

IN
GOD'S NAME

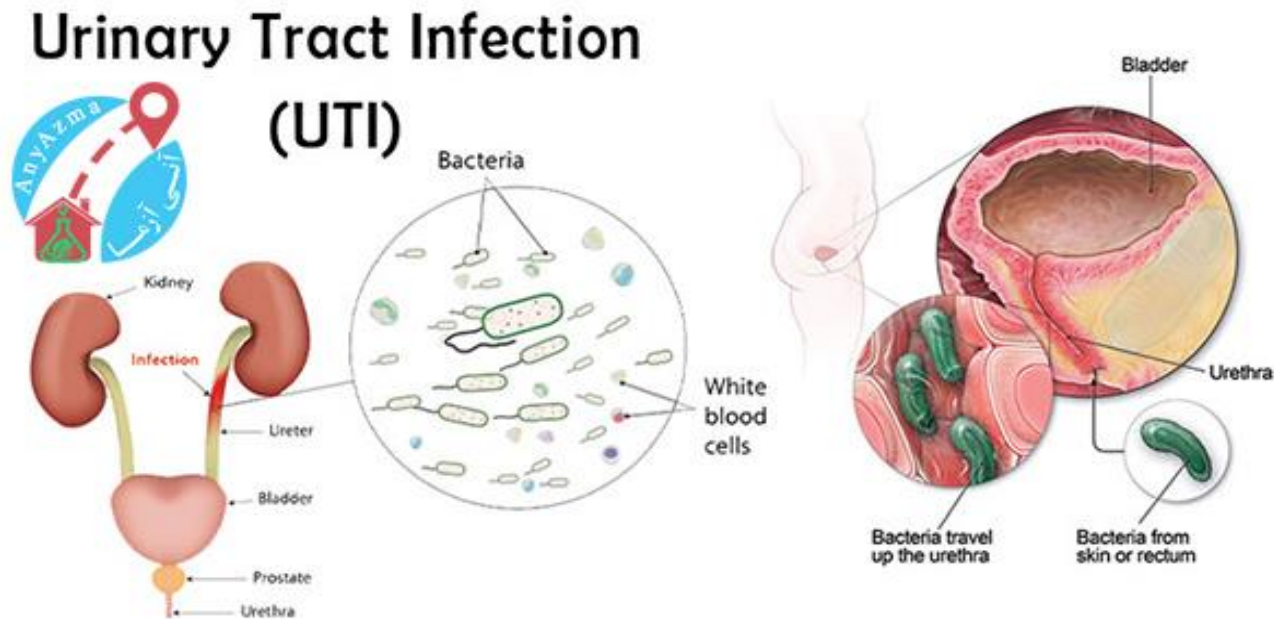
روشهای تشخیص آزمایشگاهی عفونت ادراری

Dr. Hashemi

*Assistant Professor of Clinical Biochemistry,
North Khorasan University of Medical Sciences*

- عفونت سیستم ادراری (UTI) طیفی بالینی از وجود بدون نشانه باکتری در ادرار تا عفونتهای شدید کلیه و عفونتهای حاصل از آن (مثانه، حالب و مجرای ادراری و ...) را شامل می گردد.
- عفونت ادراری در اغلب موارد منشأ باکتریایی دارد ولی ممکن است در اثر قارچ یا حتی ویروسی ایجاد شده باشد.

- ✓ Adult women: 6 → 10 % per year
- ✓ Pregnancy: 4 → 10 %
- ✓ Female: male ratio overall 10 : 1



تقسیم بندی

- بر حسب محل آناتومیک: عفونت کلیه (پیلونفریت)، عفونت مثانه (سیستیت)، عفونت مجاری خروجی ادرار (اورتریت)
- Uncomplicated UTI
- Complicated UTI
- Acute Urethral Syndrome
- باکتریوری بدون علامت
- پیوری

عوامل و ریسک فاکتور ها

- ✓ سن
- ✓ کاهش فعالیت و تحرک
- ✓ انسداد مجاری ادراری
- ✓ بزرگی پروستات
- ✓ استفاده‌ی طولانی مدت از کاتترهای ادراری
- ✓ دیابت
- ✓ ناهنجاری‌های دستگاه ادراری
- ✓ استفاده از آنتی بیوتیک‌های قوی
- ✓ رابطه جنسی / استخرهای آلوده / حوله حمام آلوده / حبس طولانی مدت ادرار در مثانه / ...

باکتری از ۴ طریق مختلف ممکن است به سیستم ادراری-تناسلی راه یابد:

۱. اغلب موارد UTI ناشی از صعود باکتری از طریق پیشابراه می باشد.
۲. انتشار خونی میکرو ارگانیسم هایی مثل استافیلوکوک طلایی، انواع گونه های کاندیدا و مایکوباکتریوم توبرکولوزیس در بیماران مبتلا به نقص ایمنی و نوزادان دیده می شود .
۳. انتشار لنفاوی از لنفاتیک های رکتال، کولون و اطراف رحم یکی دیگر از علل احتمالی UTI می باشد.
۴. انتشار مستقیم باکتری از اعضاء مجاور سیستم ادراری (آبسه های داخل صفاقی، فیستولهای بین مثانه و روده و یا مثانه و واژن) نیز یکی از راههای دیگر ورود باکتری به سیستم ادراری به شمار می آید .

- عوامل دفاعی میزبان نقش اساسی را در پاتوژنز UTI بعهده دارد. بعنوان مثال:
 - ✓ جریان ادرار
 - ✓ اسمولالیتیه؛ اوره و PH ادرار
 - ✓ گلیکوپروتئین تام-هورسفال
 - ✓ ...

- هر عاملی که با این عوامل دفاعی تداخل کند، می تواند خطر ابتلا به UTI را افزایش دهد. بعنوان مثال:
 - ✓ انسداد (برهم زدن جریان طبیعی ادرار)
 - ✓ سیستم ایمنی (IL8، Ab، T&B cells، گروههای خونی)
 - ✓ فلور نرمال مجاری ادراری
 - ✓ مایع پروستات
 - ✓ رفلاکس
 - ✓ کهولت سن
 - ✓ بیماریهای عضلانی
 - ✓ بی اختیاری مدفوع
 - ✓ ...

➤ آزمایش کامل ادرار: بر اساس پیشنهاد NNIS توجه به نتایج تست U/A، برای تفسیر و گزارش کشت ادرار و تشخیص عفونت ادراری ضروری است.

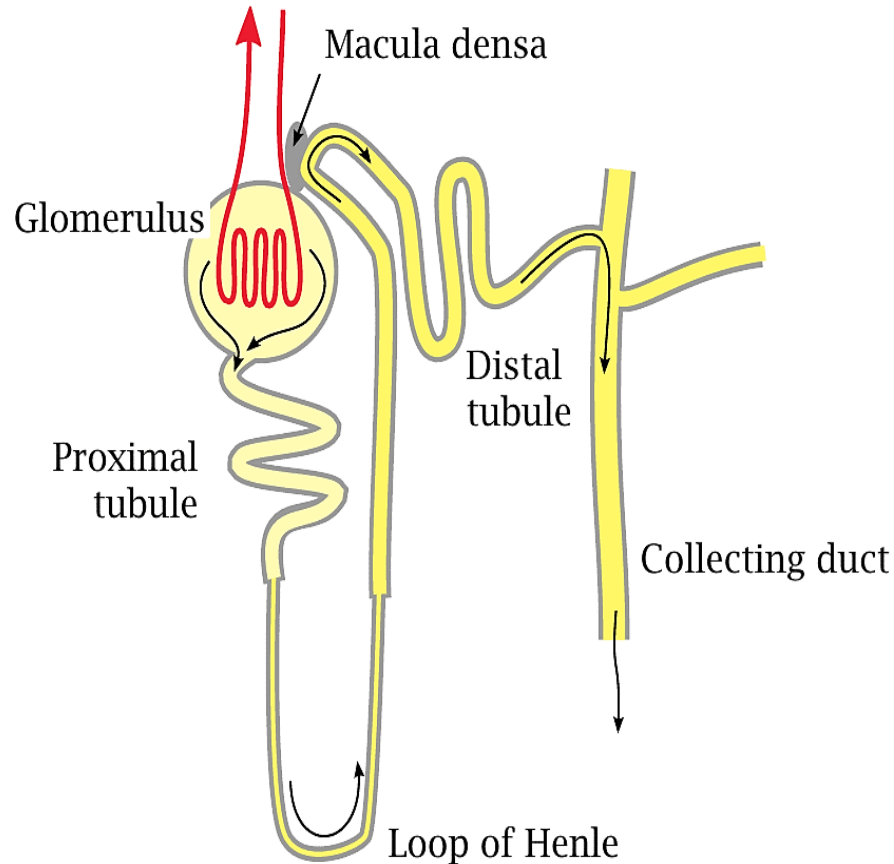
➤ کشت ادرار : استاندارد طلایی تشخیص UTI می باشد.

➤ اندازه گیری اوره، کراتینین، الکترولیتها (استفراغ مکرر / احتباس ادرار / دیورز پس از کاتتر / فشار خون / نارسایی کلیوی / ادم)

➤ آزمایشات تخصصی

آزمایش کامل ادرار (U/A)

ادرار مایع دفعی است که توسط کلیه ها تولید و از طریق مجاری ادراری دفع می گردد. ادرار انعکاسی از متابولیسم و عملکرد بافتها و اعضای مختلف بدن است و بعنوان سرچشمه ای از اطلاعات مربوط به سایر دستگاههای بدن عمل می کند.

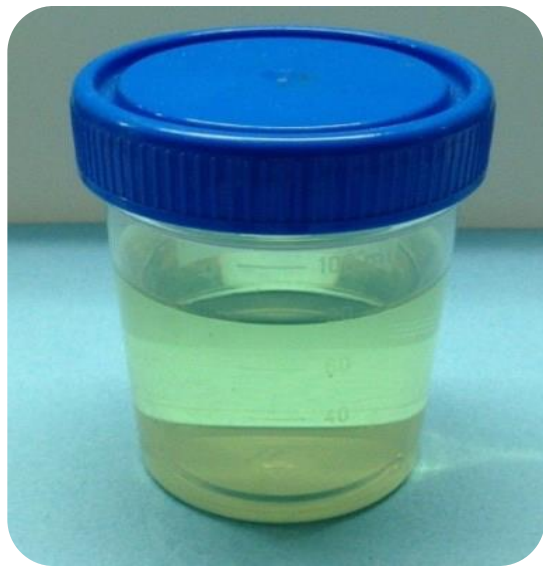


تکنیک های جمع آوری ادرار

نوع نمونه	نحوه جمع آوری	موارد مصرف
ادرار رندوم	هر زمان از روز	آزمون غربالگری روزانه و اورژانسی و جهت بررسی شیمیایی کیفی و نیمه کمی
اولین ادرار صبحگاهی (ادرار ۸ ساعته)	قبل از خواب، ادرار تخلیه شده و اولین نمونه صبحگاهی پس از بیدار شدن فرد جمع آوری می گردد (بسیار غلیظ)	جهت آنالیز بیوشیمیایی و بررسی میکروسکوپی تایید نتایج مشکوک نمونه تصادفی
ادرار ناشتا	اول صبح در شرایط ناشتا	کنترل گلوکز افراد دیابتی
بعد از صرف غذا	تخلیه مثانه قبل از صرف غذا و جمع آوری ادرار ۲ ساعت بعد از صرف غذا	تعیین گلوکز در مانیتورینگ دیابت
ادرار بعد از ظهر	۲-۴ ساعت بعد صرف غذا	جستجوی اوروبیلینوژن
ادرار ۲ ساعته	تخلیه مثانه و جمع آوری ادرار ۲ ساعت بعد آن	بررسی سلولهای ادراری، اندازه گیری آمیلاز
ادرار ۱۲ ساعته	تخلیه مثانه ساعت ۸ شب و جمع آوری ادرار ساعت ۸ صبح روز بعد	بررسی میکروآلبومینوری
ادرار ۲۴ ساعته	اولین ادرار صبحگاهی دور ریخته شده و در طی ۲۴ ساعت بعدی ادرار در ظرف نمونه گیری جمع آوری می شود.	جهت بررسی های کمی و کیفی مواد (قند، الکترولیت، ...)
جمع آوری ادرار میانی (ادرار تمیز)	دفع بخش اول ادرار و جمع آوری بخش میانی ادرار با رعایت شرایط استریل	کشت ادرار
آسپیراسیون سوپراپوبیک (فوق عانه)	آسپیراسیون با سوزن	جمع آوری ادرار استریل (با درخواست پزشک)

انتقال نمونه

- ✓ نمونه ادرار تهیه شده تا ۲ ساعت در دمای اتاق و ۲۴ ساعت در یخچال قابل نگهداری است. (نمونه های ادرار پس از ۴۸ ساعت فاقد ارزش کشت می باشند)
- ✓ تعدادی مواد نگهدارنده (مانند اسید بوریک، گلیسرول، سدیم فورمات) وجود دارد که می تواند باکتری های موجود در ادرار را (بدون نیاز به یخچال) تا یک شبانه روز حفظ کند.
- ✓ افزودن اسید بوریک (۱-۲٪) تعداد باکتریها را برای مدت ۴۸-۷۲ ساعت در دمای محیط ثابت نگه می دارد.
- ✓ کیت های حاوی مواد محافظت کننده ادرار ساخته شده اند، ولی هیچ ارجحیت خاصی نسبت به نگهداری در یخچال ندارند.



آنالیز ادراری

ارزیابی میکروسکوپی:

سلول
کریستال
کست
میکروارگانیسم
انگل
آلودگی

ارزیابی فیزیکی:

ظاهر
حجم
بو
PH
وزن مخصوص

آنالیز بیوشیمیایی:

قند ها
پروتئین ها
اجسام کتونی
نمک های صفراوی
رنگدانه های صفراوی
خون

کدورت ادرار

کدورت	علت
ابری	غلظت بالایی از سلول های باکتری، لکوسیت، گلبول های قرمز و اپیتلیال
شیری- پنیر مانند	Chyluria (حضور گویچه های چربی)، Pyuria
دودی	سلول های قرمز خون
Hazy	موکوس
ادرار تازه که با ماندن ابری شود	حضور فسفات و اورات



حجم ادرار

➤ حجم طبیعی ادرار ۲۵۰۰ ml/day - ۸۰۰ (به طور میانگین ۱۵۰۰ ml/day) می باشد.

قطع کامل ادرار یا کاهش حجم ادرار
به کمتر از ۱۰۰ ml/day آنوری
نامیده می شود.

- ✓ نکروز حاد توبولار
- ✓ واکنش انتقال خون
- ✓ شوک جراحی
- ✓ سنگ کلیه دو طرفه

کاهش حجم ادرار به کمتر از ml/day
۵۰۰ الیگوری نامیده می شود.

- ✓ تب
- ✓ اسهال
- ✓ ادم شدید
- ✓ نفریت حاد
- ✓ مراحل اولیه گلومرولونفریت حاد
- ✓ نارسایی قلبی و فشار خون بالا (کاهش حجم گردش خون)

افزایش حجم ادرار به بیش از ml/day
۲۵۰۰ به عنوان پلی اوری نامیده می
شود.

- ✓ دیابت شیرین
- ✓ دیابت بی مزه
- ✓ مرحله آخر گلومرولونفریت مزمن
- ✓ مصرف دارو ها (دیورتیک ها)
- ✓ مصرف الکل
- ✓ پرنوشی جبری

وزن مخصوص

➤ نسبت وزن یک حجم از ادرار به وزن همان حجم آب مقطر در دمای ثابت را SG گویند.

➤ SG قدرت تغلیظ و رقیق سازی کلیه ها را نشان می دهد و با اندازه و غلظت ذرات حل شده در ادرار ارتباط دارد. توانایی

تغلیظ کلیه ها یکی از اولین عملکرد هایی است که در نتیجه آسیب توبولار از بین می رود.

کاهش	وزن	مخصوص	ادرار
(HYPOSTHENURIA)			
✓	نوشیدن زیاد مایعات		
✓	استفاده از دیورتیک ها		
✓	دیابت بی مزه		
✓	گلوMERULONFRIT		
✓	پیلونفریت		

افزایش	وزن	مخصوص	ادرار
(HYPERSTHENURIA)			
✓	از دست رفتن بیش از حد آب از کلیه ها		
	(تب، استفراغ و اسهال)		
✓	سندرم نفروتیک (به علت پروتئینوری)		
✓	دیابت قندی (به علت گلیکوزوری)		
✓	نارسایی آدرنال (افزایش دفع سدیم از ادرار)		
✓	مسمومیت حاملگی (به علت پروتئینوری)		
✓	نارسایی احتقانی قلب		
✓	بیماری های کبدی		

وزن	مخصوص	ثابت
(ISOSTHENURIA)		
✓	نارسایی مزمن کلیه	

تغییرات در بوی ادرار

علت	بو
عفونت ادراری نگهداری نامناسب نمونه ادرار	تند و زننده بوی آمونیاک
کتونوری (کتواسیدوز دیابتی یا گرسنگی طولانی)	استون مانند (میوه ای)
بیماری شربت افرا MSUD	شیره افرا (شکر سوخته)
PKU	بوی موش
تیروزینمی	فاسد (بوی ترشیدگی)
سوجذب متیونین	کلم
ایزو والریک اسیدوری	عرق پا
هیپرمتیونینمی	بوی کره فاسد یا بوی ماهی

PH

❖ توانایی کلیه ها برای حفظ غلظت طبیعی یون هیدروژن

❖ ادرار طبیعی اسیدی است. **PH : 4.5- 8.0 (Average: 6.0/24h)**

❖ اهمیت بالینی و آزمایشگاهی اندازه گیری PH ادرار:

✓ بررسی وضعیت تعادل اسید-باز

✓ پایش PH ادرار برای پیشگیری از عفونتهای ادراری

✓ پایش PH ادرار برای پیشگیری از تشکیل کریستالها و سنگهای کلیوی

✓ کمک به تشخیص کریستالهای ادراری

✓ تعیین کیفیت نمونه ارسالی

تغییرات در PH ادرار

ادرار قلیایی	ادرار اسیدی	
وعده های غذایی سنگین رژیم غذایی غنی از سبزیجات و میوه های خانواده مرکبات مصرف بیش از حد شیر و آنتی اسیدها	مصرف بالای پروتئین مصرف زغال اخته ورزش های سنگین	فیزیولوژیکی
آلکالوز سیستمیک (آلکالوز تنفسی آلکالوز متابولیک) نارسایی مزمن کلیه اسیدوز توبولار استفراغ UTI ناشی از پروتئوس، سودوموناس، کورینه باکتریوم، <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	اسیدوز سیستمیک (کتواسیدوز دیابتی، اسیدوز تنفسی) تب بالا (تجزیه پروتئین های بافت) گرسنگی و کم آبی بدن اسهال شدید UTI ناشی از اشرشیاکلی عفونتهای مجاری ادراری و تناسلی	پاتولوژیکی

ارزیابی آمونیاک ادرار

➤ کلیه ها دفع اسید و تعادل اسید-باز سیستمی را تنظیم می کنند. تغییر مقدار آمونیوم در ادرار یکی از روش های مهم کلیه برای انجام این وظیفه است.

➤ افزایش آمونیاک ادراری:

کتواسیدوز دیابتی، مصرف مواد غذایی اسیدی، مصرف بیش از حد آب، عفونت های دستگاه ادراری

➤ کاهش آمونیاک ادراری:

آلکالوز، نفریت

قند ها در ادرار

- آستانه بازجذب توبولی ۱۸۰-۱۶۰ میلی گرم در دسی لیتر
- گلیکوزوری یک اصطلاح غیر اختصاصی که به حضور هر قند احیاء در ادرار نامیده می شود.



❖ Lactosuria : عدم تحمل لاکتوز

❖ Galactosuria : گالاکتوزمی کلاسیک

❖ Fructosuria : عدم تحمل ارثی فروکتوز

❖ Pentosuria : پنتوزوری اساسی

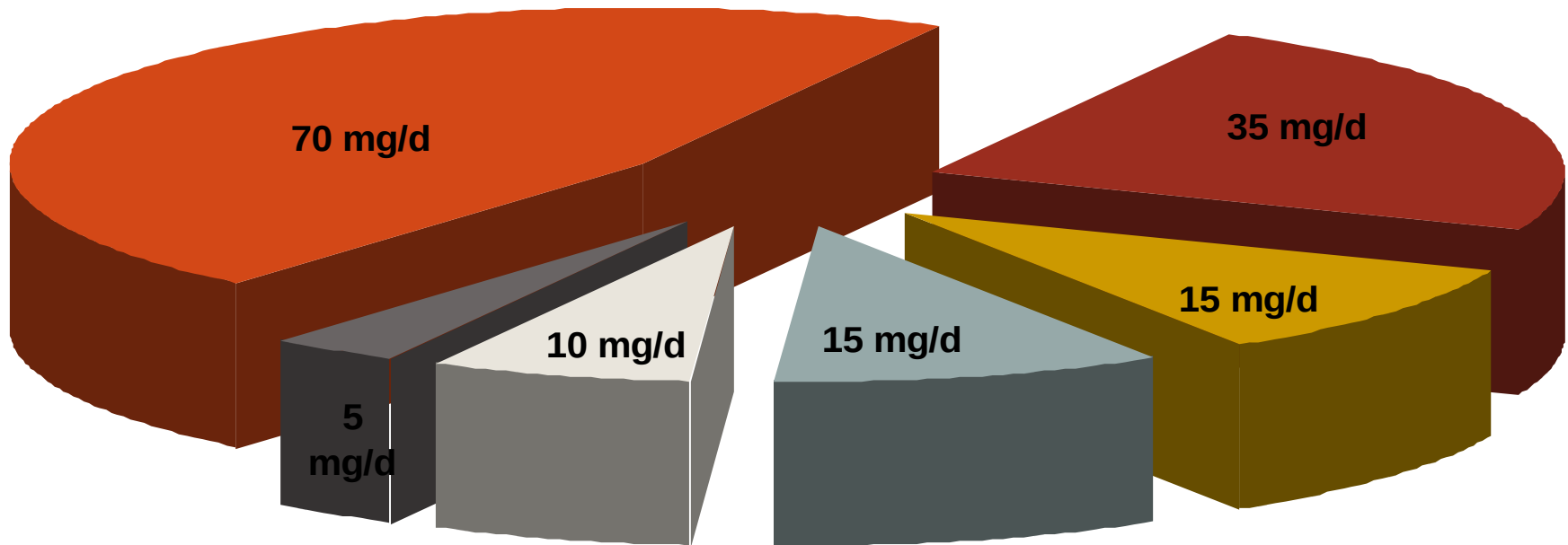
	Negative
	Trace (100 mg/dL)
	+ (250 mg/dL)
	++ (500 mg/dL)
	+++ (1000 mg/dL)
	++++ (2000+ mg/dL)

○ تست نواری (Dipsticks)



پروتئین ادرار

- ✓ عفونت ادراری عوارض متعددی می تواند داشته باشد که یکی از آن ها درگیری کلیه ها و آسیب به آن ها می باشد.
- ✓ آسیب و عفونت کلیه با دفع پروتئین همراه است. بنابراین دفع پروتئین می تواند نشانگر عفونت ادراری باشد.



■ Tamm Horsfall Protein
■ Albumin
■ Hormones and Enzymes

■ Blood Group Related Antigens
■ Mucopolysaccharides
■ Immunoglobulins

پروتئینوری

➤ به طور نسبی مقدار قابل ملاحظه ای از آلبومین به دلیل غلظت پلاسمایی بالا و وزن مولکولی تا حدودی پایین (۶۶ KD) از گلومرول عبور می کند. (رایج ترین نوع پروتئینوری، آلبومینوری است. از این رو گاهی پروتئینوری و آلبومینوری مترادف هم استفاده می شود)

➤ پروتئین های کوچکتر از آلبومین مانند $\alpha_1\mu G$ ، RBP، $\beta_2\mu G$ به آسانی از فیلتراسیون گلومرولی فیلتر می شوند اما در قسمت توبولی کلیه، باز جذب می شوند.

➤ پروتئین های بزرگتر از آلبومین مانند Ter و α_1MG در حالت طبیعی از فیلتراسیون گلومرولی عبور نمی کنند.

➤ انواع پروتئینوری:

□ گلومرولی:

▪ فقدان آسیب پاتولوژیکی گلومرول (پروتئینوری گذرا / پروتئینوری ارتواستاتیک)

▪ وجود آسیب پاتولوژیکی گلومرول (پروتئینوری نفروتیک / پروتئینوری غیر نفروتیک)

□ توبولی:

▪ پروتئینوری توبولی حاد

▪ پروتئینوری توبولی مزمن

□ Overflow: هموگلوبینوری، میوگلوبینوری، پروتئین بنس جونز

➤ پروتئینوری انتخابی: هنگامی که پروتئین ها با وزن مولکولی پایین مانند آلبومین یا ترانسفرین به صورت انتخابی از طریق کلیه ها دفع شوند.

➤ پروتئینوری غیر انتخابی: هنگامی که پروتئین ها با وزن مولکولی بالا مانند گلوبولین و فیبرینوژن (علاوه بر پروتئین های LMW) از طریق کلیه ها دفع شوند.

علل پروتئینوری : دلایل پاتولوژیکی

پروتئینوری پس کلیوی (کاذب)

- عفونت های شدید مجاری ادراری
- ضایعات التهابی، دژنراتیو و تروماتیک لگن، حالب، مثانه، پروستات یا پیشابراه
- خونریزی مجاری ادراری- تناسلی
- آلودگی ادرار با مایع منی یا ترشحات واژن

پروتئینوری کلیوی

- سندرم نفروتیک
- پیلونفریت
- گلومرولونفریت حاد و مزمن
- نفرواسکلروز
- سل های کلیوی
- نارسایی کلیه

پروتئینوری پیش کلیوی

- کم آبی شدید
- بیماری های قلبی
- کم خونی شدید
- تب
- بیماری میلوم مولتیپل
- مسمومیت حاملگی

روشهای اندازه گیری پروتئین ادرار

➤ **روش نواری:** زمانی که نوار کاغذی حاوی بروموکروزول سبز و بافر سالیسیلات، آغشته به ادرار می شود باعث

تغییر رنگ از سبز کم رنگ تا سبز - آبی می گردد.

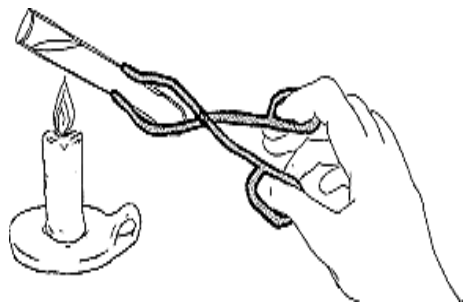
PROTEIN 60 sec.							
	NEGATIVE	TRACE 15-30	+ 30-100	++ 100-300	+++ 300-1000	++++ >1000	mg/dl

➤ اتصال پروتئین وابسته به PH است. آلبومین در 5 - 7 pH، و پروتئین های دیگر در pH پایین تر ولی با میل

ترکیبی کمتر متصل می شوند، در حالی که پروتئین بنس جونز در هیچ PH متصل نمی شود. بنابراین صرفا جهت تشخیص آلبومین می باشد.

➤ حساسیت در غلظت های پایین (میکروآلبومینوری، گلوبولین ها، پروتئین بنس جونز یا پروتئین های توبولار در

این روش تشخیص داده نمی شوند)



➤ روش حرارت و استیک اسید:

✓ بر پایه رسوب در اثر گرما و انعقاد توسط اسیدها است. (کدورت آلبومین را نشان می دهد)

➤ روش سولفوسالسیلیک اسید (SSA) یا تری کلرو استیک اسید (TCA)

✓ بار منفی اسید، بار مثبت پروتئین ها را خنثی کرده و بنابراین باعث دناتوراسیون و رسوب پروتئین ها می گردد.

✓ کدورت حاصله به دلیل وجود آلبومین و گلوبلین می باشد.



➤ ارزیابی کمی پروتئین

➤ روش Esbach با استفاده از آلبومینومتر:

✓ این روش بسیار قدیمی است و در بسیاری از آزمایشگاه ها استفاده نمی گردد

➤ کدورت سنجی با اسپکتروفتومتر:

✓ توانائی سنجش مقادیر کم پروتئین

✓ استفاده از ادرار ۲۴ ساعته در این روش ارجح می باشد

➤ میکروآلبومینوری

✓ دفع آلبومین ادرار بین ۳۰-۳۰۰ mg/day می باشد. این عدد بالاتر از محدوده نرمال، اما پایین تر از محدوده قابل تشخیص با روش های نواری است. لذا با روشهای معمول قابل تشخیص نمی باشد و از تکنیکهایی مانند نفلومتری، رادیوایمونواسی، آنزیم ایمونواسی و توربیدومتری استفاده می گردد.

خون در ادرار

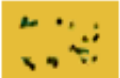
- به حضور سلول های قرمز خون در ادرار **هماچوری** گویند.
- هماچوری آشکار: رنگ ادرار قرمز به نظر می رسد. (سنگ کلیه، بدخیمی ها، تروما، سل و گلومرولونفریت حاد)
- هماچوری میکروسکوپی: خون با چشم غیر مسلح قابل رویت نیست. (فشار خون بالا، کم خونی داسی شکل، اختلالات انعقادی، بیماری کلیه پلی کیستیک، انتقال خون ناسازگار، آنمی همولیتیک اتوایمیون)
- ممکن است که همولیز در ادرار رخ دهد و در بررسی میکروسکوپی RBC مشاهده نگردد، بنابراین **هموگلوبین** نیز ارزیابی می گردد.

Extracorpuscular	Intracorpuscular
عوامل خارجی	اختلال در داخل RBC
آنتی بادی: همولیز ایمنی (به عنوان مثال واکنش های انتقال خون)	نقص آنزیمی (به عنوان مثال G6PD)
همولیز میکروآنژیوپاتیک	هموگلوبینوپاتی ها (به عنوان مثال HBS)
عفونت ها و سموم (به عنوان مثال مالاریا)	اختلالات غشاء RBC
	اسفروسیتوز ارثی
	هموگلوبینوری حمله ای شبانه (PNH)

ارزیابی خون در ادرار

➤ روش نواری:

- ✓ فعالیت پراکسیدازی هموگلوبین باعث کاتالیز واکنش بین جزء Heme هموگلوبین یا میوگلوبین با تترامتیل بنزیدین (کروموژن) و تولید رنگ سبز-آبی می گردد.
- ✓ روش نواری ادرار روش سریع و نسبتاً حساس ($>80\%$) برای تشخیص هماچوری در نمونه تازه ادرار می باشد.
- ✓ با این حال نوار ادرار، هموگلوبین ناشی از لیز RBC (در شرایط همولیتیک)، و میوگلوبین (در اثر صدمه، رابدومیولیز و یا میوزیت) را نیز تشخیص می دهد.

BLOOD	NEGATIVE	NON-HEMOLYZED TRACE	MODERATE	HEMOLYZED TRACE	SMALL +	MODERATE ++	LARGE +++
60 seconds							



➤ تست بنزیدین:

- ✓ فعالیت پراکسیدازی هموگلوبین باعث تجزیه پراکسید هیدروژن شده و اکسیژن آزاد شده به نوبه خود بنزیدین را به رنگ آبی اکسید می کند.

➤ گلبول قرمز در ادرار (آزمایش میکروسکوپی):

✓ نرمال: 1-2 RBCs/HPF

✓ هماچوری: 2-5 cells /HPF

✓ هماچوری قابل ملاحظه یا دائمی: >3 RBC's/HPF بعد از ۳ بار آنالیز ادراری و یا >100 RBC بعد از یکبار آنالیز ادراری

□ هماچوری به دلایل (آسیب گلومرولی، تروما کلیه، سنگ های دستگاه ادراری، عفونت های دستگاه ادراری، سیستیت، آنفلوآنزا، بیماریهای ویرال، استرس های فیزیکی و ...) ایجاد می گردد.



لکوسیت استراز و نیتريت ادرار: ارزیابی وجود عفونت

➤ آزمایش احیای نیتريت:

- ✓ در آزمایش احیای نیتريت، وجود نیتريت در ادرار بعنوان وجود UTI تلقی می شود. آنزیم های احیا کننده نیتريت به نیتريت از طرف اغلب پاتوژنهای شایع UTI تولید می گردد.
- ✓ در صورت تأخیر در انتقال نمونه بعلت رشد میکروارگانیسم ها احتمال واکنش مثبت کاذب وجود دارد.
- ✓ آزمایش احیای نیتريت در مواردی که تعداد باکتری کمتر از 10^5 CFU/mL است، قابل اعتماد نیست.
- ✓ *E.colie*، کلبسیلا، انتروباکتر، پروتئوس، پسودوموناس، استرپتوکوکوس، نیتريت مثبت هستند. ولی استافیلوکوکوس ساپروفیتیکوس و انتروکوکوس نیتريت منفی هستند.

Nitrite + p-arsenilic acid $\xrightarrow{\text{Acidic}}$ Diazo compound

Diazo compound + Tetrahydrobenzoquinolinol
-----> Colored Complex

Read at 60 seconds



➤ آزمایش لکوسیت استراز:

- ✓ وجود لکوسیت استراز در ادرار نشان دهنده وجود UTI می باشد.
- ✓ این روش در مواردی مانند پیوری و التهاب حاد بسیار مناسب است. اما برای تشخیص سندرم اورترال حاد، حساسیت کافی ندارد.

Derivatized pyrrole amino acid ester

Esterases

-----> 3-hydroxy-5-phenyl pyrrole

3-hydroxy-5-phenyl pyrrole + diazo salt

-----> Colored Complex

Read at 2 minutes

Analytic Sensitivity: 3-5 WBCs

➤ کاتالاز:

- ✓ آنزیم کاتالاز بجز استرپتوکوکها و انتروکوکها، اغلب توسط عوامل پاتوژن UTI تولید می شود.
- ✓ مطالعات اختلاف چندانی بین این روش (API Uriscreeen) با روش نواری لکوسیت استراز نشان نمی دهند.

لکوسیت ها

➤ پیوری (Pyuria)

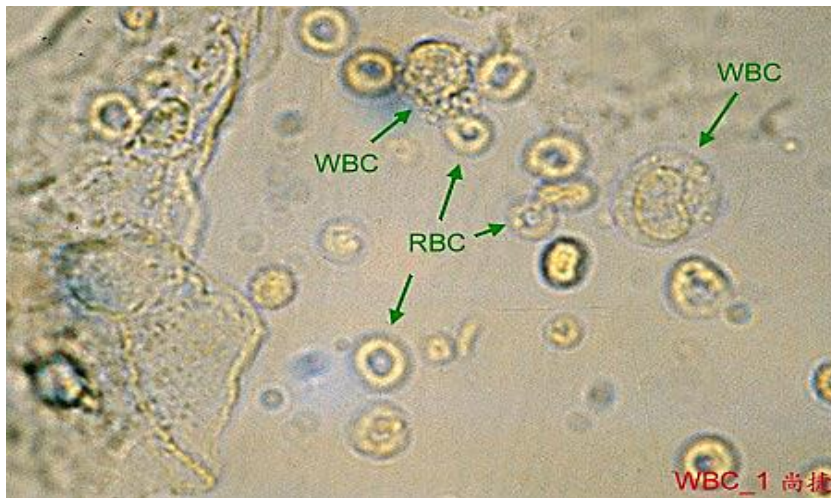
✓ اشاره به حضور تعداد غیر طبیعی WBC دارد که ممکن است با عفونت دستگاه ادراری ظاهر شوند.

✓ WBC ممکن است از واژن، به خصوص در حضور عفونت های واژن و گردن رحم، و یا از مجرای ادراری در مردان و زنان، وارد ادرار شوند.

✓ پیوری عمدتاً به دنبال التهاب یا عفونتهایی مانند پیلونفریت / سیستیت / پروستاتیت / اورتریت مشاهده می گردد.

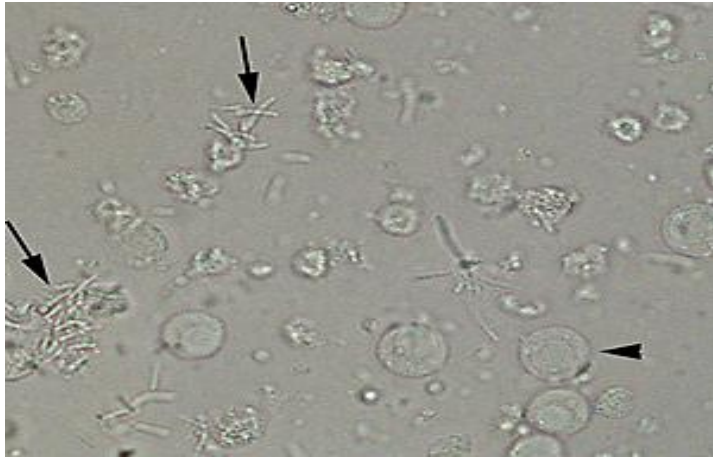
✓ نرمال: WBCs/HPF ۱-۳

✓ تعداد >5 لکوسیت در هر HPF ادرار سانتیریفیوژ شده بعنوان پیوری تلقی می شود که معادل >50 لکوسیت در هر میلی متر مکعب است.



علت حضور	لوکوسیت ها
✓ بیشترین لوکوسیت موجود در ادرار با قطر حدود $10\ \mu\text{m}$ و یک سیتوپلاسم گرانولار در اطراف یک هسته لوبوله ✓ عفونت های دستگاه ادراری (UTI)، گلومرولونفریت پرولیفراتیو فعال، نفریت بینابینی حاد یا مزمن و اختلالات ارولوژیکی ✓ در زنان، در نتیجه آلودگی ادرار از ترشحات تناسلی (در چنین مواردی، با مقادیر زیادی از سلول های سنگفرشی اپیتلیوم و باکتری ها همراه هستند)	نوتروفیل ها
✓ نشانه ای از شرایط مزمن التهابی، بیماری های ویروسی، رد پیوند کلیه ✓ دفع تدریجی یا ناگهانی لنفوسیت در ادرار، در دریافت کنندگان پیوند کلیه، نشانگر اولیه و حساس رد پیوند حاد سلولی است.	لنفوسیت
نشانگر نفریت بینابینی حاد، عفونت ادراری، پروستاتیت، شیزتوزومیازیس ادراری	ائوزینوفیل

باکتری ها



➤ به صورت کوکسی یا باسیل وجود دارند.

➤ اکثرا به علت آلودگی، و نه عفونت، در ادرار حضور دارند.

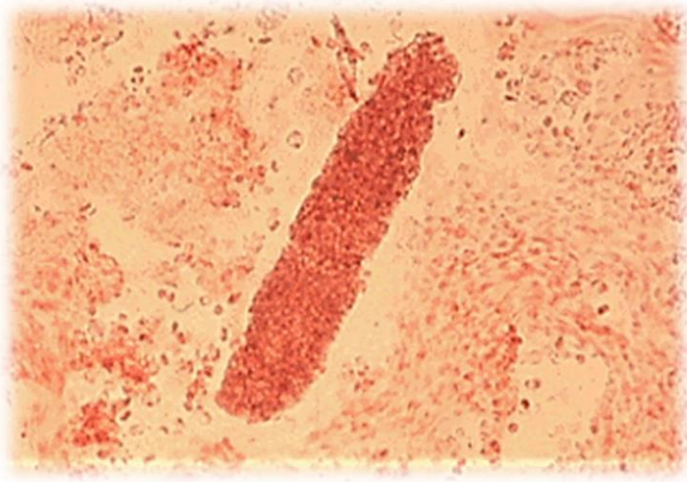
➤ حضور لوکوسیت ها احتمال وجود یک عفونت واقعی را افزایش می دهند، با این وجود لوکوسیت ها و باکتری ها، به ویژه در زنان، ممکن است از طریق دستگاه تناسلی وارد ادرار شوند.

➤ در بیماران مبتلا به پیلونفریت حاد، کست های باکتری دیده می شود.

- 90 % of first episodes: *E. coli*
- 10 % : *Proteus*, *Klebsiella*, *Strep. fecalis*, *Enterobacter*
- Debilitated: *Pseudomonas*, *Serratia*, *Providencia*, *Chlamydia*, *Gonorrhea*, *Trichomonas*

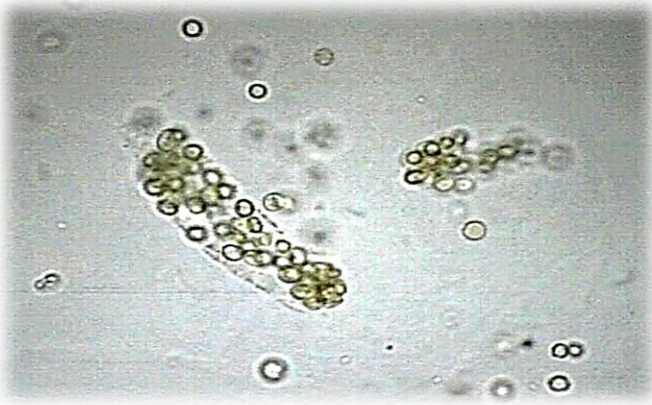
کست گرانولار

- کست های گرانولار از کست های شایع ادراری می باشند که در هر دو حالت فیزیولوژیک و پاتولوژیک (بیماری های کلیوی گلومرولار و توبولار / عفونت های ویرال / مسمومیت مزمن با سرب) مشاهده می شوند.
- منشا آنها: بقایای سلولی WBC، RBC، سلول های آسیب دیده توبولی / تجمع پروتئین های پلاسما از جمله فبرینوژن و گلوبولین ها که از گلومرول های آسیب دیده کلیوی عبور نموده اند / رسوب نمک ها و ...
- علل: بیماری های توبولی و گلومرولی / بیماری های توبولی- بینابینی / رد آلوگرافت کلیه / **پیلونفریت** / عفونت ویروسی / مسمومیت مزمن با سرب / ...



کست های سلولی

➤ **کست گلبول قرمز (گلوپرونفریت حاد / نفریت لوپوس / انفارکتوس کلیه / پیلونفریت شدید / ...)**



➤ **کست لکوسیت**

✓ در بیماران مبتلا به عفونت دستگاه ادراری (UTI) بسیار ارزشمند است.

✓ حضور آن حاکی از درگیری پارانشیم کلیه است.

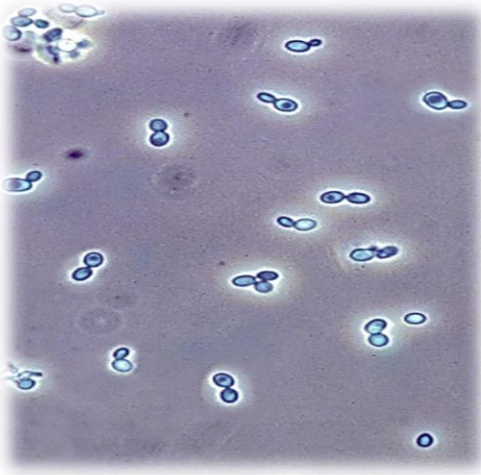


ارزیابی تشخیصی

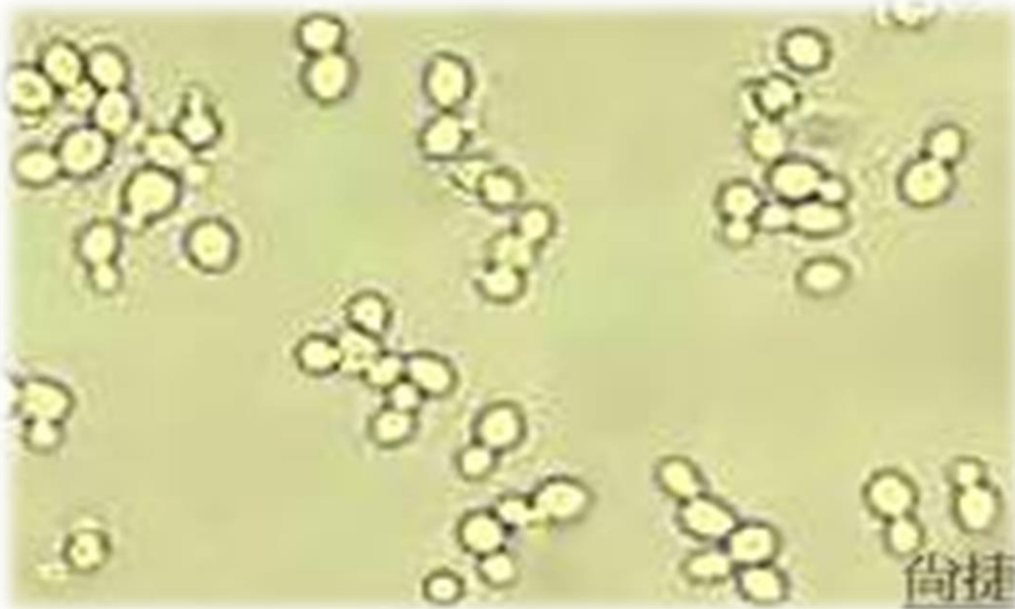
- هنگامی که پروتئینوری در آنالیز نواری یافت می گردد، رسوب ادراری باید از نظر میکروسکوپی نیز مورد بررسی قرار گیرد:

عفونت مجاری ادراری	کست لکوسیت، کست لکوسیت با باکتری
بیماری بینابینی کلیه	کست لکوسیت، لکوسیت بدون باکتری
حاکي از آسیب دستگاه ادراری تحتانی	گلبول های قرمز با شکل طبیعی
حاکي از آسیب فوقانی دستگاه ادراری	گلبول های قرمز دیس مورفیک
بیماری های گلومرولی	کست گلبول قرمز
بیماری مزمن کلیه	کست مومی، گرانولار و یا سلولی

قارچ ها



- کاندیدا رایج ترین مخمر ادرار است.
- معمولا سلول های تخم مرغی شکل و دارای جوانه هستند.
- شایع ترین علت آلودگی از دستگاه تناسلی است.
- در محلول اسید استیک ۲٪ حل و با اتوزین رنگ آمیزی نمی شوند.



Urine cultures

Urinary Tract Infection (UTI)

Gram positive Bacteria

Staphylococcus aureus

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Enterococcus faecalis

Streptococcus agalactiae

Streptococcus pneumoniae

Staphylococcus epidermis

Fungi

Candida albicans

Gram negative Bacteria

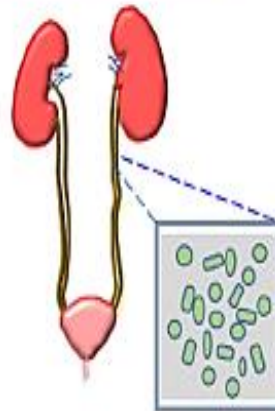
Escherichia coli

Salmonella enterica

Klebsiella pneumoniae

Pseudomonas aeruginosa

Enterobacter cloacae



Conventional diagnosis



Urine Culture



Suprapubic aspiration
(Invasive urine
collection in infants)

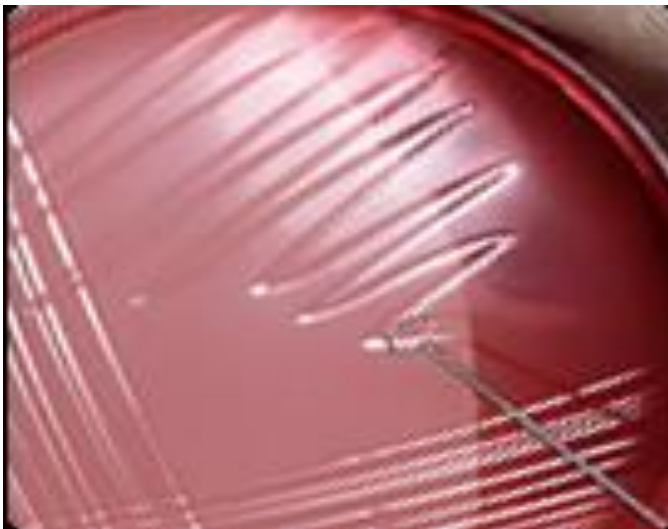
Urine cultures for Diagnosis Of UTI

➤ رنگ آمیزی گرم:

- ✓ رنگ آمیزی گرم، آسانترین، ارزانتین و احتمالاً حساسترین و قابل اعتمادترین روش غربالگری جهت شناسایی نمونه های ادرار حاوی 10^5CFU/mL میکرو ارگانیسم می باشد.
- ✓ وجود یک باکتری در هر میدان میکروسکوپی، نشاندهنده حداقل 10^5 باکتری در هر میلی لیتر ادرار می باشد.
- ✓ مشاهده شدن حداقل یک لکوسیت در هر میدان میکروسکوپی دلالت بر UTI است.

➤ کشت ادرار:

- ✓ استاندارد طلایی تشخیص UTI می باشد
- ✓ بطور سنتی، بیش از 10^5CFUs ، UTI (و یا باکتریوری بدون علامت) در نظر گرفته می شود.



❖ Problem?

➤ بسیاری از آزمایشگاه ها 0 to 10,000 CFUs ($<10^4$) را به عنوان یک کشت منفی گزارش می کنند.

➤ **Uncomplicated Cystitis:**

- ✓ leukocyte esterase + and/or nitrite + only 75% sensitive
- ✓ Culture: 10^5 bacterial CFU only 50% sensitive

➤ در برخی عفونتهای دستگاه ادراری مانند عفونت با باکتریهای بیهوازی و التهاب مثانه در اثر عفونت کلامیدیا، مایکوپلاسما، یا برخی ویروسها ممکن است تعداد زیادی WBC در ادرار دیده شود، در حالیکه ارگانسیم مولد عفونت در محیطهای کشت معمولی رشد نمی کنند. بنابراین نتیجه کشت ادرار منفی خواهد شد.

➤ در موارد زیر علی رغم وجود عفونت، تعداد کلونی ها پایین می باشد:

✓ شروع درمان آنتی بیوتیکی قبل از جمع آوری نمونه ادرار

✓ غلظت بالای اوره ادرار

✓ اسمولالیتیه بالای ادرار

✓ PH پایین ادرار

✓ دیورز ناشی از مصرف مقدار زیاد آب

✓ قبل از جمع آوری نمونه، بیمار به تازگی ادرار کرده باشد



➤ باکتریوری بدون علامت (Asymptomatic Bacteriuria)

✓ وجود باکتری بیش از 10^5CFU/mL در ادرار یک فرد بدون علائم UTI

- ✓ Young healthy women: 3 to 5%
- ✓ Pregnant women: 2 to 9.5%
- ✓ Women aged 65-80 years: 18 to 43%
- ✓ Women > 80 years: up to 43%
- ✓ Men 65-80 years: 2 to 15%

✓ علل: اوروپاتی انسدادی، بیماری عصبی عضلانی، زوال عقل (perineal soiling)

✓ بر اساس آموزش سنتی، وجود باکتریوری یک جمعیت در معرض خطر را مشخص می کند. لذا، درمان UTI بدون علامت خطر ابتلا به یک بیماری بالینی را به حداقل می رساند.

✓ بر اساس آموزش مدرن، درمان آن هیچ فایده ای نخواهد داشت (به جز در بارداری و قبل از عمل اورولوژی). لذا، اصطلاح به باکتریوری بدون علامت تغییر یافت.

✓ میکروبیوم انسانی یک مکانیسم دفاعی قوی در برابر باکتری های بیماری زا است.

✓ درمان آنتی بیوتیکی ASB فراوانی UTI علامتدار را کاهش نمی دهد و فقط منجر به مقاومت دارویی و همچنین بروز عوارض جانبی آنتی بیوتیک می شود.

در تفسیر کشت باید به این موارد توجه کرد:

- ۱- عوامل مرتبط با بیمار (نوع نمونه ادرار ، سن ، جنسیت ، علائم بالینی و مصرف آنتی بیوتیک)
- ۲- نتیجه آزمون میکروسکوپی ادرار
- ۳- شرایط باکتری رشد یافته روی پلیت (تنوع کلنی رشد کرده یا خلوص کشت ، تعداد باکتری و نوع باکتری رشد یافته)
- ۴- روش نمونه برداری

طبقه بندی عفونت های ادراری با توجه به سندرم بالینی

دسته	کلینیکال	آزمایشگاه
UTI حاد و بدون عارضه در زنان	سوزش ادرار ، درد سوپراپوبیک ، تکرر ادرار ، فقدان علائم ادراری در ۴ هفته اخیر قبل از مشکل جاری ، بدون تب و درد پهلو	$\geq 10 \text{ WBC/mm}^3$ $\geq 10^3 \text{ CFU/ml}$ پاتوژن های ادراری در CCMS
پیلونفریت حاد و بدون عارضه	تب ، لرز ، درد پهلو در معاینه ، فقدان قاریخچه یا شواهد کلینیکی از مشکلات کلیوی	$\geq 10 \text{ WBC/mm}^3$ $\geq 10^4 \text{ CFU/ml}$ پاتوژن های ادراری در CCMS
UTI پیچیده و UTI در مردان	هر ترکیبی از علائم که در بالا لیست گردیده ، یک یا فاکتور های بیشتری که در ارتباط با عفونت ادراری پیچیده است	$\geq 10 \text{ WBC/mm}^3$ $\geq 10^5 \text{ CFU/ml}$ پاتوژن های ادراری در CCMS
باکتریوری بدون علامت	بدون علائم ادراری	$\geq 10 \text{ WBC/mm}^3$ $\geq 10^5 \text{ CFU/ml}$ در دو CCMS کشت ها در بیشتر از ۲۴ ساعت با دو نمونه جدا از هم

راهنمای تفسیر کشت های ادراری

آزمایشات تشخیصی	نوع نمونه خاص در ارتباط با شرایط کلینیکی به شرط شناسایی بیماری	نتیجه
کامل	CCMS ادرار در پیلونفریت ، سیستیت حاد ، باکتری اوریا بدون علامت یا ادرار سوند دار	$\leq 10^4 \text{ CFU/ml}$ از یک پاتوژن مستعد یا برای هر یک از دو پاتوژن مستعد
کامل	CCMS ادرار در مردان دارای علائم یا سندرم حاد اورترا یا ادرار سوند دار	$\leq 10^4 \text{ CFU/ml}$ از یک پاتوژن مستعد
هیچکدام ، بدلیل آلودگی نمونه ، درخواست نمونه دوباره	CCMS ادرار یا درار سوند دار	کسه نوع ارگانیسم بدون ارگانیسم غالب
آزمایشات تشخیصی کامل برای ارگانیسم غالب و توضیح ارگانیسم های دیگر	CCMS ادرار	دو یا سه نوع ارگانیسم با رشد یک ارگانیسم غالب و $< 10^4 \text{ CFU/ml}$ از ارگانیسم های دیگر
کامل	آسپیره شده از سوپراپوویک ، ادرار به دست آمده از هر عمل جراحی دیگر	$\leq 10^4 \text{ CFU/ml}$ از هر تعداد نوع ارگانیسم

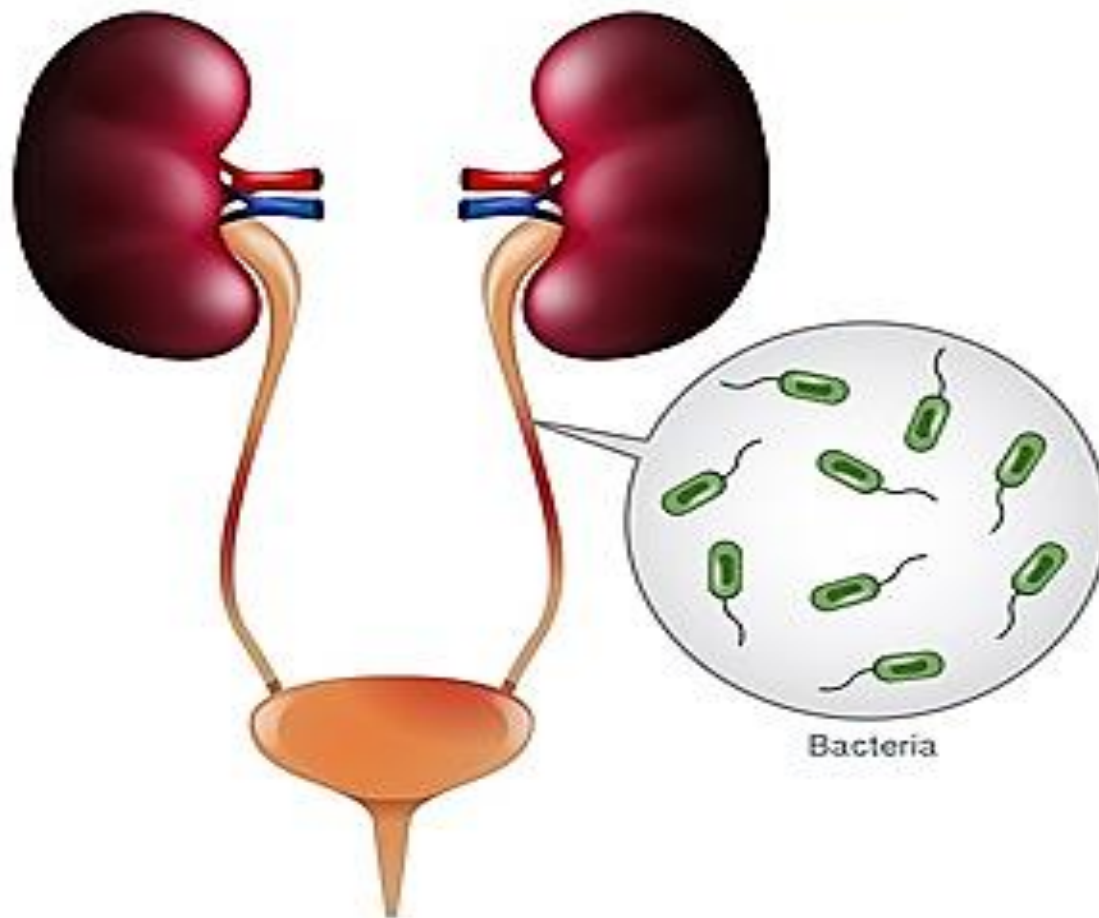
کامل: تشخیص ارگانیسم همراه با آزمایش حساسیت میکروبی

➤ سیستم های خودکار و نیمه خودکار:

- ✓ انواع مختلفی از سیستمهای خودکار و یا نیمه خودکار، با کشت و بدون کشت معرفی شده اند. در این روشها، با استفاده از متد های مختلفی می توان وجود لکوسیتها و باکتریها را در ادرار نشان داد. در سیستم های مذکور، تشخیص بر اساس تغییر رنگ معرف بعلت برخورد با ارگانیسم های موجود در ادرار می باشد.
- ✓ تشخیص در این سیستمها متکی به روشهای بیولومینسانس است. در سیستم هایی که نیاز به کشت دارند، امکان شمارش کلنی میکروارگانیسم های رشد کرده در چاهک های اختصاصی توسط کامپیوتر و تکنیک فتومتری میسر شده است.
- ✓ در سیستم های مذکور نتایج مثبت کاذب و منفی گزارش گردیده و لذا استفاده از آنها بصورت عمومی توصیه نمی شود.

New Approaches

Urinary Tract Infection



Biomarkers in urinary tract infections – which ones are suitable for diagnostics and follow-up?

GMS Infectious Diseases 2020, Vol. 8, ISSN 2195-8831

DOI: 10.3205/id000068

- Over 20 years (1999-2020)
- Conventional biomarkers for UTIs have low specificity
- Divided the available biomarkers into 5 groups:
 - ✓ Conventional markers
 - ✓ Promising, thoroughly studied biomarkers
 - ✓ Promising biomarkers that need further studies
 - ✓ Biomarkers of unknown significance
 - ✓ Controversial, not useful markers

Biomarkers	
Conventional biomarkers	
Promising, thoroughly studied markers	Cytokine
	NGAL
Promising markers that need further studies	HBP
	Spectrometry
	Lactoferrin
	BMP-2 + CysC
	MMP-9
	LBP
	HNP-1,-3 + HD-5
Biomarkers of unknown significance	
Controversial/not useful markers	

BMP-2: bone morphogenic protein-2, CysC: cystatin-C, HBP: heparin binding protein, HD-5: human defensin-5, HNP-1,-3: human neutrophil peptides-1,-3, LBP: lipopolysaccharide binding protein, MMP-9: matrix metalloprotease-9, NGAL: neutrophil gelatinase-associated lipocalin

- Heparin Binding Protein (HBP), Lactoferrin (LF), Heat-Shock Protein-70 (HSP-70), Human Defensin-5 (HD-5), and Lipopolysaccharide Binding Protein (LBP) studies are promising, but confirming data are lacking.
- Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)* and interleukins (IL) have a leading role in diagnosing and differentiating UTIs based on a lot of observational, comparative trials.
- The use of urinary NGAL and interleukins (IL-1B; IL-6; IL-8) could improve the sensitivity and specificity of laboratory diagnosis of UTIs.

* NGAL (25-kDa, 178 aa), which belongs to the superfamily of lipocalins, produced by neutrophils, plasma NGAL is freely filtered through the glomeruli and then totally reabsorbed by the proximal tubules. NGAL reduces apoptosis and increases proliferation in kidney tubule cells through processes involving immune modulation, inflammation, and neoplastic transformation.

Identification of clinical and urine biomarkers for uncomplicated urinary tract infection using machine learning algorithms

**SCIENTIFIC
REPORTS**
nature research

<https://doi.org/10.1038/s41598-019-55523-x>

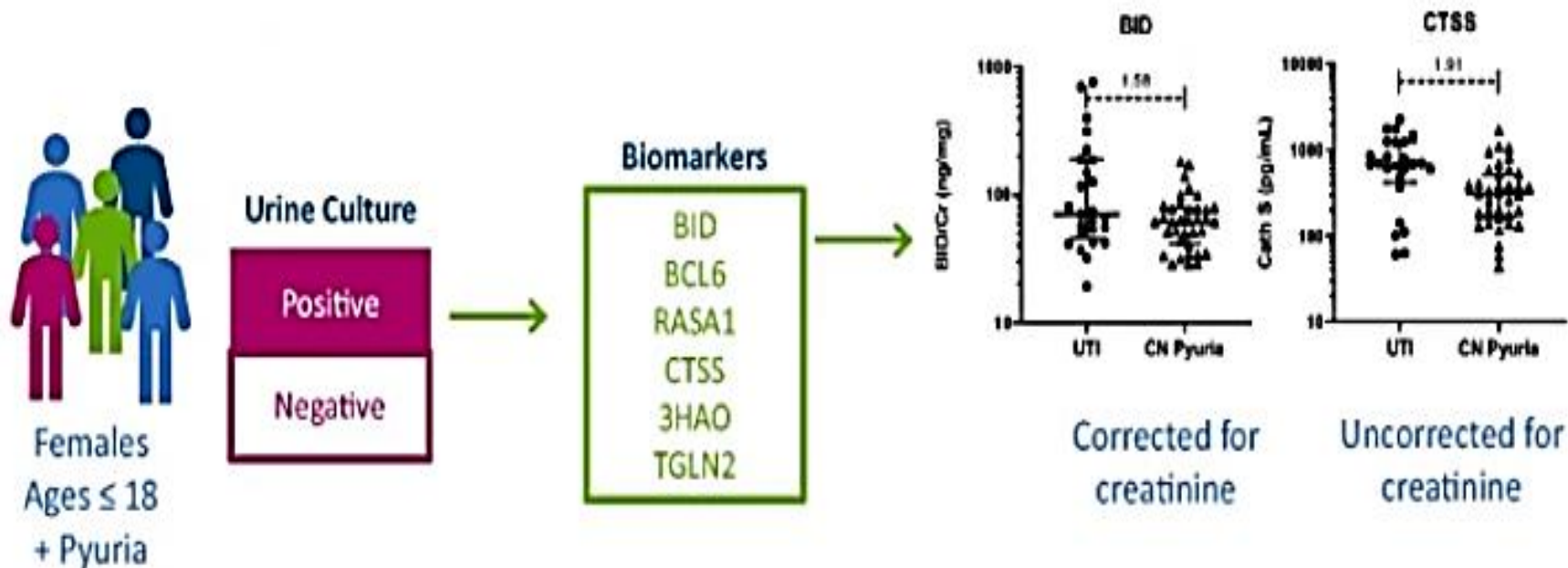
- 17 clinical and 42 immunological potential predictors for bacterial culture among women with uncomplicated UTI symptoms
- Urine cloudiness (based on leukocytes esterase) was the best performing clinical predictor (particularly in ruling out negative UTI cases)
- Urinary levels of MMP9, NGAL, IL-8 and IL-1 β together had a higher LR+ and similar LR–, compared to cloudiness

Urinary immune biomarker procedure. Cell-free urines were analyzed on a SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery) using the V-PLEX Human Cytokine 30-Plex Kit to measure levels of IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-16, IL-17A, IFN- γ , TNF- α , TNF- β , GM-CSF, VEGF, CCL2, CCL3, CCL4, CCL11, CCL13, CCL17, CCL22, CCL26, CXCL8 and CXCL10, and using an ultrasensitive single-plex assays for sIL-6R. Conventional ELISA kits were used to measure creatinine, cystatin C, HSA, MMP8, MMP9 and RBP4 (R&D Systems) as well as fibrinogen (Abcam). HNE was measured using a B.I.T.S. ELISA kit (Mologic); activated PGP, desmosine, FMLP and NGAL were measured using validated in-house developed ELISA kits (Mologic).

Novel urine biomarkers to distinguish UTI from culture-negative pyuria

[Elaise B Hill](#) , [Joshua R Watson](#), [Daniel M Cohen](#), [David Kline](#), [Andrew L Schwaderer](#) & [John D Spencer](#)

Pediatric Nephrology (2021) | [Cite this article](#)



- Novel urinary biomarkers: BH3 interacting domain death agonist (BID), B-cell lymphoma 6 protein, ras GTPase-activating protein 1, cathepsin S (CTSS), and transgelin-2
- BID and CTSS concentrations were elevated in the urine of children with UTI compared to those with culture-negative pyuria

Disease Markers in Urine: A Review

Tennyson Mathai, June 2020

DOI: 10.13140/RG.2.2.25025.17761

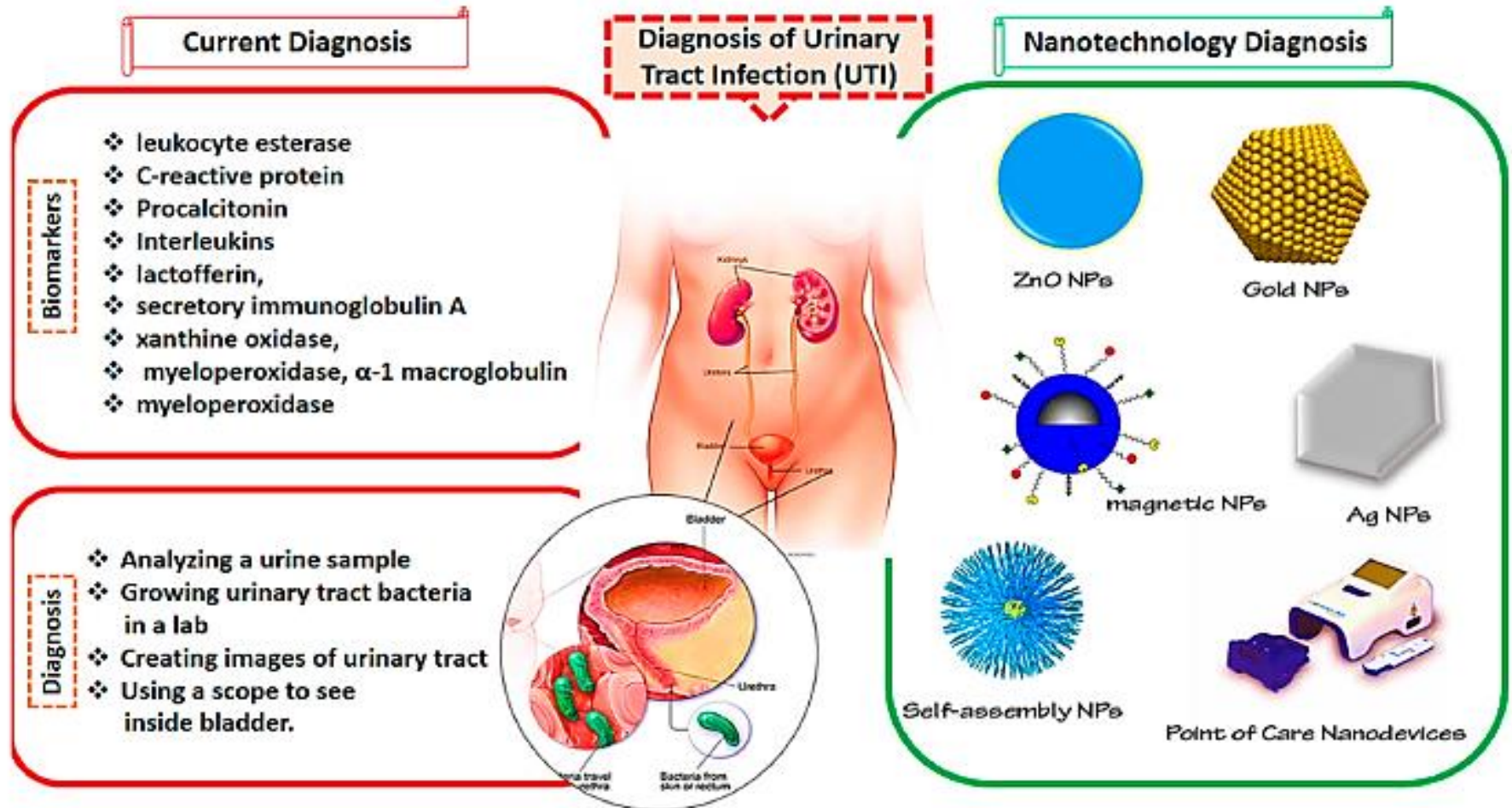
Biomarkers	Remarks	Mediators
Xanthine oxidase	Elevated	Generates reactive oxygen species (ROS)
Myeloperoxidase	Elevated	Inflammatory marker
Leukocyte esterase	Elevated	Presence of WBC
Urinary Nitrite	Positive	Bacteria converts nitrate to nitrite.
Heparin Binding protein	Elevated	Presence of neutrophils (WBC)

- UTI can be easily cured with the help of antibiotics, only if it is diagnosed early
- Urinary markers were also capable of differentiating UTI with diseases that have similar symptoms (cystitis and pyelonephritis).
- Heparin-binding protein in urine could differentiate UTI with pyelonephritis and cystitis with a sensitivity and specificity of 89.2% and 89.9%
- Xanthine oxidase and myeloperoxidase with sensitivity and specificity of 100%, 100% and 87%, 100% respectively

Nanomaterials for the Diagnosis and Treatment of Urinary Tract Infections

Nanomaterials 2021, 11, 546.

<https://doi.org/10.3390/nano11020546>



Current methods and nanotechnology approaches for the diagnosis of urinary tract infections



Urine proteome of COVID-19 patients

Yanchang Li ^{a,1}, Yihao Wang ^{a,g,1}, Huiying Liu ^{b,1}, Wei Sun ^{a,1}, Baoqing Ding ^c, Yinghua Zhao ^a,
Peiru Chen ^a, Li Zhu ^d, Zhaodi Li ^a, Naikang Li ^a, Lei Chang ^a, Hengliang Wang ^{d,**},
Changqing Bai ^{b,***}, Ping Xu ^{a,e,f,*}



- 40 subjects
- LC-MS
- Proteins related to hypoxia and complement activation were upregulated, whereas proteins associated with platelet degranulation, and glucose and lipid metabolic process were downregulated in severe covid-19 patients

Biomarkers	Mediators
Immunoglobulin lambda variable 1-44	Complement activation
Immunoglobulin lambda variable 1-40	
Complement C-3	
Complement C4-B	
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase FKBP1A	Regulation of immune response
Immunoglobulin lambda variable 1-44	
Immunoglobulin lambda variable 1-40	
Complement C-3	
Thioredoxin domain-containing protein-17	Cellular oxidant detoxification
Fatty acid-binding protein, liver	
Parkinson disease protein-7	
Prelamin-A/C	Cellular response to hypoxia
Hypoxia up-regulated protein-1	
Fatty acid-binding protein, liver	
Superoxide dismutase [Cu-Zn]	Oxidative stress induced apoptosis
Parkinson disease protein-7	

Potential biomarkers for the novel corona virus SARS CoV-2, identified from the urine proteome analysis

THANK YOU