضر مطابقت داشت (۱۱).

در مطالعه حاضر نیز مشابه مطالعه Tavichakortrakool در همکارانش (۸)، Carmen R.P.Amaro و همکارانش (۱۳)، دو گونه *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس*، بیشترین موارد جداسازی را از سنگ ادراری داشتند. با این وجود در مطالعه حاضر بعد از *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس*، گونه های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بیشترین فراوانی را داشتند ولی در مطالعه آنها، گونه های *کلبسیلا* بیشترین فراوانی را داشتند (۸، ۱۳). در مطالعه حاضر بر خلاف مطالعه آنها، هیچ گونه ای از باکتری های *کلبسیلا*، *سالمونلا*، *اسینتوباکتر* و *انتروکوکوس* از نمونه های سنگ ادراری جدا نشد. در مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر سنگ ها دارای ترکیب کلسیم اگزالات (۵۳/۳٪) هستند و بعد از آن سنگ ها بیشتر دارای ترکیب اسید اوریک (۱۵/۳٪) و فسفات کلسیم (۱۳/۳٪) بودند. در سنگ های کلیوی که از نظر کشت میکروبی مثبت بودند نیز بیشتر سنگ ها دارای ترکیب کلسیم اگزالات (۵۷،۵٪) بودند. این نتایج با مطالعه Al-Rasheed و همکارانش همخوانی داشته و در هر دو مطالعه بیشتر سنگ ها دارای ترکیب کلسیم اگزالات بوده اند (۱۴).

نتیجه گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین گونه های باکتریایی شناسایی شده در نمونه سنگ شاخ گوزنی بیماران بیمارستان لبافی نژاد *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس* می باشند و دارای مقاومت بالای آنتی بیوتیکی و در نتیجه استقرار در سنگ های ادراری میشوند. همچنین بررسی های فیلوژنتیک نشان داد که ژن *recA* نسبت به ژن *16S rRNA* جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه های *اشریشیا کلی* و *پروتئوس میرابیلیس* در نمونه های سنگ کلیه مناسب تر است.

در مطالعه حاضر، ۷۳/۳٪ نمونه های سنگ کلیه از بیماران مرد و ۲۶/۷٪ نمونه های سنگ از بیماران زن جدا شدند و از بین ۱۵۰ نمونه سنگ کشت داده شده، ۴۴٪ موارد از نظر کشت میکروبی مثبت بودند. در مطالعه Tavichakortrakool در سال ۲۰۱۲ در تایلند نیز از بین ۱۰۰ نمونه بیمار دارای سنگ کلیه، ۳۶٪ مورد سنگ از نظر کشت میکروبی مثبت بودند که نتایج آنها با مطالعه حاضر همخوانی داشت. همچنین در مطالعه آنها مشابه مطالعه حاضر، بیشتر موارد سنگ کلیه (۵۹٪) از بیماران مرد جدا سازی شده بود (۸).

در مطالعه حاضر، بیشترین موارد گونه های باکتریایی شناسایی شده شامل *اشریشیا کلی* (۲۲/۸٪)، *پروتئوس میرابیلیس* (۱۸/۲٪)، *استافیلوکوکوس اورئوس* (۱۳/۶٪)، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* (۱۲/۲٪) و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (۱۲/۲٪) بودند. باکتری های دیگر نیز مانند *میکروکوکوس لوتئوس* (۶٪)، *انتروباکتر کلوآکه* (۶٪)، *استریتوکوکوس آگلاکتیه* (۴/۵٪) و *سودوموناس آئروژینوزا* (۴/۵٪) از نمونه های سنگ جداسازی شدند. در مطالعه قادر و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در عراق، بیشترین گونه های باکتریایی شناسایی شده شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* (۶/۴٪)، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* (۵/۱٪) و گونه های *پروتئوس* (۳/۸٪) بودند. سایر باکتری های شناسایی شده شامل *اشریشیا کلی* (۲/۶٪)، *سراشیا مارسنس* (۱/۳٪)، گونه های *اسینتوباکتر* (۱/۳٪)، *انتروکوکوس فکالیس* (۱/۳٪) و *سودوموناس آئروژینوزا* (۱/۳٪) بودند مطالعه قادر و همکارانش مطابق با مطالعه حاضر، نشان داد که گونه های باکتری غالب جدا شده از سنگ های ادراری شامل گونه های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *پروتئوس* و *اشریشیا کلی* می باشند (۱۲).

REFERENCES

1. Chen SL, Wu M, Henderson JP, Hooton TM, Hibbing ME, Hultgren SJ, et al. 2013. Genomic diversity and fitness of *E. coli* strains recovered from the intestinal and urinary tracts of women with recurrent urinary tract infection. *Science Translational Medicine*.5 (184): 1860-8.
2. Prywer J, Torzewska A. 2011. Effect of curcumin against *proteus mirabilis* during crystallization of struvite from artificial urine. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.5 (2): 45-52.
3. Haleblan G, Kijvikai K, de la Rosette J, Preminger G. 2008. Ureteral stenting and urinary stone management: a systematic review. *The Journal of Urology*.179(2):424-30.
4. Zunino P, Geymonat L, Allen AG, Preston A, Sosa V, Maskell DJ. 2001. New aspects of the role of MR/P fimbriae in *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*.31 (2): 113-20.
5. Aboderin OA, Abdu A-R, Odetoyin BW, Lamikanra A. 2009. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* strains from urinary tract infections. *Journal of the National Medical Association*.101 (12): 1268-73.
6. Hammad FT, Kaya M, Kazim E. 2006. Bladder calculi: Did the clinical picture change? *Urology*.67(6):1154-8.
7. Mobley HL, Warren JW. 1987. Urease-positive bacteriuria and obstruction of long-term urinary catheters. *Journal of Clinical Microbiology*.25(11):2216-7.
8. Tavichakorntrakool R, Prasongwattana V, Sungkeeree S, Saisud P, Sribenjalux P, Pimratana C, et al. 2012. Extensive characterizations of bacteria isolated from catheterized urine and stone matrices in patients with nephrolithiasis. *Nephrology Dialysis Transplantation*.27(11):4125-30.
9. Gutacker M, Valsangiacomo C, Bernasconi MV, Piffaretti J-C. 2002. *recA* and *glnA* sequences separate the *Bacteroides fragilis* population into two genetic divisions associated with the antibiotic resistance genotypes *cepA* and *cfiA*. *Journal of Medical Microbiology*.51(2):123-30
10. Mushtaq S, Nys S, van der Wal WM, de Borgie CAJM, de Reijke TM, Prins JM, et al. 2011. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother*.172(9):704-12.
11. Eisen JA. 1995. The RecA protein as a model molecule for molecular systematic studies of bacteria: comparison of trees of *RecAs* and *16S rRNAs* from the same species. *Journal of Molecular Evolution*.41(6):1105-23.
12. Qaader DS, Yousif SY, Mahdi LK. 2006. Prevalence and etiology of urinary stones in hospitalized patients in Baghdad. *Eastern Mediterranean Health Journal*.12(6):583-91.
13. Amaro CRP, Goldberg J, Agostinho AD, Damasio P, Kawano PR, Fugita OEH, et al. 2009. Metabolic investigation of patients with staghorn calculus: is it necessary? *International Brazilian Journal of Urology*.35(6):658-63.
14. Al-Rasheed S, Al Jurayyan NA, Al Nasser MN, Al-Mugeiren MM, Al-Salloum AA, Petterson BA. 1995. Nephrolithiasis in children and adolescents in the South Western region of Saudi Arabia. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*.6(4):396.