تشخیص آزمایشگاهی عفونت‌های دستگاه ادراری

دکتر محمدرضا عزیزی (دکتری علوم آزمایشگاهی) و دکتر ریحانه رهنما (دکتری ایمونولوژی بالینی)

آزمایشگاه پاتوبیولوژی و ژنتیک اریترون

چکیده:

عفونت‌های دستگاه ادراری (UTI) در طول زندگی افراد بسیار شایع است و یکی از پرکارترین بخش‌های آزمایشگاه تشخیص میکروبی است، بنابراین دستورالعمل‌های روشن برای تفسیر کشت‌های ادرار توسط تکنسین‌های آزمایشگاه برای دستیابی به نتایج استاندارد، قابل اطمینان و مفید بالینی ضروری هستند. در مقالات، اغلب روش دقیقی برای پردازش نمونه‌های ادراری وجود ندارد.

در این توافقنامه، گروه مطالعه BILULU یک رویکرد عملی برای اجرای دستورالعمل‌های موجود برای کشت ادرار در آزمایشگاه میکروب‌شناسی ارائه می‌دهد و پاسخ‌هایی را برای مسائلی ارائه می‌دهد که هیچ راه‌حل واضحی در دستورالعمل‌ها برای آنها وجود ندارد.

گروه مطالعه BILULU شامل ۷ میکروبیولوژیست آزمایشگاه‌های بیمارستانی است که در Flanders (Belgium) مستقر هستند. هدف اصلی این گروه، استانداردسازی مراحل تشخیص میکروبی بر اساس شواهد و بر اساس علم میکرب‌شناسی و نظرات کارشناسان است. شواهد علمی دستورالعمل آزمایش‌های ادراری فعلی ناقص است و برخی نکات در آن به‌خوبی روشن نشده است. هدف این پروژه رفع ابهامات جزءبه‌جزء این دستورالعمل است.

عفونت‌های دستگاه ادراری (UTI) در طول زندگی افراد بسیار شایع است و هم در افراد سالم و هم افرادی که دارای سیستم ایمنی ضعیف‌تری هستند مشاهده می‌شود. UTI بیشتر در زنان شایع است و احتمال ابتلا به آن در طول زندگی فرد ۵۰٪ است.

تشخیص عفونت ادراری بر اساس علائم و نشانه‌های بیمار و با کمک شواهد آزمایشگاهی مانند وجود گلبول‌های سفید و باکتری در ادرار انجام می‌گیرد. تشخیص آزمایشگاهی به‌وسیله شمارش گلبول‌های سفید، آزمایش نواری (dipstick) و کشت ادرار صورت می‌گیرد.

کشت ادرار یک بخش پرکار در بخش میکروب‌شناسی آزمایشگاه است. دستورالعمل‌های واضح برای تفسیر کشت‌های ادرار توسط تکنسین‌های آزمایشگاهی برای دستیابی به نتایج استاندارد، قابل اطمینان و مفید بالینی ضروری است. نتایج این مقاله به دو صورت به‌دست آمده است؛ توسط جستجو در اینترنت و مقالات مرتبط و نیز به‌وسیله مطالعه و ارزیابی روش‌های روتین.

مرحله پیش از آزمایش: جمع‌آوری نمونه، انتقال و رسیدگی به آن

جمع‌آوری نمونه

در بزرگسالان اغلب نمونه‌های ادرار جمع‌آوری‌شده برای آزمایش به‌وسیله تکنیک نمونه‌گیری از وسط نمونه ادرار صورت می‌گیرد. این تکنیک در همه‌جا بسیار مورد قبول قرار گرفته است زیرا ساده، ارزان و غیرتهاجمی است و ریسک عوارض جانبی ندارد.

شمارش کلونی‌های نمونه‌های ادراری جمع‌آوری‌شده به‌وسیله این روش منطقی است و با نمونه‌هایی که به‌وسیله آسپیراسیون supra-pubic و یا کاتتر مستقیم گرفته شده‌اند مطابقت دارد. یکی از معایب این روش این است که نمونه ادرار ممکن است هنگام خروج از مجرای ادرار توسط باکتری‌های فلور طبیعی آلوده شود. یک راه ساده برای کاهش این مشکل، تمیز کردن پوست ناحیه تناسلی از آلودگی، مو و ترشحات است. همچنین جمع‌آوری نمونه به این روش از کودکان، سالمندان و افراد ناتوان دشوار است.

آسپیراسیون supra-pubic بهترین روش برای جلوگیری از آلودگی نمونه‌های ادراری در کودکان کم سن است ولی این روش کمتر کاربرد دارد زیرا تهاجمی، دشوار و زمان‌بر است. جمع‌آوری نمونه ادرار به‌وسیله کاتتر روش دیگر جمع‌آوری نمونه ادرار است که میزان آلودگی نمونه را کاهش می‌دهد. اگرچه این روش به چندین دلیل کاربرد محدودی دارد؛ این روش دشوار، پرهزینه و تهاجمی است و با وارد کردن کاتتر در مثانه احتمال انتقال باکتری‌ها و عفونت مثانه وجود دارد. از آنجایی که پروسه کشت ادرار به نوع نمونه گرفته‌شده بستگی دارد، ضروری است که روش جمع‌آوری نمونه در فرم درخواست آزمایشگاه ذکر شود. نکته ضروری دیگر تاریخ و زمان جمع‌آوری نمونه است و همچنین هر نکته کلینیکی مانند درمان آنتی باکتریایی، شرایط ایجادکننده عفونت ادراری مانند اختلالات آناتومیکی، سنگ یا وجود مواد خارجی باید مشخص شود. (جدول ۱)

انتقال و ذخیره نمونه‌ها:

مطالعات بسیاری اثر منفی تأخیر در انتقال و انجام تست‌های ادراری را بر روی نتایج آزمایشگاهی نشان داده‌اند. در این مطالعات افزایش تعداد واحد تشکیل کلونی (CFU) بر ml بیش از 10^5<CFU/ml برای این نمونه‌ها مشاهده شد که موجب نتایج مثبت کاذب می‌شود، بنابراین در دستورالعمل‌های فعلی توصیه می‌شود که نمونه‌ها ظرف دو ساعت از نمونه‌گیری مورد آزمایش قرار گیرند. (جدول ۱). اگر نمونه ادرار در این مدت ۲ ساعته به آزمایشگاه نرسد، نمونه‌ها می‌توانند تا ۲۴ ساعت در ۸-۲ درجه ذخیره شوند. راه دیگر هم جمع‌آوری نمونه‌ها در ظروف حاوی ماده نگه‌دارنده است مانند اسید بوریک-گلیسرول و یا اسید بوریک سدیم.

قابلیت تکرارپذیری نمونه ادرار:

گاهی بیش از یک نمونه ادرار برای تشخیص عفونت ادراری لازم است، به‌عنوان مثال در موارد آلودگی مجرای ادرار که منجر به مثبت کاذب می‌شود و موارد منفی کاذب در مورد مصرف زیاد مایعات. پس از شروع درمان ضدمیکروبی، باکتری‌ها پس از ۴۸ ساعت از ادرار حذف می‌شوند. برای اثبات ریشه‌کن شدن باکتری‌ها کشت ادرار توصیه نمی‌شود مگر در مورد نقص در انجام درمان.

تشخیص احتمالی UTI (عفونت‌های ادراری)

آزمایش نواری ادرار (تشخیص نیترات ردوکتاز و لکوسیت استراز)، شمارش سلول‌ها (به‌وسیله میکروسکوپ، فلوسیتومتر و یا تکنیک‌های تشخیص عکس) و میکروسکوپی نمونه‌های رنگ‌آمیزی گرم، تکنیک‌های مهمی برای تشخیص احتمال UTI هستند. در هر دو نوع مطالعه گذشته‌نگر و آینده‌نگر نشان داده شده است که آزمایش‌های نواری به میزان لازم برای تشخیص عفونت‌های ادراری حساس نیستند.

علت حساسیت کم تست‌های نواری و نتایج منفی کاذب آنها عبارتند از:

- مدت زمان کم ماندن ادرار در مثانه که برای تبدیل نیترات به نیتریت کافی نیست.
- دفع ادراری کم نیترات
- عدم توانایی برخی از ارگانیسم‌ها برای تبدیل نیترات به نیتریت (مانند Enterococcus faecalis)
- کاهش pH ادرار (در موارد نوشیدن برخی نوشیدنی‌ها مانند کورن‌بری و یا رژیم‌های غذایی خاص).

مقالات مختلف نتایج متفاوتی را برای تشخیص باکتری در ادرار به‌وسیله فلوسیتومتری گزارش نموده‌اند. برحسب نوع نمونه، حساسیت و ویژگی از ۷۴ تا ۱۰۰ درصد و ۴۱/۹ تا ۹۸/۲ متفاوت است. رنگ‌آمیزی گرم نمونه‌های ادراری نیز می‌تواند به‌عنوان تکنیکی برای غربالگری عفونت ادراری استفاده شود، ولی این کار دشوار و مستلزم تجربه کافی است. حساسیت تکنیک بستگی به این دارد که آیا نمونه سانتریفوژ شده یا خیر. در نتیجه ما روش نواری، فلوسیتومتری و یا رنگ‌آمیزی گرم را به‌عنوان معیاری برای کشت و تشخیص عفونت ادراری توصیه نمی‌کنیم. یک مرور کلی از توصیه‌های قبل از بررسی آزمایشگاهی برای تشخیص میکروبیولوژی UTI در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱

Summary of the pre-analytical phase regarding urinary specimen collection, transportation and handling.

	Description	Reference
Urinary specimen storage time	- Room temperature: max 2 h - Refrigerator (2–8 °C): max 24 h	(Leber, 2016)
Replication limit	- One sample per sample type every 24 h	(Jorgensen et al., 2015; Sharp, 2009); BILULU Expert opinion; (Leber, 2016)
Rejection or acceptance of samples for diagnosis of UTI?	- **Acceptable** sample types: ○ Clean catch-voided midstream urine ○ Supra-pubic punction ○ Indwelling catheter ○ Single sondage ○ Urinary stoma* ○ Pedibag - **Suboptimal** sample types ○ Samples preserved > 2 h at room temperature or > 24 h at 2–8 °C ○ Samples in leaking containers - **Unacceptable** sample types ○ 24-h urine collections ○ Catheter tip/bag ○ First-voided urine fraction ○ Samples contaminated with faeces	
Definition of pyuria	- Flow cytometry techniques ○ Adults: ≥ 20–25 WBC/μL ○ Pediatrics (0–2 years of age): ≥ 10–25 WBC/μL - Microscopy techniques: ○ All patients: 10 WBC/μL	(Roggeman and Zaman, 2001; Manoni et al., 2013)

* High contamination rate; Abbreviations: WBC: white blood cells.

بررسی نمونه

کشت نمونه‌ها تعداد CFU/ml را مشخص می‌کند و جداسازی کلونی‌های باکتری را برای شناسایی و تست تعیین حساسیت فراهم می‌کند. کشت نمونه‌های غیرتهاجمی باید تشخیص 10^4 یا 10^5 CFU/ml را موجب شود. این تشخیص معمولاً به‌وسیله استفاده از ۱ میکرولیتر از ادرار بر روی محیط کشت مناسب مشخص می‌شود. برای نمونه‌های تهاجمی‌تر (مانند آسپیراسیون supra-pubic) و یا برای کشت مخمرها، ۱۰ میکرولیتر از ادرار باید بر روی محیط کشت مناسب تلقیح شود تا به حداقل تشخیص 10^2 CFU/ml برسد. استفاده از مقادیر بیشتر از ۱ میکرولیتر نمونه برای کشت می‌تواند موجب رشد بیشتر شده و نتایج را تغییر دهد.

نمونه‌های ادرار را می‌توان به روش‌های مختلف بر روی محیط کشت تلقیح کرد. به غیر از موارد استفاده از پیپت‌های کالیبره شده، در سایر موارد استفاده از شمارش کلونی تقریبی است و تا بیشتر از ۱۰۰ برابر می‌تواند خارج از رنج باشد، خصوصاً در تعداد بالاتر یک کلونی نشان‌دهنده یک CFU نیست و کشت ادرار دقت لازم را ندارد، به همین جهت برای نتایج مطمئن‌تر استفاده از لوپ‌های استریل، کالیبره‌شده یا اتوماتیک برای مقادیر ۱ و ۱۰ میکرولیتر برای تلقیح نمونه‌های ادرار توصیه می‌شود. علاوه بر محیط کشت MacConkey agar، تعداد زیادی از محیط‌های رنگ‌زای انتخابی برای شناسایی و تمایز پاتوژن‌های ادراری وجود دارد. این محیط‌های ادراری می‌توانند برای همه نمونه‌های ادراری یا آنهایی که ریسک آلودگی بیشتری دارند (مانند نمونه‌های گرفته شده به‌وسیله کیسه ادراری) استفاده شوند. ارگانیسم‌های خاص کلونی‌های رنگی ایجاد می‌کنند که بسته به آنزیم‌هایی دارد که تولید می‌کنند و واکنش آنها با مواد موجود در محیط کشت. این محیط‌ها شناسایی اکثر پاتوژن‌های ایجادکننده عفونت ادراری شامل Enterobacteriaceae و Enterococci را امکان‌پذیر می‌کنند.

علاوه بر محیط‌های MacConkey agar و رنگ‌زا، محیط Blood agar برای شناسایی باکتری‌های گرم مثبت و مشکل‌پسند بکار می‌رود.

همچنین محیط کشت‌های colistin-nalidixic acid (CNA) آگار یا Phenylethyl alcohol agar برای شناسایی باکتری‌های گرم مثبت و مهار رشد و swarming باکتری پروتئوس بکار می‌روند.

برای نمونه‌های ادراری گرفته شده از بیماران سرپایی، تلقیح روتین بر روی محیط‌های کشت انتخابی برای باکتری‌های گرم مثبت لازم نیست، چون اکثر عفونت‌های ادراری ایجادشده در بیماران سرپایی به‌وسیله باکتری‌های گرم منفی هوازی ایجاد می‌شوند.

حتی در جمعیت‌های بیمار که در آن Staphylococcus saphrophyticus یک علت شایع UTI است، استفاده از محیط کشت‌های انتخابی لازم نیست. نمونه‌های ادراری که از بیماران بستری در بیمارستان گرفته می‌شوند اغلب آلوده به Enterococci هستند. از آنجایی که پاتوژن‌های قارچی به‌خوبی در محیط Blood agar رشد می‌کنند، بنابراین لزومی ندارد که از محیط‌های انتخابی قارچ برای کشت ادرار استفاده شود.

در مواردی که احتمال بالای عفونت ادراری در اثر عوامل قارچی و مخمرها وجود دارد، در صورت درخواست پزشک، از یک محیط قارچی اضافی (sabouraud یا chromagar) نیز استفاده می‌شود. در مواردی که احتمال می‌رود باکتری‌های مشکل‌پسند مانند Actinotignumschaalii عامل عفونت ادراری باشد، پیشنهاد می‌شود که از بلاد آگار در ترکیب با یک محیط کشت انتخابی مانند MacConkey یا محیط‌های رنگ‌زای کشت ادرار، بدون توجه به نوع نمونه و جمعیت مورد آزمایش، استفاده شود.

تمامی محیط‌های کشت ادرار در دمای ۳۷-۳۵ درجه و حداقل برای مدت ۱۸ ساعت انکوبه می‌شوند تا بهترین رشد باکتری را داشته باشند. محیط‌های کشت MacConkey و محیط‌های رنگ‌زا باید به‌صورت Overnight و در دمای محیط نگهداری شوند. برای افزایش قدرت رشد باکتری‌های گرم مثبت محیط بلاد آگار باید در شرایط هوازی حاوی ۱۰-۵٪ CO2 نگهداری شود. پلیت‌های Biplate (پلیت‌هایی که نیمی از آن بلاد آگار و نیمی دیگر یک محیط کشت انتخابی است) می‌توانند ابتدا در دمای محیط و در ادامه برای ۱۸ ساعت در شرایط هوازی با ۵٪ CO2 انکوبه شوند (جدول ۲). محیط‌های کشت مربوط به نمونه‌های ادرار midstream و یا بیماران سنین بالاتر از ۶۵ سال و بیماران بستری و نیز نمونه‌های گرفته‌شده توسط کاتترهای ثابت حداقل باید برای ۳۶ ساعت انکوبه شوند. نمونه ادرارهای گرفته‌شده به روش تهاجمی و نمونه‌های مشکوک به عفونت ادراری به‌وسیله عوامل قارچی مدت ۴۲ تا ۴۸ ساعت باید انکوبه شوند. هیچ توصیه‌ای برای انکوباسیون نمونه‌های ادراری روتین برای مدت بیش از ۴۸ ساعت وجود ندارد.

جدول ۲

Summary of urinary specimen processing.

	Description
Volume of the inoculation?	- Routine samples: at least 1 μL - Detection of yeasts and invasive samples*: 10 μL
Plates that have to be inoculated?	- Routine samples: combination of a blood-containing agar plate and a MacConkey or selective/chromagar plate - Detection of yeasts: additional inoculation of a sabouraud or chromagar plate
How to incubate?	- Incubation **temperature** and **atmosphere** ○ 35–37 °C ○ Blood-containing agar: 5–10% CO_2-atmosphere ○ Selective plate/chromagar: ambient temperature (35–37 °C) ○ Biplate: ambient temperature (35–37 °C), re-incubation in 5–10% CO_2-atmosphere - **Duration** of incubation: ○ Midstream of outpatients < 65 years: at least 18 h ○ Midstream of outpatients ≥65 years: at least 36 h ○ Inpatients: at least 36 h ○ Indwelling catheter: at least 36 h ○ Supra-pubic punction: at least 42 h ○ Culture of yeasts: at least 42 h

*Invasive samples: supra-pubic punction and single sondage specimens retained as invasive samples.
*Additional inoculation of a 1 μL plate can facilitate the count.

تفسیر نتایج کشت ادرار

تفسیر pyuria

Pyuria دلالت بر وجود یک عفونت ادراری باکتریایی دارد، البته این پدیده همیشه قابل مشاهده نیست، خصوصاً در مواردی که عفونت به دلیل کاتتر بوجود آمده، عفونت در مردان و در بیماران نوتروپنیک (بیماران دارای کمبود نوتروفیل).

ولی در اکثر بیماران دارای عفونت ادراری تعداد قابل‌توجهی از گلبول‌های سفید در نمونه وجود دارد. وجود گلبول سفید در ادرار به‌تنهایی نمی‌تواند برای تشخیص عفونت ادراری بکار رود. زمانی که وجود گلبول سفید و باکتری هردو در ادرار مشاهده شود، احتمال وجود عفونت ادراری بیشتر است. پیشنهاد این است که وجود Pyuria همراه با تست‌های میکروبیولوژی برای تشخیص عفونت ادراری استفاده شود. در اغلب موارد روش استفاده‌شده برای تعیین تعداد گلبول‌های سفید در ادرار، شمارش دستی با استفاده از میکروسکوپ است. تعداد بیشتر از ۱۰ گلبول سفید (WBC>10) در هر میکرولیتر به‌عنوان Pyuria در نظر گرفته می‌شود. این روش برای تشخیص عفونت ادراری بدلیل کاتتر (10^5CFU/ml>) ویژگی در حدود ۹۰٪ و حساسیت ۳۷٪ دارد. در اغلب آزمایشگاه‌های تشخیص طبی، سیستم اتوماتیک برای آنالیز ادرار (بر اساس تشخیص تصویری یا فلوسیتومتری) وجود دارد. در این روش کات‌آف اختصاصی بین ۱۰ تا ۲۵ گلبول سفید در هر میکرولیتر پیشنهاد می‌شود.

طبقه‌بندی میکروارگانیسم‌ها

یک مشکل عمده در تفسیر نتایج کشت ادرار مشخص نمودن این مسئله است که کدام‌یک از باکتری‌های کشت داده‌شده عامل عفونت است. شناسایی باکتری به‌وسیله آزمایش‌های مختلف برای تعیین آنتی‌بیوتیک انتخابی بسیار اهمیت دارد. گزارش دادن باکتری‌های آلوده‌کننده محیط کشت می‌تواند منجر به تشخیص نادرست و انتخاب روش درمانی اشتباه شود. ما بر اساس شواهد موجود و روش‌های کارشناسانه، باکتری‌ها را در سه گروه بر اساس اهمیت آنها به‌عنوان عوامل ایجادکننده عفونت ادراری تقسیم نمودیم: پاتوژن‌های ادراری شایع، کمیاب و غیرمعمول. همچنین باکتری‌های فلور طبیعی پوست و دستگاه تناسلی ادراری (جدول ۳).

جدول ۳

Classification of the different micro-organisms.

Category 1: urogenital skin flora	Viridans streptococci Commensal *Neisseriaceae* *Lactobacillus* species Coagulase-negative staphylococci other than *S. saprophyticus* *Corynebacterium* species other than *C. urealyticum* *Aerococcus* other than *A. urinae* and *A. sanguinicola*
Category 2: (common) uropathogens	Gram-negative bacilli *S. aureus* *S. saprophyticus* *S. pneumoniae* *Large colony Beta-hemolytic streptococci*[a] (*excl. Streptococcus anginosus*) *Enterococci* Yeasts (*C. albicans, C. glabrata*)
Category 3[b]: rare or unusual uropathogens	*Actinotignum schaalii* *Aerococcus urinae* *Aerococcus sanguinicola* *Corynebacterium urealyticum* *Gardnerella vaginalis*

[a] Streptococcus agalactiae in women of childbearing age (15–50 years of age) and neonates should always be mentioned as isolate.

[b] This group of micro-organisms is considered as uropathogen if "pure" culture or if 10 times higher concentrations of these pathogens have been grown.

باکتری‌های معمول (دسته اول)

در این دسته باکتری‌هایی که به‌طور معمول عامل عفونت ادراری هستند، قرار می‌گیرند. E.coli شایع‌ترین عامل ایجادکننده عفونت ادراری است و مسئول ۹۰٪ موارد عفونت در زنان جوان، ۷۰٪ موارد ابتلای بدون علائم و ۶۶٪ موارد پیلونفریت حاد است. K. pneumonia نیز به‌عنوان یک عامل مهم عفونت ادراری مطرح است و اهمیت کلینیکی خاصی در افراد تحت پیوند کلیه دارد، زیرا بعضی سویه‌های این باکتری به دارو مقاوم هستند. P. mirabilis and Morganella spp اغلب مسبب عفونت‌های ادراری در افراد مسن و افراد مبتلا به سنگ کلیه هستند.

Pseudomonas aeruginosa عامل شایع عفونت‌های ادرای بیمارستانی، عفونت ادراری پس از روش‌های تهاجمی اورولوژیک و عفونت ادراری به دلیل وجود یک عامل خارجی (استنت و کاتتر) است. S. saprophyticus یکی از عوامل اصلی التهاب مثانه در جوانان و زنان دارای فعالیت جنسی است. بعضی از نویسندگان اظهار داشتند که تعداد میکروارگانیسم‌های موجود در نمونه‌ی ادراری که می‌تواند UTI را ایجاد کند، کم است، در نتیجه تشخیص آزمایشگاهی عفونت ادراری ناشی از S. saprophyticus به چالش کشیده شده است. Enterococcus spp عامل ۱۰٪ از موارد عفونت‌های ادراری است و بیش از ۱۶٪ عفونت‌های ادراری بیمارستانی با آن مرتبط است. این باکتری و استرپتوکوک‌های گروه B در نمونه ادرار خانم‌های مبتلا به التهاب مثانه یافت می‌شوند ولی به‌ندرت مسبب ایجاد التهاب مثانه هستند. Enterococci در افرادی که دارای ساختارهای غیرطبیعی دستگاه ادراری هستند و کسانی که تحت دستکاری‌های اورولوژیک قرار گرفته‌اند با عفونت‌های ادراری مرتبط است. استاف اورئوس می‌تواند موجب عفونت ادراری ثانویه شود.

Chlamydia trachomatis یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی منتقل‌شده به روش جنسی در مردان و زنان در آمریکا و اروپا است. اغلب عفونت‌های کلامیدیایی بدون علامت هستند و تشخیص داده نشده و درمان نمی‌شوند. Neisseria gonorrhoeae علت عمده مرگ‌ومیر در افراد فعال جنسی در سراسر جهان است. از آنجایی که تشخیص هر دو میکروارگانیسم امروزه بر اساس تشخیص آنتی‌ژنی و مولکولی انجام می‌شود، این عوامل بیماری‌زا موضوع دستورالعمل جامع ما نیستند.

تشخیص مخمرها (کاندیدا و ...) در ادرار افراد سالم معمول نیست ولی تا حد زیادی در افراد بستری در بیمارستان، خصوصاً افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف و بیماران بخش مراقبت‌های ویژه اهمیت دارد. از عوامل مستعدکننده ابتلا به کاندیدا می‌توان به دیابت ملیتوس، نئوپلاسم، سوندهای ادراری، استفاده دوره‌ای از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف و یا استروئیدها، جراحی، زن بودن، افزایش سن و بستری شدن در بیمارستان بیش از ۷ روز، اشاره نمود.

دشواری تشخیص کلینیکی علائم عفونت کاندیدیایی از طریق ادرار، ناتوانی در تشخیص عفونت از طریق کلونیزاسیون آن است. مطالعات قادر به ایجاد معیارهای کمی مشخص برای کشت ادرار در عفونت‌های ادراری به‌علت کاندیدا نیستند. در بیماران دارای کاتتر ساکن، به‌نظر می‌رسد ارتباط بین CFU مخمر و اهمیت کلینیکی وجود ندارد.

تعداد 10^4 CFU/ml از کاندیدا می‌تواند نشان‌دهنده آلودگی یا عفونت باشد. وجود کاندیدا در ادرار احتمالاً اهمیت بالینی خاصی ندارد و به‌طور کلی خطر ابتلا به بیماری تهاجمی بعدی را نشان نمی‌دهد. تشخیص و گزارش مخمرها معمولاً در هنگام وجود تعداد بالا پیشنهاد می‌شود.

پاتوژن‌های ادراری کمیاب یا غیرمعمول (دسته ۲)

در این دسته باکتری‌هایی که به‌ندرت در نمونه‌های ادرار شناسایی می‌شوند ولی شواهدی وجود دارد که موجب عفونت ادراری می‌شوند، قرار می‌گیرند.

Aerococcusurinae، A. sanguinicola، Corynebacteriumurealyticum و Actinotignumschaallii از عوامل غیرمعمول عفونت ادراری هستند. این میکروارگانیسم‌ها متعلق به میکروبیوم دستگاه ادراری انسان هستند. C. urealyticum می‌تواند یک کاتالیزور برای تشکیل سنگ استرویید باشد که این امر به‌علت فعالیت اوره‌آز قوی آن است و در ارتباط با التهاب مثانه و pyelitis در کودکان و بزرگسالان یافت شده است.

این پاتوژن ادراری باید زمانی که درخواست از پزشک وجود دارد و یا در افراد دارای خطر بالا مانند افرادی که پیوند کلیه داشته‌اند در زمانی که سایر کشت‌های روتین منفی است و همچنین در زمان وجود سنگ کلیه بررسی شود. اعضای جنس Aerococcus به‌طور بالقوه به‌عنوان پاتوژن‌های ادراری مطرح هستند. کلونی‌هایی بسیار شبیه به خانواده انتروکوک دارند و به‌راحتی در محیط کشت قابل تمایز نیستند. تمایز فنوتیپی بین A. urinae و A.sanguinicola و سایر گونه‌های متعلق به جنس Aerococcus که بیماری‌زایی کمتری دارند، بسیار دشوار است، اگرچه گونه‌ای از روش mas spectrometry در آزمایش‌های میکروب‌شناسی وجود دارد که این گونه‌ها را به‌خوبی افتراق می‌دهد.

گزارش‌های کمی وجود دارد که ایجاد UTI با باکتری Gardnerella vaginalis را شرح داده‌اند. در بیماران زن چون این باکتری بخشی از فلور نرمال واژن است، جداسازی این باکتری احتمال آلودگی نمونه را مطرح می‌کند. اگر در آزمایشگاه باکتری Gardnerella vaginalis بدون وجود علائم و pyuria و یا در کشت مخلوط مشاهده شود، باید قبل از گزارش آن به‌عنوان عامل بیماری‌زا احتیاط کرد. اگر از کشت خالص جدا شود، قبل از اینکه گزارش آن را به‌عنوان یک علت بالقوه UTI معرفی شود، مشاوره با پزشک انجام می‌شود.

استرپتوکوک‌های بتاهمولیتیک (کلونی‌های بزرگ) به‌ندرت درکشت دیده می‌شوند ولی برای گزارش حائز اهمیت هستند، خصوصاً استرپتوکوک پیوژن. آزمایشگاه‌های میکروبیولوژیکی باید از نمونه‌های واژینال و رکتال برای تشخیص حضور GBS در سه ماهه سوم تمام زنان باردار استفاده کنند. به‌علاوه نمونه ادرار نیز باید برای تشخیص در زنان باردار استفاده شود. مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری‌ها (CDC) اخیراً پیشنهاد داده است که آزمایشگاه‌ها زمانی باید GBS را در کشت نمونه‌های ادرار گزارش دهند که در کشت خالص $>10^4$ CFU/mL باشد و یا به‌صورت ترکیب با میکروارگانیسم ثانویه باشد. مطالعات اخیر نشان داده که افزایش ریسک فقط در خانم‌های دارای علائم UTI وجود دارد. در دستورالعمل فعلی در جامعه بیماری‌های عفونی آمریکایی (IDSA) در مورد عفونت‌های ادراری و دفع ادراری باکتری، S. pneumoniae به‌عنوان عامل عفونت ادراری در نظر گرفته نشده است، همچنین دستورالعمل فعلی آلمان برای تشخیص عفونت‌های ادراری به همین صورت است.

فلور طبیعی ناحیه Urogenital

رحم و مثانه عموماً محیطی استریل دارند. بعضی از ارگانیسم‌های فلور طبیعی در مجرای دفع ادرار یافت می‌شوند. در این مقاله به فلور میکروبی که ممکن است در کشت ادرار دیده شود، می‌پردازیم. جنس‌های لاکتوباسیلوس، استرپتوکوک‌های آلفا همولیتیک (به‌جز پنومونیه)، گونه نایسریا، استافیلوکوک‌ها (به‌جز استاف اورئوس) و saprophyticus، Corynebacterum (به‌جز اوره آلیتیکوم) در دسته باکتری‌های کومنسال دستگاه ادراری تناسلی هستند (به‌جز نایسریا گونوراَ) (جدول ۳).

Haemophilus influenzae به‌ندرت از کشت‌های ادرار جدا می‌شود و شیوع واقعی آن ناشناخته است، زیرا نمونه‌های ادرار به‌طور روتین بر روی شکلات آگار و یا محیط‌های کشت مناسب این باکتری کشت داده نمی‌شوند.

H. influenzae اغلب از دختران جدا می‌شود ولی Haemophilus parainfluenzae بیشتر در پسران شایع است. با کاهش بروز عفونت‌های سیستمیک آنفلوآنزا به‌طور کلی در سال‌های اخیر، انتظار می‌رود میزان بروز آن بسیار نادر باشد.

تفسیر تعداد پاتوژن‌های ادراری

آزمایشگاه‌های تشخیصی به تفسیر میکروبی کشت‌های ادراری نیاز دارند تا مشخص کنند که آیا تست‌های تعیین حساسیت آنتی باکتری لازم هست یا خیر. همراه با نوع و تعداد میکروارگانیسم‌ها، وجود pyuria، نوع نمونه و وجود علائم کلینیکی باید قبل از تشخیص عفونت ادراری در نظر گرفته شود (جدول ۴).

جدول ۴

Scheme for processing and workup of urine cultures based on method of collection, and number of pathogens.

Type of collection	Culture			
	1 or 2 uropathogens		≥3 uropathogens	
	Colony count	Extent of workup	Colony count	Extent of workup
Midstream Straight catheter Pedibag	≥10^4 CFU/mL:	ID and AB	1 isolate ≥10^5 CFU/mL and 2 isolates < 10^4 CFU/mL	ID and AB of the predominant uropathogen ID of the other uropathogens
	< 10^4 CFU/mL:	ID and ask control sample (AB if pyuria)	Other cases:	No workup, ask new sample
Indwelling catheter Supra-pubic sondage Nephrostomy	≥10^4 CFU/mL:	ID and AB	1 isolate ≥10^5 CFU/mL and 2 isolates < 10^4 CFU/mL	ID and AB of the predominant uropathogen ID of the other uropathogens
	< 10^4 CFU/mL:	ID and ask control sample	Other cases:	No workup, ask new sample
Supra-pubic aspiration	Always ID and AB, except for yeasts (only ID).		Contact clinician for clinical information*	

*In case of exceptional results, e.g. presence of urethral flora or ≥3 different types of micro-organisms.
Abbreviations: ID: identification; AB: antimicrobial susceptibility testing; CFU: colony forming unit.

اغلب کشت‌ها به‌راحتی تفسیر می‌شوند. معمول‌ترین ملاک برای تعیین معنی‌دار بودن دفع باکتری در ادرار حضور 10^5 CFU/mL< است. این معیار برای زنان مبتلا به پیلونفریت حاد یا خانم‌های بدون علامتی که چندین کشت ادرار با این تعداد باکتری داشته‌اند قابل استفاده است. این مقدار برای سایر بیماران نیز قابل قبول است. اگرچه ۵۰-۳۰٪ بیماران تعداد کلونی‌های کمتر از 10^5 CFU/mL دارند. در خانم‌های دارای علائم بالینی و pyuria تعداد کمتر باکتری (10^2/mL<) همچنان می‌تواند نشان‌دهنده دفع باکتری از مثانه و احتمال UTI باشد. تعداد کمتر باکتری در موارد عفونت در آقایان، بیماران مصرف‌کننده داروهای ضدمیکروبی و در باکتری‌هایی به‌جز E. coli و Proteus مشاهده می‌شود.

از سویی تفسیر کشت‌های ادراری که با نرمال فلور بدن ترکیب هستند، دشوار است. برای افزایش حساسیت کشت‌های ادراری نمونه‌هایی که در آنها بیش از دو پاتوژن ادراری رشد می‌کنند، کات‌آف 10^4 CFU/mL توصیه می‌شود. نمونه‌های midstream، کاتتر مستقیم و کیسه ادراری که بیش از 10^4 CFU/mL باکتری رشد کرده است باید بیشتر بررسی شود (تعیین نوع باکتری و تست حساسیت آنتی‌باکتریایی) و تعداد باید گزارش شود.

کشت نمونه‌هایی که کمتر از 10^4 CFU/mL باکتری رشد کرده است تنها مشخص شده و گزارش داده شود، به‌جز نمونه‌های ادرار midstream، کاتتر مستقیم و کیسه‌های ادراری که در صورت وجود pyuria تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی نیز باید گذاشته شود (جدول ۴ و ۵). همچنین برای کاتترهای ثابت و نمونه‌های supra-pubic و نمونه‌های استوم ادراری تفسیر به همین صورت است. در تمامی نمونه‌هایی که سه پاتوژن ادراری جدا شده است (به‌جز نمونه‌های آسپیراسیون supra-pubic) پیشنهاد می‌شود که پاتوژن غالب (10^5 CFU/mL<) مورد بررسی قرار گیرد. (تعیین و تست حساسیت آنتی‌باکتریایی).

برای سایر پاتوژن‌های ادراری در این گونه نمونه‌ها که با تعداد 10^4 CFU/mL> رشد می‌کنند پیشنهاد می‌شود تنها نوع مشخص شود. (جدول ۴) در همه موارد پزشک باید مطلع شود که سه نوع یا بیشتر باکتری رشد کرده است (همراه یا بدون مخلوط فلور نرمال) (جدول ۵) تا بتواند احتمال آلودگی را مشخص کند و اگر از نظر بالینی لازم است نمونه دیگری را به آزمایشگاه ارسال نماید (جدول ۵). نمونه‌های supra-pubic که دارای کشت مثبت هستند را نمی‌توان نادیده گرفت. این نمونه‌ها زمانی که دو پاتوژن ادراری کشت داده می‌شود اغلب نیاز به بررسی دارند. در صورتی که حداقل سه پاتوژن ادراری رشد کند، پیشنهاد می‌شود با پزشک تماس گرفته شده و از صحت نمونه‌گیری آگاه شویم. اگر نمونه خاص بود تست شناسایی و تعیین حساسیت ضدمیکروبی انجام شود. در جدول ۵ تمامی موارد بالا به‌خوبی نشان داده شده است.

گزارش نتایج:

آزمایشگاه‌ها باید نتایج کشت را همراه با تفسیر و نظرات کلینیکی که می‌تواند به پزشک کمک کند گزارش کنند. درکنار اطلاعات مربوط به هویت بیمار، درخواست پزشک و اطلاعات بالینی (مثلاً استفاده از آنتی‌بیوتیک)، گزارش آزمایشگاهی باید حاوی اطلاعاتی درباره نوع نمونه باشد. کشت‌های بدون رشد باکتری تحت عنوان منفی یا عدم رشد پاتوژن ادراری گزارش می‌شود. در صورت رشد باکتری، CFU/mL باید گزارش شود. بر اساس نسبت پاتوژن‌های ادراری نسبت به فلور میکروبی نرمال باید نظرات مختلف در گزارش اعمال شود. خلاصه یک گزارش مناسب در جدول ۵ آمده است. در شرایط خاص (جمع‌آوری متناوب نمونه‌ها از کاتتر ادراری، کاتتر ادراری ثابت قدیمی، لوله‌های نفروستومی یا کاتترهای سوپراپوبیک) اطلاعات اضافه برای پزشک گزارش می‌شود. لیستی از این پیشنهادات در جدول ۶ آمده است.

جدول ۶

Additional comments that can be added to a clinician report.

Additional comments in case of:	
Patients with an indwelling catheter:	Polymicrobial infections are possible in patients with an indwelling catheter. Contact the laboratory if further workup is desirable. Catheter-associated cystitis is treated with antibiotics if signs and symptoms of infection are present. Antibiotic therapy should be started after elimination of the catheter. If the catheter is needed and symptoms of infection are present, a change of catheter should be performed under appropriate antibiotic therapy.
A negative culture of a pedibag urinary sample:	A negative culture has a highly negative predictive value for absence of infection
Isolation of *Actinotignum schaalii*:	Urogenital commensal, although probable cause of UTI in predisposed patients, especially patients aged older than 60 years or with underlying pathology. Antibiotic of choice is amoxicillin. The pathogen is intrinsically resistant to ciprofloxacin and co-trimoxazol (Kristiansen R et al., 2014)
Isolation of *Corynebacterium urealyticum*	This pathogen is associated with cystitis induced by stone formation and encrusted cystitis or pyelitis (e.g. in cases of kidney transplantation (Lopez-Medrano et al., 2008)). Treatment consists of antibiotic combination therapy, acidification of urine for several weeks and surgical removal of bladder stone if present.
Isolation of *Corynebacterium* spp. (other than *C. urealyticum*)	This group of bacteria belong to the urogenital skin flora, but could be a cause of UTI. Results need to be interpreted in a clinical context. The following *Corynebacterium* spp. are associated with UTI (Jorgensen et al., 2015): • *C. amycolatum* • *C. aurimucosum* • *C. glucuronolyticum* • *C. minitissimum* • *C. riegelii* • *Arthrobacter* spp. • *C. pseudogenitalium* • *C. striatum*
Staphylococcus aureus	*S. aureus* is not a classical uropathogen. Isolation could be due to post-operative infection? Post- uromanipulation? Hematogeneous spreading? Presence of foreign body material? Further investigation is necessary (BILULU Expert opinion)
Actinotignum spp.	This group of bacteria belong to the urogenital skin flora, but are associated with complicated UTI (Jorgensen et al., 2015).
Aerococcus urinae	Mostly contaminant but possible uropathogen in predisposed patients (prostate hypertrophy, elderly patients). Nitrofurans and amoxicillin are therapeutic options in case of infection. Sensitivity to co-trimoxazole is contested. There are no interpretative criteria available for antimicrobial susceptibility testing (Jorgensen et al., 2015).
Aerococcus sanguinicola	Mostly contaminant, particularly associated with urosepsis. Amoxicillin is the first treatment option. Mostly, this pathogen is susceptible to cefuroxim, cefotaxim, erythromycin, tetracyclines and linezolid. There are no interpretative criteria available for antimicrobial susceptibility interpretation (Jorgensen et al., 2015).

جدول ۵

Overview of the different comments that can be presented on the laboratory report.

Observation culture	Report to the clinician
Only urogenital	Report: 'Urogenital flora' (+ number of CFU/mL)
If urogenital flora > uropathogens	Report: "Predominantly urogenital flora with possible presence of urinary pathogens. If clinically relevant, please send a control sample to the laboratory." (+ number CFU/mL)
Uropathogens ≥ urogenital flora	Report 'urogenital flora' (+ number of CFU/mL) and "uropathogens" (+ number of CFU/mL)
Only uropathogens (≤3 types)	Report all pathogens (+ number of CFU/mL)
Mixed flora with > 3 types of uropathogens	Report: "3 or more different types of pathogens, probably contamination. If clinically relevant, please send a control sample to the laboratory" (+ number of CFU/mL)

Reference:

1: Oyaert M, Van Meensel B, Cartuyvels R, Frans J, Laffut W, VandecandelaereP,DeBeenhouwer H; BILULU Study Group. Laboratory diagnosis of urinary tractinfections: Towards a BILULU consensus guideline. J Microbiol Methods