Archive of SID

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۲۱، شماره۹، آذر۱۳۹۵(شماره پی در پی۱۱۶)

ارتباط بین میزان پروتئین واکنشگرC سرم خون وعوامل ایجاد کننده عفونت در بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سال ۱۳۹۳

سعید شعاع[۱]، مجید باصری صالحی[۱*]، محسن نغماچی[۲]

[۱]گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد کازرون، کازرون، ایران، [۲]گروه تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ وصول: ۱۳۹۵/۵/۱۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۵/۸/۳۰

چکیده:

زمینه و هدف: پروتئین‌های فاز حاد به پروتئین‌هایی گویند که در اثر عواملی هم چون التهاب، نکروز، عفونت باکتریایی و یا ویروسی و بدخیمی‌ها مقدارشان در پلاسما و سرم خون تغییر می‌یابد. یکی از عفونت‌هایی که تغییر پروتئین‌های فاز حاد در آن محتمل است، عفونت ادراری است. هدف اصلی از این مطالعه، تعیین ارتباط بین میزان پروتئین واکنش‌گر -C سرم خون و عوامل ایجاد کننده عفونت در بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادراری در سال ۱۳۹۳ بود.

روش بررسی: در تحقیق حاضر که پژوهشی توصیفی ـ مقطعی است، از مجموع ۲۴۰۰ فرد مشکوک به عفونت ادراری که در طی ۵ ماه در سال ۱۳۹۳ به کلینیک‌های پزشکی شیراز مراجعه کرده بودند، کشت ادرار انجام شد. جهت بررسی مقدار پروتئین واکنش‌گر -C خون بیماران از دو روش الیزا و کدورت سنجی انجام شد. سپس عفونت مجاری ادرار بیماران با وجود بیش از 10^5 کلنی از یک نوع کلنی میکروبی به عنوان کشت مثبت در نظر گرفته شد و بر روی عامل عفونت آزمایش‌های فنوتیپی بوسیله **کیت** API انجام گردید. به علاوه جهت تأیید نتایج به دست آمده آزمایش سکوانسینگ DNA بر روی ژن Sr RNA ۱۶ انجام شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از آزمون‌های آماری توصیفی و مجذور کای تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: از مجموع ۲۴۰۰ بیمار مشکوک به عفونت ادراری، ۱۰۰ بیمار دارای کشت مثبت بودند که از میان آنها ۶۹ درصد *اشرشیاکلی* و ۱۰ درصد *کلبسیلا*، ۵ درصد *انتروباکتر*، ۶ درصد *انتروکوکوس* و ۲ درصد *استافیلوکوکوس* و ۳ درصد بقیه گونه های باکتریایی جداسازی شدند. هم‌چنین میانگین سطح پروتئین واکنش‌گر -C در بیماران دارای عفونت مجاری ادراری دارای افزایش ۵۶/۸ درصد بود. به علاوه هیچ ارتباطی بین سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون بیماران و نوع باکتری عامل عفونت یافت نشد.

نتیجه‌گیری: در عفونت ادراری سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون افزایش یافته اما این افزایش به نوع باکتری ارتباطی ندارد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین واکنشگر سی، عفونت مجاری ادرار، اشرشیاکلی.

[*]**نویسنده مسئول: مجید باصری صالحی**، کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد کازرون، گروه میکروبیولوژی

Email: majidbaseri@hotmail.com.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

مقدمه

عفونت ادراری یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها و نیز شایع‌ترین شکایت مرتبط با سیستم ادراری است و به معنای وجود میکروب دردستگاه ادراری می‌باشد. دستگاه ادراری شامل؛ کلیه‌ها، مثانه و مجرای ادراری است. شایع‌ترین علت بروز عفونت ادراری، آلودگی با میکروب‌های مدفوعی است و در خانم‌ها ۴ برابر شایع‌تر از مردان می باشد(۱). هم‌چنین تعداد موارد بیماری در کودکان نیز زیاد گزارش می‌گردد. عفونت ادراری انواع مختلفی داشته، از بین آنها بروز عفونت مثانه بیشتر مشاهده می‌شود. این عفونت به وسیله باکتری‌هایی با منشاء گوارشی و نیز پرینه مانند؛ اشرشیاکلی، پروتئوس ولگاریس، کلبسیلا پنومونیه، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، انتروباکتر، سیتروباکتر و سودوموناس ایجاد می‌گردد که بیشترین شیوع(۷۵ تا ۹۰ در صد) مربوط به باکتری اشرشیا کلی می باشد. شیوع این عفونت در نقاط مختلف جهان متفاوت است و از نظر ویژگی دموگرافیک جنس مؤنث بیشتر مستعد عفونت مجاری ادراری می‌باشد(۲).

علایم بیماری در عفونت مجاری می‌تواند شامل بد بو شدن ادرار، درد و سوزش هنگام ادرار، کدر شدن ادرار، تکرر ادرار، بی اختیاری در ادرار، احساس سنگینی در لگن و پایین شکم و احساس دفع ادرار فوری و ترشح چرکی از مجرای ادراری باشد(۱).

عفونت مجاری ادراری به واسطه ایجاد التهاب می‌تواند موجب تحریک تولید پروتئین‌های فاز حاد مانند پروتئین واکنش گر C شود. پروتئین‌های فاز حاد[1] به پروتئین‌هایی گویند که در اثر عواملی هم چون التهاب، نکروز، عفونت باکتریایی و یا ویروسی و بدخیمی‌ها مقدارشان در پلاسما و سرم‌خون انسان و حیوانات خون گرم تغییر می‌یابد(۳).

نقش این پروتئین‌ها، کاهش ضایعات التهابی در بافت‌ها می‌باشد. به این ترتیب که آنها، سبب دفع عامل التهاب، خارج کردن و از بین بردن قطعات بافتی صدمه دیده و در نهایت ترمیم بافتی می‌شوند. این پروتئین‌ها جزء سیستم ایمنی ذاتی بوده و قبل از ایمنی اختصاصی شروع به فعالیت می‌کنند. اغلب این پروتئین‌ها از جنس گلیکوپروتئین هستند و منبع اصلی سنتز آنها، سلول‌های کبدی می‌باشند(۴).

میزان ترشح پروتئین‌های فاز حاد به صورت مستقیم و غیرمستقیم به عواملی از جمله سایتوکاین ها، سلول‌های T و غیره بستگی دارد. اندوتوکسین باکتری‌های گرم منفی قوی‌ترین محرک سنتز پروتئین های فاز حاد می‌باشد. علاوه بر این، سایتوکاین‌های اینترلوکین یک[2] ، اینترلوکین شش(IL-6) و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا(TNF-α)[3] تولید شده از ماکروفاژها، بر روی کبد اثر گذاشته، تولید و ترشح پروتئین‌های فاز حاد را از سلول‌های کبدی سبب می شوند(۵).

1-Acute phase protein
2-Interleukin-1(IL-1)
3-Tumor Necrosis Factor -α

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

مقدار پروتئین واکنش‌گر -C و غلظت آن در خون در مرحله فاز حاد از۱ میلی گرم در میلی‌لیتر به ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر افزایش می‌یابد(۵). پروتئین واکنش‌گر -C در فاز استراحت در شبکه اندوپلاسمیک به وسیله باند شدن با کربوکسیل استرازها نگهداری می‌شود. متعاقب تحریک و ساخته شدن پروتئین واکنش‌گر -C در بدن، پروتئین واکنش‌گر -C باند شده با این نواحی کاهش یافته و در نتیجه ترشح مقدار زیاد پروتئین واکنش‌گر -C می‌تواند در خون در زمان کوتاه و به مقدار فراوان در مرحله فاز حاد ترشح گردد(۶).

میکروارگانیسم‌های گوناگونی دارای فسفوکولین هم‌چنین تیکوئیک اسید و گلیکولیپید در دیواره سلولی می‌باشند که می‌توانند با پروتئین واکنش‌گر -C باند شوند و براساس خاصیت اپسونیزاسیون موجب حذف باکتریها گردد(۸ـ۶).

در بیماری‌هایی مثل عفونت باکتریایی، تب روماتیسمی، سکته‌های قلبی حاد، آرتریت روماتوئید مقدار پروتئین واکنش‌گر -C افزایش می‌یابد(۹). با اندازه‌گیری مقدار تیتراسیون پروتئین واکنش‌گر -C سرم می‌توان به شدت بیماری پی برد و با اندازه‌گیری پروتئین واکنش‌گر -C در فواصل زمانی مختلف می توان روند درمان بیماری را کنترل کرده به مؤثر بودن یا نبودن رژیم درمانی پی برد(۱۰).

توانایی پروتئین واکنش‌گر -C در واکنش با گیرنده‌های مختلف در سلول‌های متفاوت و فعال کردن سیستم کمپلمان و باند شدن با لیگاندها نشان می‌دهد که اثرات پروتئین واکنش‌گر -C روی پاسخ‌های التهابی مختلف متفاوت و متغیر می‌باشد(۱۱).

در موش‌های آزمایشگاهی، پروتئین واکنش گر-C باعث جلوگیری از ترشح بسیاری از واسطه‌های شوک سپتیک مثل فاکتور فعال کننده پلاکت‌ها(PAF)[1] و فاکتور نکروز دهنده توموری (TNF-α) و اینترلوکین یک (IL-1) می‌شود(۱۲)، اما به صورت مستقیم نمی‌تواند باعث غیرفعال شدن اندوتوکسین شود(۱۳).

غلظت زیاد از پروتئین واکنش‌گر -C خاصیت مهارکنندگی پاسخ‌های فاکتور کموتاکسی نوتروفیل‌ها را داراست(۱۴) و می‌تواند باعث افزایش سیتوکاین‌های پیش التهابی مثل IL-1 B و IL-6 و TNF-α شود(۱۵).

عفونت مجاری ادرار سالانه بیش از ۷ میلیون نفر از مراجعه کنندگان به پزشکان و ۱ میلیون نفر پذیرش شدگان بیمارستان‌های آمریکا را شامل می شود(۱۶).

درصد عفونت مجاری ادرار در زنان بیشتر است. هم‌چنین عفونت و باعث درگیری سطحی مولکول‌ها[2] و یا درگیری ارگان‌های دیگر مانند کلیه و (پروستات در مردان) می‌شود. عفونت ادراری شامل؛ عفونت مثانه، التهاب پروستات، پیلونفریت می‌باشد که هر کدام تعاریف خاص خود را دارد. ادرار نرمال استریل است. وجود کشت مثبت ادرار و شمارش کلنی بیشتر از 10^5 واحد تشکیل دهنده کلنی در هر میلی‌لیتر

1- Platelet activating factor
2- Superficial mucosal

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

به همراه وجود گلبول سفید و نیتریت عفونت مجاری ادرار را بسیار محتمل می‌کند(۱۷).

بیشترین پاتوژن‌های مسئول عفونت مجاری ادرار گروه انتروباکتریاسه‌ها با برتری *اشرشیاکلی* در آن می‌باشد. سایر گونه‌های باکتریایی شامل؛ *پروتئوس، کلبسیلا، انتروباکتر، انتروکوکوس و استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* می‌باشد و بقیه گرم مثبت‌ها که ۵ درصد باقی مانده را شامل می‌شوند(۱۸).

یکی از فاکتورهای التهابی مشخص و قابل ردیابی آسان در عفونت‌های باکتریایی افزایش میزان پروتئین واکنش‌گر -C می‌باشد و بیماری عفونت مجاری ادراری باکتریایی یک عامل ایجاد کننده التهاب بوده و فرض بر این است که در عفونت مجاری ادراری می‌تواند تغییر مشخص و معنی‌داری را ایجاد کند، هم‌چنین با توجه به این که برای تشخیص عفونت مجاری ادراری[1] از روش کشت استفاده می‌شود و در بسیاری از بیماران عفونی به علت مصرف آنتی بیوتیک کشت نمونه منفی می‌شود در این بیماران شاید بتوان افزایش پروتئین واکنش‌گر -C را معیاری جهت تشخیص عفونت در نظر گرفت(۱۹). هم‌چنین روش کشت به ۲۴ تا۴۸ ساعت زمان نیاز دارد که می توان برای سرعت بخشیدن به تشخیص عفونت در افراد دارای علایم از بررسی پروتئین واکنش‌گر -C سرم استفاده کرد. از طرفی در افرادی که دارای آرتریتیس تائید شده می‌باشند و این بیماری در فاز حاد قرار ندارد ممکن است عفونت مجاری ادراری موجب تحریک افزایش پروتئین واکنش‌گر -C گردد .

بنابراین هدف از این مطالعه بررسی میزان پروتئین واکنش‌گر -C سرم افراد مبتلا به عفونت مجاری ادراری و ارتباط آن با عامل ایجاد کننده عفونت ادراری جهت تشخیص سریع و ارزان عفونت مجاری ادراری بود.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت توصیفی ـ مقطعی در طی خرداد ماه ۱۳۹۳ تا مهرماه ۱۳۹۳ به روش غیر تصادفی- هدفمند، طراحی شد، از میان ۲۴۰۰ بیمار مراجعه کننده به درمانگاه‌های مطهری شیراز، درمانگاه سپهر، درمانگاه اورژانس شهید فقیهی و آزمایشگاه فارابی ، کشت ادرار انجام شد. با کمک پرسش‌نامه اطلاعات آنها جمع‌آوری گردید و علاوه بر آن ۵ میلی لیتر نمونه خون جهت تعیین میزان سطح پروتئین واکنش‌گر -C تهیه شد.

نمونه‌های ادرار این بیماران کشت و مورد ارزیابی میکروبی قرار گرفت. سپس بر روی نمونه های مثبت آزمایش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی صورت گرفت.

۳۰ فرد مراجعه کننده با کشت منفی به عنوان شاهد انتخاب شد و از آنها خون‌گیری انجام گرفت.

شناسایی فنوتیپی عوامل ایجاد کننده عفونت مجاری ادرار، در شناسایی باکتری‌های گرم منفی از استریپ‌های تشخیصی API-20E شرکت بایومریو

1-Urinary Tract Infection(UTI)

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

فرانسه استفاده شد(۲۰). از طریق این نوار ارگانیسم های مربوطه، مورد شناسایی فنوتیپی قرار گرفتند.

ارزیابی سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون بیماران دارای عفونت مجاری ادرار با استفاده از کیت کدورت سنجی شرکت فورترس(انگلیس)به وسیله دستگاه آنالیزر کوباس میرا (سوئیس) مورد ارزیابی کمی‌قرار گرفت.

تأیید ارزیابی سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون بیماران با استفاده از روش دقیق‌تر و حساس‌تر الیزا به وسیله کیت HS-CRP شرکت مونوباند کشور انگلستان انجام گرفت(۲۱).

پس از استخراج DNA جدایه‌ها ، شناسایی ژنوتیپی با استفاده از تکثیر قطعه‌ای از توالی ژن 16SrRNA مربوط به باکتری‌ها انجام گرفت و پس از آن نتایج با برنامه BLAST[1] مورد ارزیابی قرار گرفتند(۲۰). جهت انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، در ابتدا ماستر میکس تهیه گردید. برای تهیه ماستر میکس PCR با حجم۵۰ میکرولیتر، ۳۶ میکرولیتر آب مقطر استریل، ۵ میکرولیتر بافر PCR، ۳ میکرولیتر MgCl2 ، ۱ میکرولیتر dNTP ، ۲ میکرولیتر از پرایمرهای پیشرو و معکوس(با غلظت ۱۰ پیکو مول بر میکروگرم)، ۱ میکرولیتر از آنزیم پلی‌مراز (مرکز ملی ذخایر ژنتیک و زیستی ایران) و ۲ میکرولیتر از DNA الگو مخلوط گردیدند.

نهایتاً فرآیند PCR به وسیله دستگاه ترمال سیکلر(اپندورف ـ آلمان)، انجام گرفت. در این تکنیک برای آغاز فرآیند پلی‌مریزاسیون دستگاه ترمال سیکلر به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس تنظیم شد و متعاقباً ۳۵ سیکل PCR به صورت ۹۵ درجه سلیسیوس برای ۴۰ ثانیه، ۶۰ درجه سلیسیوس برای۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سلسیوس برای مدت۳۰ دقیقه اجرا شد. در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه نیز عمل طویل سازی نهایی در۷۲ درجه سلسیوس انجام شد(۲۲).

محصول حاصل بر روی ژل آگارز الکتروفورز شد و با شناسایی باند اختصاصی، باند از روی ژل بریده و در نهایت برای تعیین توالی، نمونه‌ها به شرکت Ampliqon کشور دانمارک ارسال و نتیجه تعیین توالی در NCBI بانک ژن، بلاست شدند تا جدایه ها تا حد گونه شناسایی شوند.

این پژوهش در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد کازرون به تایید رسیده و دارای کد اخلاق IR.Kauac.REC.1393.26 می‌باشد.[1]

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون‌های آماری کلموگروف ـ اسمیرنف، من ویتنی و کروسکال والیس تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

در بررسی بیماران دارای عفونت مجاری ادرار براساس سن، جنس، سابقه عفونت قبلی مجاری

1-Basic Local Alignment Search Tool

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

ادرار، همراه بودن عفونت ادراری با عفونت‌های دیگر غیر از عفونت مجاری ادرار نتایج زیر بدست آمد.

از ۲۴۰۰ بیمار مشکوک به عفونت ادراری مراجعه کننده به آزمایشگاه، ۱۲۱ بیمار با کشت مثبت شناسایی شدند. باتوجه به این که معیار ورود به مطالعه افراد دارای عفونت ادراری و معیار خروج وجود عفونت از قبیل؛ عفونت گوش، عفونت ریه، عفونت دستگاه گوارش و روماتوئید آرتریت همراه بود، بنابراین ۲۱ نفر برابر با ۱۷ درصد افراد که دارای عفونت همراه بودند از مطالعه خارج شدند. خون‌گیری جهت بررسی میزان پروتئین واکنش‌گر C از ۱۰۰ بیمار به عمل آمد. هم‌چنین ۳۰ فرد مراجعه کننده با کشت منفی(انتخاب شاهد به صورت غیر تصادفی ــ هدفمند و قضاوتی بوده است) به عنوان شاهد انتخاب شد و از آنها خون‌گیری انجام پذیرفت.

نتایج به دست آمده براساس جنسیت نشان داد که عفونت مجاری ادرار در زنان(۸۵ درصد) و در مردان(۱۵ درصد) بودند. از طرف دیگر یافته‌ها نشان داد که بیشترین سن افراد مراجعه کننده، با عفونت مجاری ادرار در محدوده بین ۲۰ تا ۳۰ سال بوده (۲۳ مورد) و کمترین مراجعه کننده در افرادی با سن بالاتر از ۷۰ سال بوده است(۳مورد)، هم‌چنین نتایج حاصل از آنالیز بیماران نشان داد که ۸۲ درصد از افراد مراجعه کننده به کلینیک‌های پزشکی با عفونت مجاری ادرار بدون سابقه قبلی عفونت مجاری ادرار بوده و ۱۸ درصد دارای سابقه عفونت قبل بوده‌اند.

شناسایی فنوتیپی باکتری‌های ایجاد کننده عفونت مجاری ادرار، بیشترین عامل عفونت ادراری در بین بیماران مراجعه کننده مربوط به باکتری اشرشیاکلی[1](۶۹ درصد) کمترین عامل عفونت ادرار مربوط به باکتری سودوموناس[2](۲ درصد) بود. البته باکتری‌های مختلف دیگری مانند کلبسیلا[3]، انتروکوکوس[4]، انتروباکتر و استافیلوکوکوس[5] به ترتیب با درصدهای ۱۰ و ۶ و ۵ و ۵ جدا شدند که نشان دهنده عدم وابستگی عفونت مجاری ادرار به یک عامل می‌باشد.

در بررسی میزان درصد فراوانی باکتری‌های ایجاد کننده عفونت ادرار به تفکیک زن و مرد مشاهده گردید که باکتری *اشرشیاکلی* بیشترین عامل عفونت ادرار می‌باشد(جدول ۲).

بررسی سطح پروتئین واکنش‌گر C- خون در بیماران، در بررسی سطح پروتئین واکنش‌گر C- در خون بیماران دارای عفونت مجاری ادرار و مقایسه سطح پروتئین واکنش‌گر C- به دو روش کدورت‌سنجی و الیزا مشاهده شد که میانگین تغییرات سطح پروتئین واکنش‌گر C- در خون افراد مبتلا به عفونت مجاری ادرار با استفاده از روش کدورت‌سنجی تفاوت معنی داری مشاهده نشد (میانگین تغییرات بین ۷/۶۶ تا ۶/۱۳ گرم در لیتر)، ولی در روش الیزا به دلیل حساسیت بالای آزمون الیزا نسبت به کدورت‌سنجی اختلاف به

1-Escherichia coli
2-Pseudomonas
3-Klebsiella
4-Enterococcus
5-Staphylococcus

www.SID.ir

Archive of SID

صورت معنی‌داری($p<۰/۰۰۱$) دارای تغییرات میانگین بود(میانگین تغییرات بین ۳۹/۲ تا ۱۹ میکروگرم در میلی‌لیتر).

بعد از آنالیز تغییرات سطح پروتئین واکنش‌گر C- بیماران دارای عفونت مجاری ادرار و عوامل باکتریایی ایجاد کننده این عفونت، مشاهده شد که سطح پروتئین واکنش‌گر C- در خون بیماران دارای عفونت مجاری ادرار در مقایسه با سطح پروتئین واکنش‌گر C- خون گروه شاهد دارای تفاوت محسوس و معنی‌داری بوده است($p<۰/۰۰۱$). اگرچه تفاوت‌هایی در سطح پروتئین واکنش‌گر-C عوامل مختلف ایجاد کننده عفونت مجاری ادرار دیده می‌شود، ولی با استفاده از آزمون آماری کروسکال والیس این تفاوت ها معنی‌دار نبود(نمودار ۱).

جدول ۱ : توالی پرایمرهای فوروارد و ریورس برای ژن 16S rRNA

پرایمر	توالی نوکلئوتیدی (۲۲)
HRK1	5'ACTCCTACGGGAGGCAGCAG 3'
HRK2	5'TGACGGGCGGTGTGTACAAG 3'

جدول ۲: میزان درصد فراوانی باکتری‌های ایجاد کننده عفونت ادرار به تفکیک زن و مرد

جنسیت	تعداد	اشرشیاکلی	کلبسیلا	انتروباکتر	انتروکوک	استافیلوکوک	سودوموناس	سایر
زن	۸۵	۶۰	۸	۴	۵	۵	۰	۲
مرد	۱۵	۹	۲	۱	۱	۰	۲	۱
مجموع	۱۰۰	۶۹	۱۰	۵	۶	۵	۲	۳

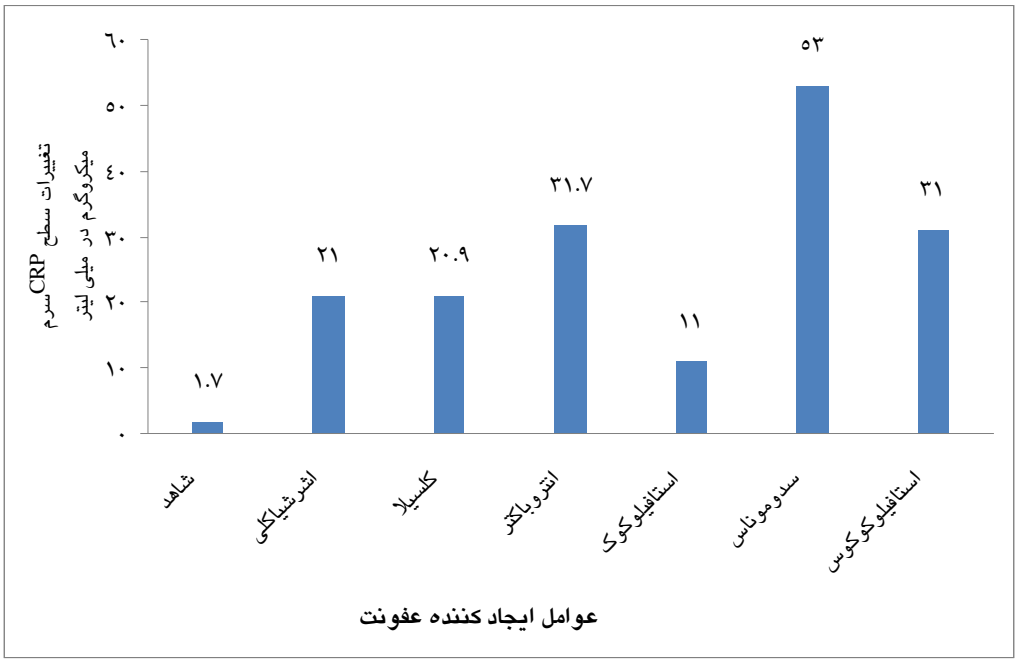
جدول ۳: مقایسه تعیین سطح پروتئین واکنش‌گر -Cدر خون بیماران مبتلا به عفونت ادراری ودارای کشت مثبت با استفاده از آزمون کدورت سنجی و روش الیزا

میانگین تغییرات سطح پروتئین واکنش‌گر -C در بیماران مبتلا به عفونت مجاری ادرار با استفاده از آزمون			
بیماران	تعداد	کدورت سنجی	الیزا
زن	۸۵	۶/۱۳	۱۹
مرد	۱۵	۷/۶۶	۳۹/۲

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱: تغییرات سطح پروتئین واکنش‌گر -C بیماران در مقایسه با عوامل مختلف ایجاد کننده عفونت ادرار

بحث

محدودیت‌های متفاوتی که در انجام کشت ادرار موجود است، هم‌چنین تلاش برای کاهش زمان تشخیص، بنای تحقیق حاضر بود تا بررسی ارتباط بین عفونت ادراری و تغییرات پروتئین واکنش‌گر -C در عفونت ادراری به همراه عوامل ایجاد کننده عفونت ادراری مد نظر قرارگیرد.

پس از آنالیز تغییرات سطح پروتئین واکنش‌گر -C بیماران دارای عفونت مجاری ادراری به روش ناپارامتری، مشاهده شد که افزایش سطح پروتئین واکنش‌گر -C در خون بیماران دارای عفونت در مقایسه با سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون گروه شاهد دارای تفاوت محسوس و معنی‌داری بوده است. اگرچه تفاوت‌هایی در سطح پروتئین واکنش‌گر -C عوامل مختلف ایجاد کننده عفونت مجاری ادرار دیده می‌شود، ولی با استفاده از آزمون آماری کروسکال والیس این تفاوت‌ها معنی‌دار نمی‌باشد($p<0/001$).

مطالعه‌های متفاوتی به وسیله محققین انجام پذیرفته که همسویی نتایج آنها با نتایج حاصل در این مطالعه مشهود است. در ذیل به تعدادی از این مطالعه ها اشاره می‌شود.

براساس مطالعه‌ای در کشور هند بر روی میزان پروتئین واکنش‌گر -C در عفونت مجاری ادراری فوقانی و تحتانی در بیماران بزرگسال انجام پذیرفت، نشان داده شد که پروتئین واکنش‌گر -C به عنوان یک بیومارکر تشخیصی نقش مناسبی در تشخیص و تفریق عفونت‌های ادراری در ناحیه فوقانی و نیز تحتانی دارد. نتایج این مطالعه با مطالعه حاضر انجام شده هم‌خوانی دارد(۲۳). در این مطالعه به علت نوع طراحی مطالعه از افرادی که مراجعه کننده و متقاضی

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

برای کشت ادرار جهت تأیید علایم عفونت ادراری بودند، نمونه‌گیری به عمل آمد بنابراین افتراق عفونت تحتانی از عفونت فوقانی مجاری انجام نپذیرفته است. مطالعه‌ها به صورت متفاوتی تأثیر التهابی عفونت ادراری را هم در ناحیه فوقانی و تحتانی مجاری ادراری گزارش نموده‌اند که در ذیل برخی از این مطالعه‌ها آورده شده است .

در مطالعه‌ای دیگر که در کشور تایوان در سال ۲۰۱۰ در مورد میزان پروتئین واکنش‌گر -C در سرم و ادرار به عنوان یکی از بیومارکرهای تشخیص عفونت دستگاه ادراری تحتانی(LUTS)[1] انجام پذیرفت محققان به این نتیجه رسیدند که بیماران متفاوت دارای LUTS دارای افزایش پروتئین واکنش‌گر -C در سرم بودند، هم‌چنین میزان این پروتئین در ادرار و در خون برابر نبود که نشان می‌داد افزایش پروتئین واکنش‌گر -C در LUTS به عنوان یک بیومارکر به صورت غیر اختصاصی بوده و نشان دهنده وجود مکانیسم التهابی است. در مطالعه اشاره شده، پروتئین واکنش‌گر -C خون به وسیله روش بررسی بسیار حساس پروتئین واکنش گر-C [2] و میزان بیان پروتئین واکنش‌گر -C در مثانه به وسیله Real time PCR اندازه گیری شد که نتایج مطالعه حاکی از امکان استفاده از پروتئین واکنش‌گر -C سرم به عنوان یک بیومارکر تشخیصی سریع و ارزان برای بررسی عفونت‌های مجاری ادراری می‌باشد. همان‌طور که مشخص است تست‌های مولکولی دارای حساسیت و اختصاصیت بالایی می‌باشند در این مطالعه نیز به روش مولکولی نشان داده شده که بیان پروتئین واکنش‌گرC در عفونت تحتانی مجاری ادراری نیز امکان افزایش دارد.

همانطور که قبلاً نیز گفته شد در مطالعه حاضر افرادی که دارای نشانه‌های عفونت ادراری بودند و از طریق مراکز درمانی جهت انجام آزمایش‌ها به آزمایشگاه ارجاع داده شد و کشت ادرار و شمارش کلنی در آنها مثبت ارزیابی شده است، مورد ارزیابی میزان پروتئین واکنش گرC قرار گرفتند که اختلاف معنی‌داری (p<۰/۰۰۱)در افزایش حضور این پروتئین در عفونت ادراری مشاهده شد(۱۹).

مطالعه‌ای در ژاپن میزان پروتئین واکنش‌گر -C را در بیماران دارای کارسینومای یوروتلیال فوقانی درمان یافته با نفرویورترورکتوتومی[1] رادیکال بررسی نمود. در این مطالعه میزان پروتئین واکنش‌گر -C سرم در کارسینومای یوروتلیال فوقانی به عنوان بیومارکر بوده و اندازه پروتئین واکنش‌گر -C می توانست پیش آگهی جهت عود بیماری و هم‌چنین شاخصی برای بررسی مرگ و میر ناشی از این سرطان به خصوص باشد، در صورتی که اندازه پروتئین واکنشگر –C بعد از عمل کارسینومای یوروتلیال فوقانی جهت پروگنوز بیماری مناسب نمی باشد. در مطالعه ذکر شده نیز تغییرات در پروتئین واکنش‌گر -C با هدف استفاده از این پروتئین به عنوان

1-Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS)
2- High sensitivity CRP assay 3-Klebsiella

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

یک مارکر تشخیصی در بیماری همراه با التهاب در مجاری ادراری است(۲۴). با توجه به این که ترشح پروتئین‌های فاز حاد به صورت غیر اختصاصی صورت می‌پذیرد، لذا می‌توان انتظار داشت که در بیماری‌های التهابی دیگر که در این ناحیه ایجاد می شود نیز ترشح پروتئین‌های فاز حاد و به خصوص پروتئین واکنش گر C صورت گرفته و افزایش نشان دهد. از این نشانه‌ها در کنار علایم دیگر اثبات بیماری، می‌توان به عنوان یک مارکر تشخیصی استفاده نمود. در مطالعه حاضر نیز عفونت مجاری ادراری که ایجاد کننده التهاب می‌باشد مورد توجه قرار گرفته است که افزایش معنی‌داری در پروتئین واکنش گر C نشان داده شد($p<۰/۰۰۱$).

در مطالعه‌ای دیگر در ترکیه میزان‌های پروتئین واکنش‌گر -C در دختران با نشانه های نقص در عملکرد بر اثرغیر طبیعی بودن مجرا و نیز عفونت مجاری ادراری تحتانی مورد بررسی قرارگرفت. در این مطالعه مشاهده شد که پروتئین واکنش‌گر -C سرم در دختران با شرایط عفونت به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بیشتر بود . اگرچه مطالعه‌های زیادی افزایش میزان پروتئین واکنش گر C را به عفونت فوقانی دستگاه ادراری نسبت داده‌اند، اما در برخی از مطالعه‌ها این افزایش را در عفونت ادراری تحتانی نشان دادند(۲۵)، که نتایج مطالعه حاضر نیز تأیید کننده این موضوع می‌باشد.

در کشور ایران نیز مطالعه‌ای در قزوین جهت مقایسه تست‌های پروکلسیتونین[۲] و پروتئین واکنش گر -C در کودکان با عفونت مجاری ادراری انجام پذیرفت و هیچ رابطه معنی‌داری بین درگیری پارانشیمال مجاری و میزان پروکلسیتونین و پروتئین واکنش‌گر -C در مجاری ادراری وجود نداشت، اما نتایج نشان داد که پروکلسیتونین تست بهتری نسبت به پروتئین واکنش‌گر -C جهت تشخیص می‌باشد. با توجه به این که در این مطالعه بررسی پروکلسیتونین و پروتئین واکنش‌گر -C در ادرار انجام پذیرفته است و افزایش این پروتئین‌ها در سرم بیشتر از میزان مترشحه آنها در ادرار می‌باشد، لذا تغییرات در میزان پرکلسیتونین و پروتئین واکنش‌گر -C در سرم می‌تواند در عفونت ادراری با احتمال بیشتری در تست‌های آماری معنی‌دار شود، بنابراین افزایش در مقدار پروکلسیتونین و پروتئین واکنش‌گر -C در ادرار که در این مطالعه گزارش شده است، به حدی نبوده که نتایج معنی‌داری را نشان دهد. از طرفی مطالعه حاضر به دنبال ایجاد تغییرات پروتئین واکنش‌گر -C در خون بوده است لذا عدم معنی‌داری در افزایش پروتئین واکنش‌گر -C در مطالعه فوق عدم هم‌خوانی در نتایج با مطالعه حاضر ایجاد نمی‌کند، اما با توجه به این که

1- Nephroureterectomy
2- Procalcitonin

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

عنوان شده که حساسیت تست برای تغییرات پروکلسیتونین بیشتر از تست پروتئین واکنش‌گر -C می‌باشد بنابراین بررسی تغییرات پرکلسیتونین در مطالعه‌ای جداگانه ضروری به نظر می‌رسد(۲۶).

در تحقیق حاضر مقدار پروتئین واکنش‌گر -C در خون افرادی که مبتلا به بیماری عفونت مجاری ادرار بودند، با آزمون‌های کدورت‌سنجی و الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت. با این فرض که در عفونت‌های مجاری ادرار سطح پروتئین واکنش‌گر -C سرم خون دچار تغییر می‌شود که به وسیله داده‌های تحقیق حاضر مورد تأیید قرار گرفت.

از طرف دیگر از فرضیه‌های این تحقیق تحت تأثیر قرار گرفتن سطح پروتئین واکنش‌گر -C خون در بیماران با عوامل مختلف باکتریایی بود که یافته‌های این تحقیق چنین فرضیه‌ای را مورد تأیید قرار نداد.

اگر چه در برخی از مقالات گزارش‌ها حاکی از عدم تغییر پروتئین واکنش‌گر -C در خون افراد مبتلا به عفونت مجاری ادرار مشاهده شده است، اما در تحقیق حاضر نشان داده شد که سطح پروتئین واکنش‌گر -C در خون می‌تواند تحت تأثیر عفونت مجاری ادرار تغییر کند. نتایج بدست آمده مقدار۵۶/۸ درصد افزایش پروتئین واکنش‌گر -C در خون افراد مبتلا به عفونت مجاری ادرار به وسیله آزمون الیزا را نشان داد. این مسئله بیان‌گر آن است که چنانچه بتوان از پروتئین‌های ایجاد شده فاز التهاب حاد مانند پروتئین واکنش‌گر -C در تشخیص استفاده نمود، علاوه بر این که سرعت تشخیص عفونت ادراری بهبود می‌یابد به علت هزینه کم آزمون پروتئین واکنش‌گر -C هزینه کمتری برای بیمار در بر دارد.

نکته مهم در این تحقیق این است، در صورتی که بیمارانی با بیماری‌های التهابی دیگر(مانند روماتوئید آرتریت) وجود داشته باشد که مقدار پروتئین واکنش‌گر -C در این افراد به عنوان شاخص مهمی‌برای وضعیت بیماری آنها در نظر گرفته شود، باید وجود و یا عدم وجود عفونت مجاری ادراری در آنها به روش دیگری مورد ارزیابی قرار گیرد و چه بسا در بیماران مذکور وجود عفونت مجاری ادراری بتواند به عنوان وضعیت حاد التهابی در دوره بیماری طبیعی قلمداد شود.

در پایان پیشنهاد می‌شود جهت تأیید بیشتر یافته‌های این پژوهش، ارزیابی و تعیین سطح پروکلسی تونین در عفونت‌های مجاری ادراری به عنوان یک بیومارکر جدید انجام پذیرد، هم چنین ارزیابی و مقایسه پروتئین‌های فاز حاد مثل الفا آنتی تریپسین در عفونت مجاری ادراری مد نظر قرار گیرد و نیز در بررسی گسترده تر افزایش پروتئین های التهابی فاز حاد در عفونت ادراری با افتراق بین عفونت فوقانی و تحتانی انجام پذیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان عنوان کرد که بین عفونت ادراری و سطح پروتئین واکنش گر C خون و افزایش آن ارتباط معنی‌داری وجود دارد، ولی بین نوع باکتری و تغییرات سطح پروتئین واکنش گر C خون ارتباط معنی‌داری مشاهده نمی‌شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد مصوب در معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی‌واحد کازرون بوده که تحت حمایت علمی دانشگاه مذکور انجام پذیرفته است.

www.SID.ir

Archive of SID

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

REFERENCES:

1.Ahmed Al-Badr and Ghadeer Al-Shaikh. Recurrent Urinary Tract Infections Management in Women. Sultan Qaboos Univ Med J 2013; 13(3): 359–67.

2.Ana Cristina Simões e Silva, Eduardo Araújo Oliveira . Update on the approach of urinary tract infection in childhood. J Pediatr (Rio J) 2015; 91(1): S2-S10.

3.Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, Danesh J. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. Lancet 2010; 375(9709): 132-40.

4.Gigante B, Strawbridge RJ, Velasquez IM, Golabkesh Z, Silveira A, Goel A, et al. Analysis of the role of interleukin 6 receptor haplotypes in the regulation of circulating levels of inflammatory biomarkers and risk of coronary heart disease. PLoS One 2015 ;10(3): e0119980.

5.Westra J, Bijzet J, Doornbos-van der Meer B, Van Rijswijk MH, Limburg PC. Differential influence of p38 mitogen activated protein kinase (MAPK) inhibition on acute phase protein synthesis in human hepatoma cell lines. Ann Rheum Dis 2006; 65(7): 929-35.

6.Thompson D, Pepys MB, Wood SP. The physiological structure of human C-reactive protein and its complex with phosphocholine . Structure 1999; 7: 169-77.

7.Kapur R , Heitink-Pollé KM, Porcelijn L, Bentlage AE, Bruin MC, Visser R, et al. C-reactive protein enhances IgG-mediated phagocyte responses and thrombocytopenia. Blood 2015;125(11):1793-802.

8.Wulaningsih W , Holmberg L , Abeler-Doner L , Ng T , Rohrmann S , Van Hemelrijck M. Associations of C-Reactive Protein, Granulocytes and Granulocyte-to-Lymphocyte Ratio with Mortality from Breast Cancer in Non-Institutionalized American Women. PLoS One 2016; 11(6): e0157482.

9.Sachin J, Vidhi G, Sania N. Acute-phase proteins: As diagnostic tool.J Pharm Bioallied Sci 2011; 3(1): 118–27.

10.Aziz Khan F, Fareed Khan M. Inflamation and Acute phase Response. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2010; 1(2): 312 -21.

11.Yao Y, Tu Y, Lu Q. Values of C-reactive protein, percentage of neutrophils and mean platelet volume in early diagnosis of neonatal sepsis. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi 2015; 17(5): 425-9.

12.Chae MR, Park BH, Kim JS. Protective effect of C-reactive protein against the lethality induced by *Vibrio vulnificus* lipopolysaccharide . Microbiol Immunol 2000; 44: 335-40.

13.Mold C, Rodriguez W, Rodic Polic B. C-reactive protein mediates protection from lipopolysaccharide through interactions with Fc gamma. R J Immunol 2002; 169: 7019-25.

14.Meng S , Zhang L, Zhao L, Fang Y, Fujimoto T, Hirano S, et al. Effects of C-reactive protein on cc chemokine receptor 2-mediated chemotaxis of monocytes. DNA and Cell Biology 2012; 31(1): 30-5.

15.Mckay HS, Bream JH, Margolick JB, Martínez-Maza O, Phair JP, Rinaldo CR, et al. Host factors associated with serologic inflammatory markers assessed using multiplex assays. Cytokine 2016; 85: 71-9.

16.Martin S , Vincent A , Taylor AW , Atlantis E , Jenkins A , Januszewski A , O'Loughlin P , Wittert G. Lower urinary tract symptoms, depression, anxiety and systemic inflammatory factors in men: a population-based cohort study.PLoS One 2015;10(10): e0137903.

17.Fred Nabbugodi W , Wanyoike Gichuhi J , Mugo N W . Prevalence of Urinary Tract Infection, Microbial aetiology , and Antibiotic Sensitivity Pattern among Antenatal Women Presenting with Lower Abdominal Pains at Kenyatta National Hospital,Nairobi, Kenya. The Open Access Journal of Science and Technology 2015; 3:1-6.

18.Amiri M , Lavasani Z , Norouzirad R , Najibpour R , Mohamadpour M , Nikpoor AR , et al. Prevalence of urinary tract infection among pregnant women and its complications in their newborns during the birth in the hospitals of dezful city, iran, 2012 – 2013. Iran Red Crescent Med J 2015 ; 17(8): e26946.

19.Yao-Chi , Vikas T, Rue-Tsuan L, Michael B. Chancellor,pradeep tyagi. Urine and serum c-reactive protein levels as potential biomarkers of lower urinary tract symptoms. Urol Sci 2010; 21(3): 132–6.

20.Tille P. Diagnostic microbiology, Bailey & Scott's, 13th ed. Enterobacteriaceae.Elsevier Health Sciences, 2013.20; 307-328.

www.SID.ir

Archive of SID

21.Heurtault B, Reix N, Meyer N, Gasser F, Wendling MJ, Ratomponirina C, et al. Extensive study of human insulin immunoassays: promises and pitfalls for insulin analogue detection and quantification. Clin Chem Lab Med 2014; 52(3): 355-62.
22.Körkoca H, Alan Y, Bozari S, Berktas M, Goz Y. Detection of putative virulence genes in Aeromonas isolates from humans and animals. J Infect Dev Ctries 2014; 8(11): 1398-406.
23:Agrawal P, Pandey A , Sompura S , Pursnani ML. Role of Blood C – reactive protein levels in upper urinary tract infection and lower urinary tract infection in adult patients (>16 years). Journal of the Association of Physicians of India 2013; 6: 462-3.
24.Tanaka N, Kikuchi E, Shirotake S, Kanao K, Matsumoto K, Kobayashi H. The predictive value of c-reactive protein for prognosis in patients with upper tract urothelial carcinoma treated with radical nephroureterectomy: a multi-institutional study. Europeanurology 2014; 65: 227 –34.
25.Tarhan H, Ekin RG, Can E, Cakmak O, Yavascan O, Mutlubas Ozsan F, et al. C-reactive protein levels in girls with lower urinary tract symptoms. Journal of Pediatric Urology 2016; 12(105): e104.
26.Ayazi P, Mahyar A, Jahani Hashemi H, Daneshi MM , Karimzadeh T, Salimi F. Comparison of procalcitonin and c-reactive protein tests in children with urinary tract infection . Iranian Journal of Pediatrics 2009; 19 (4): 381-6.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

www.SID.ir

Archive of SID

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Evaluating the relationship between serum C-reactive protein and factors causing infections in patients with urinary tract infection in 2014

Shoa S[1], Baseri Salehi M[1*], Naghmachi M[2]

[1]Department of Microbiology, Azad University Kazeroun Branch, Kazeroun ,Iran, [2]Department of Nutrition, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 5 Aug 2016 Accepted: 20 Dec 2016

Abstract

Background and aim: Acute phase proteins are proteins built by factors such as inflammation, necrosis, bacterial infection, virus and malignancies and its value will changes in plasma and serum. UTI is one of the probable infections that changes this protein. The main purpose of this study was to determine the relationship between serum C- reactive protein and causative factors in patients with urinary tract infection was in 1393.

Methods: In the present cross-sectional study, 2400 patients with suspected urinary tract infection were referred to medical clinics during five months urine culture were performed. ELISA and turbidity test were used to measure the amount of blood C- reactive protein. The urinary tract infection in patients with more than 105 colonies was considered as a positive culture, and then phenotypic test infection was performed by API kit. In addition; to confirming the results obtained DNA Sequencing experiments were conducted on genes Sr RNA 16. The data was analyzed using descriptive statistics and Chi-square tests.

Results: Among the total of 2400 patients with suspected urinary tract infection, 100 patients had positive culture with 69% *E.coli,* 10% *klebsiella*, 6% enterococcus, 5% *Enterobacter* 2% and 3% were the other bacteria respectively. The results indicated that the level of CRP in the UTI patients increased to 56.8%. In addition, no association was found between blood levels of C- reactive protein and the type of the bacterial agents.

Conclusion: The level of C- reactive protein blood was inceased in urinary tract infections increased, but this increase is not related to the type of bacteria.

Key words: Agent Bacterial infection, C - reactive protein, Urinary tract infection

[*]**Corresponding author: Baseri Salehi M**, Department of Microbiology, Azad University Kazeroun Branch, Kazeroun, Iran
Email: majidbaseri@hotmail.com

Please cite this article as follows :
Shoa S, Baseri Salehi M, Naghmachi M. Evaluating the relationship between serum C-reactive protein and factors causing infections in patients with urinary tract infection in 2014. Armaghane-danesh 2016; 21 (9): 924-938.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 10:06 +0430 on Tuesday May 23rd 2017

www.SID.ir