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: ۰۹۱۲۵۹۷۳۶۵۴-۸۸۷۷۷۹۰۱، Pegah_nourii@yahoo.com

دریافت مقاله: مهر نود و چهار پذیرش برای چاپ: آذر نود و چهار

چکیده

سابقه و هدف: *سویه‌های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس، بیشترین باکتری‌های جدا شده از سنگ‌های کلیه را شامل می‌شوند. 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 لبافی‌نژاد به روش بیوشیمیایی و تعیین میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن های 16S rRNA و rec A در بین هر دو باکتری بوده است.*

روش کار: *از ۱۵۰ بیمار مراجعه کننده به بخش جراحی کلیه بیمارستان لبافی‌نژاد 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 باکتری‌های رشد کرده بر اساس تست‌های فنوتیپی، بیوشیمیایی و PCR انجام گرفت و مقاومت آنتی بیوتیکی آنها بررسی شد. جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه‌های اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس شناسایی شده، ژن‌های 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٪ نمونه‌های سنگ از نظر کشت میکروبی مثبت بودند. بیشترین موارد گونه‌های 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 سویه‌های اشریشیا کلی، ۹۶٪ و در سویه‌های پروتئوس میرابیلیس، ۹۷٪ را نشان داد. میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن recA برای سویه‌های 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 سویه‌های 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

عفونت دستگاه ادراری، یکی از شایعترین عفونت های باکتریایی در تمام گروههای سنی میباشد 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 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

و غالبا لگنچه، 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 استرووویت (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 باکتریمی 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 اشریشیا 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. اشریشیا کلی همزمان با سایر باکتریها به عنوان عامل UTI(عفونت مجرای ادراری) در سنگ شاخ گوزنی گزارش شده است(۵). اشریشیا 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 اشریشیا کلی و پروتئوس میرابیلیس به دست آمده از سنگ های شاخ گوزنی کلیه می باشد.

روش کار

نمونه‌های 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 میکروتیوپ‌های حاوی سرم فیزیولوژی استریل منتقل شدند.

نمونه‌های 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 نگهداری و بخش دیگر آن در ۵ میلی لیتر BHI براث کشت داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، از محیط BHI براث بر روی محیط‌های بلادآگار، مک کانکی و BHI آگار کشت داده شد. نمونه‌های BHI براثی که بعد از ۲۴ ساعت، جواب کشت منفی داشتند تا ۷۲ ساعت نگهداری و برای نمونه‌هایی 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 بلاد آگار، مک کانکی و BHI آگار و مشاهده مثبت بودن تست های افتراقی، تائید شدند. برای آنالیز جنس سنگ ها از کیت شرکت صبا استفاده شد.

جهت تعیین حساسیت نسبت به آنتی‌بیوتیک ها، طبق روش انتشار از دیسک و استاندارد CLSI انجام شد(۷). ابتدا از ایزوله‌های باکتریایی، کشت تازه ۲۴ ساعته بر روی محیط BHI آگار تهیه شد و سپس از کلنی‌های رشد کرده در سرم فیزیولوژی، غلظت نیم مک فارلند (1.5×108 CFU/ml) تهیه گردید و توسط سوآب استریل، از آن بر روی محیط مولر هینتون آگار، کشت داده شد و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی بر روی سطح پلیت قرار داده شد و پلیت به مدت ۲۴ ساعت در دمای $37^{\circ}C$ 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، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR، ۱ میکرولیتر dNTP، ۱ میکرولیتر پرایمر Forward، ۱ میکرولیتر پرایمر Reverse، ۱ میکرولیتر از DNA ژنوم و در انتها ۰/۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNA Polymerase) انجام شد. واکنش دناتوراسیون اولیه DNA به مدت ۲ دقیقه برای هر دو (recA و 16S rRNA) در دمای $95^{0}C$، دناتوراسیون ثانویه به مدت ۳۰ ثانیه برای هر دو (recA و 16S rRNA) با قرار دادن در دمای $94^{0}C$، الحاق پرایمر ها به DNA هدف در دماهای $57^{0}C$ برای recA و $58^{0}C$ برای 16S rRNA به مدت ۳۰ ثانیه برای هر دو و توسعه پرایمرها در دمای $72^{0}C$ به مدت ۱ دقیقه در ۳۰ چرخه تکرار و سرانجام در ۷ دقیقه و دمای $72^{0}C$ برای هر دو واکنش صورت گرفت.

یافته ها

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٪ بیماران دارای شغل‌های آزاد، ۲۶/۷٪ کارگر، ۲۰/۶٪ خانه‌دار، ۱۰/۶٪ کارمند و ۱۰/۶٪ کشاورز بودند.

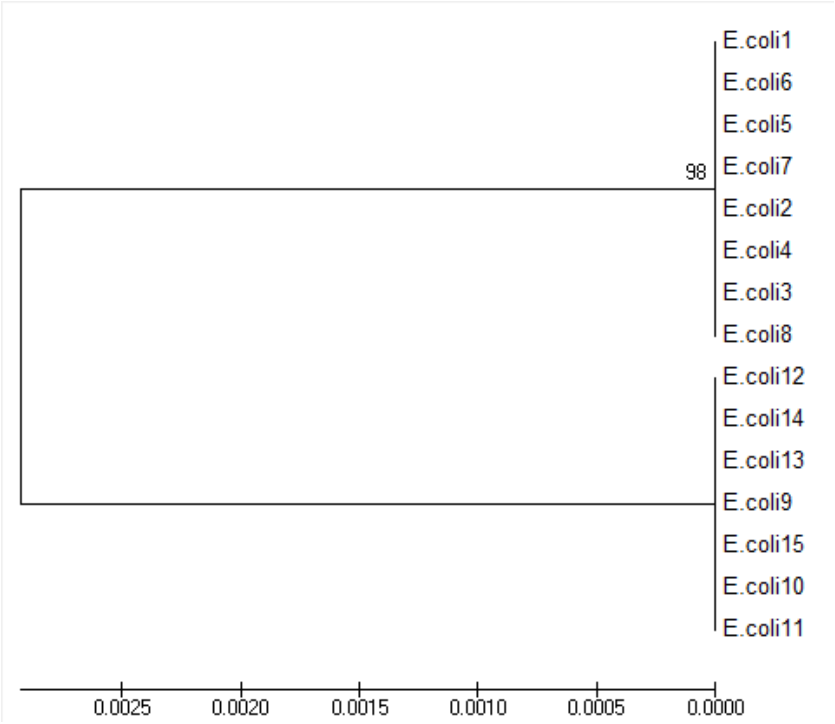
باکتری های بدست آمده شامل ۲۲/۸٪ اشریشیا کلی، ۱۸/۲٪ پروتئوس میرابیلیس، ۱۳/۶٪ استافیلوکوکوس اورئوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس، ۱۲/۲٪ استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس، ۶٪ میکروکوکوس لوتئوس، ۶٪ انتروباکترکلواکه، ۴/۵٪ استرپتوکوکوس آگالاکتیه و ۴/۵٪ سودوموناس آئروژینوزا بودند. سویه‌های اشریشیا کلی، دارای بیشترین مقاومت (۹۰٪) نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتی‌زوکسیم، سویه‌های پروتئوس میرابیلیس بیشترین مقاومت (۵۵٪) نسبت به آنتی‌بیوتیک سفتریاکسون بودند.

۴۴٪ سنگ های مورد مطالعه از نظر کشت مثبت بودند. بیشترین ترکیب سنگ مربوط به کلسیم اگزالات (۵۷,۵٪) بود(جدول ۱).

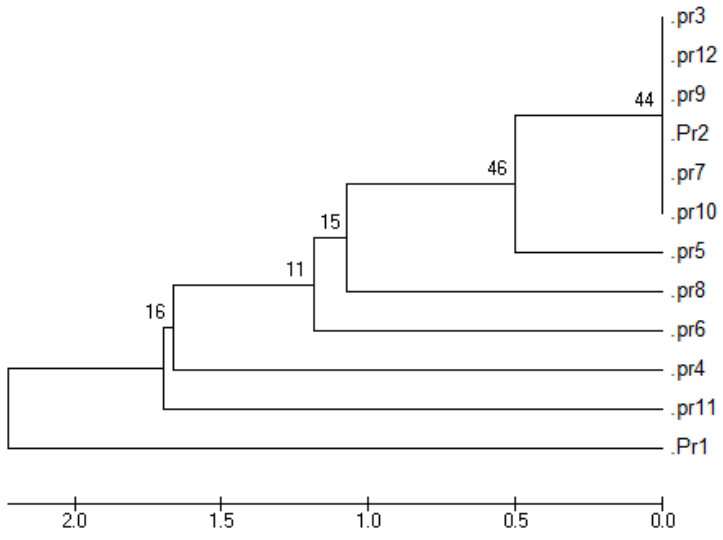
جدول ۱- آنالیز ترکیب سنگ های شاخ گوزنی

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

براساس نتایج بدست آمده از نرم افزار MEGA4 برای آنالیز توالی‌های ژن *16S rRNA* و ترسیم درخت فیلوژنتیک، سویه-های *اشریشیا کلی* به دو شاخه یا گروه تقسیم شدند (شکل ۱). هشت سویه *اشریشیا کلی*، شامل سویه‌های 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 توالی‌های ژن *16S rRNA* و رسم درخت فیلوژنتیک تنها ۶ سویه، شامل سویه‌های 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 سویه‌ها وجود داشت.

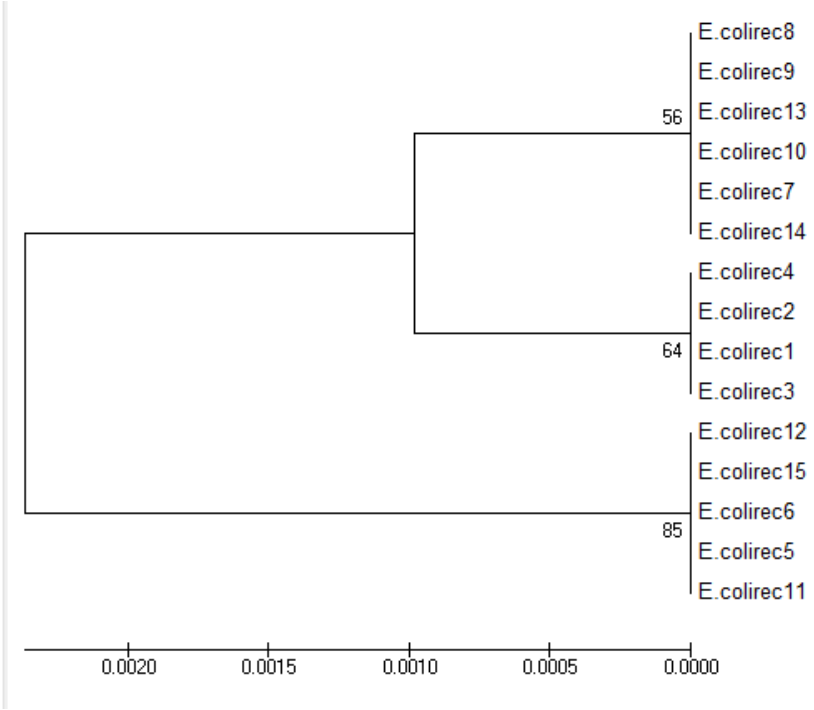


شکل ۱ - درخت فیلوژنتیک ژن 16S RRNA سویه‌های *اشریشیا کلی*.

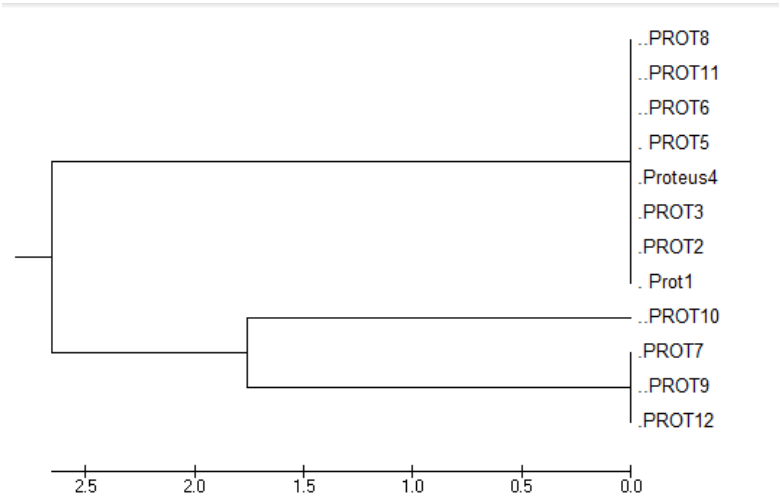


شکل ۲- درخت فیلوژنتیک ژن 16S RRNA سویه‌های *پروتئوس میرابیلیس*.

در آنالیز توالی‌های ژن *recA* و ترسیم درخت فیلوژنتیک، سویه‌های *اشریشیا کلی* به سه شاخه یا گروه تقسیم شدند (شکل ۳). سویه‌های موجود در هر یک از گروه‌ها تشابه ژنتیکی بالا را نشان دادند. شش سویه *اشریشیا کلی*، شامل سویه‌های 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 ۱۲،۱۵ ،۶، ۵، ۱۱در گروه دیگر قرار داشتند. و با ترسیم درخت فیلوژنتیک برای ژن *recA* مشخص شد که سویه‌های *پروتئوس میرابیلیس* ۳ گروه را تشکیل می‌دهند. گروه اول شامل ۸ سویه: ۸، ۱۱، ۶، ۵، ۴، ۳، ۲ و ۱ بود. گروه دوم شامل سویه‌های ۷، ۹ و ۱۲ بود و گروه سوم تنها شامل سویه شماره ۱۰ بود(شکل ۴). تشابه ژنتیکی بین سویه‌های هر دو باکتری ۹۸٪ بود.



شکل ۳- درخت فیلوژنتیک ژن *recA* سویه‌های *اشریشیا کلی*



شکل ۴- درخت فیلوژنتیک ژن recA سویه‌های پروتئوس میرابیلیس.

بحث

مقاومت آنتی‌بیوتیکی در باکتری های جدا شده از بیماران سنگ ساز کلیه که دارای عفونت ادراری هستند، بیشتر دیده می‌شود و بیشترین نوع سنگ های ادراری نشات گرفته از عفونت های ادراری، سنگ های استرووویت بوده که شامل: منیزیم، آمونیوم، فسفات می‌باشند(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 توالی‌های این دو ژن به منظور نشان دادن ارتباط ژنتیکی سویه‌های *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 سویه‌ها تغییرات مختصری داشته (تمام ژن ها تشابه ۹۸٪ داشتند). میزان تشابه توالی نوکلئوتیدی ژن *16S rRNA* در مورد سویه‌های *اشریشیاکلی* ۹۶٪ و در مورد سویه‌های *پروتئوس میرابیلیس* تشابه ۹۷٪ را نشان داد.

در مطالعه ای که توسط Gutacker در سال ۲۰۰۲ در کشور سویس انجام شد، آنها نشان دادند که آنالیز و سکانس ژن *recA* روش فیلوژنتیک مناسبی برای بررسی ارتباط سویه‌های باکتریایی بدست آمده از بیماران است، که نتایج آنها با مطالعه حاضر همخوانی داشت(۹).

Mushtaq و همکارانش در سال در سال ۲۰۱۱ در انگلیس گزارش نمودند که ژن *recA* جهت شناسایی و بررسی ارتباط ژنتیکی سویه‌های *اشریشیا کلی* عامل عفونت‌های بیمارستانی مفید می‌باشد(۱۰). در مطالعه حاضر نیز نتایج بررسی فیلوژنتیک نشان داد که ژن *recA* نسبت به ژن *16S rRNA* جهت بررسی ارتباط ژنتیکی سویه‌های *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، ۷۳/۳٪ نمونه‌های سنگ کلیه از بیماران مرد و ۲۶/۷٪ نمونه‌های 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 Tavichakorntrakool 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٪) ازبیماران مرد جدا سازی شده بود(۸).

در مطالعه حاضر، بیشترین موارد گونه‌های 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. باکتریهای دیگر نیز مانند میکروکوکوس لوتئوس ۶٪، *انتروباکترکلواکه* ۶٪، *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* ۴/۵٪ و *سودوموناس آئروژینوزا* ۴/۵٪ از نمونه‌های سنگ جداسازی شدند. در مطالعه قادر و همکارانش در سال ۲۰۰۶ در عراق، بیشترین گونه‌های باکتریایی شناسایی شده شامل *استافیلوکوکوس اورئوس* ۶/۴٪، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* ۵/۱٪ و گونه‌های *پروتئوس* ۳/۸٪ بودند. سایر باکتری‌های شناسایی شده شامل *اشریشیا کلی* ۲/۶٪، *سراشیا مارسسنس* ۱/۳٪، گونه‌های *اسینتوباکتر* ۱/۳٪، *انتروکوکوس فکالیس* ۱/۳٪ و *سودوموناس آئروژنوزا* ۱/۳٪ بودند مطالعه قادر و همکارانش مطابق با مطالعه حاضر، نشان داد که گونه‌های باکتری غالب جدا شده از سنگ‌های ادراری شامل گونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس* ، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس*، *پروتئوس* و *اشریشیا کلی* می‌باشند(۱۲).

در مطالعه حاضر نیز مشابه مطالعه Tavichakorntrakool و 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*، گونه‌های *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس* و *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* بیشترین فراوانی را داشتند ولی در مطالعه آنها، گونه‌های *کلبسیلا* بیشترین فراوانی را داشتند(۸،۱۳). در مطالعه حاضر بر خلاف مطالعه آنها، هیچ گونه‌ای از باکتری‌های *کلبسیلا*، *سالمونلا*، *اسینتوباکتر* و *انتروکوکوس* از نمونه‌های سنگ ادراری جدا نشد. در مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر سنگ‌ها 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 سنگ‌های کلیوی که از نظر کشت میکروبی مثبت بودند نیز بیشتر سنگ‌ها دارای ترکیب کلسیم اگزالات (۵۷,۵٪) بودند. این نتایج با مطالعه Al-Rasheed و همکارانش همخوانی داشته و در هر دو مطالعه بیشتر سنگ‌ها دارای ترکیب کلسیم اگزالات بوده‌اند(۱۴).

نتیجه گیری

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

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. Haleblian 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.