

دارای رتبه علمی - پژوهشی از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

توزیع فراوانی عوامل باکتریایی در شیر صفاوی بیماران مبتلا به سنگ و سایر بیماریهای صفاوی

الهه تاج الدین

کارشناس ارشد میکروبیولوژی، پژوهشکده
تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه
علوم پزشکی شهید بهشتی

سمیه جهانی شرافت

کارشناس ارشد میکروبیولوژی پزشکی، پژوهشکده
تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم
پزشکی شهید بهشتی

محمد رضا سید مجیدی

فوق تخصص گوارش و کبد، پژوهشکده تحقیقات بیماری
های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و
دانشگاه علوم پزشکی گلستان

مسعود آل بویه

دکترای تخصصی باکتری شناسی پزشکی، پژوهشکده
تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم
پزشکی شهید بهشتی

احسان ناظم الحسینی مجرد

دانشجوی دکتری تخصصی، پژوهشکده تحقیقات بیماری
های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

محمد امین پور حسینی

دکترای تخصصی آمار زیستی، پژوهشکده تحقیقات
بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید
بهشتی

امیر هوشنگ محمد علیزاده

فوق تخصص گوارش و کبد، پژوهشکده تحقیقات
بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید
بهشتی

محمد رضا زالی

استاد، فوق تخصص گوارش و کبد، پژوهشکده تحقیقات
بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید
بهشتی

نویسنده مسئول: مسعود آل بویه

تلفن: 021-22432518

پست الکترونیک:

masoud.alebouyeh@gmail.com

آدرس: تهران، پژوهشکده تحقیقات بیماری های
گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

وصول مقاله: 90/7/3

اصلاح نهایی: 90/10/18

پذیرش مقاله: 90/11/30

چکیده

زمینه و هدف: صفرا در افراد سالم استریل و فاقد هر گونه باکتری می باشد و وجود میکرو ارگانیسم ها در صفرای انسان می تواند نشانه ای از وجود یک مشکل بالینی باشد که در اغلب موارد با بیماری کوله لیتیاژیس (*cholelithiasis*) مرتبط است. هدف از مطالعه حاضر بررسی توزیع فراوانی باکتری های موجود در نمونه مجاری صفراوی بیماران مبتلا به سنگ های دستگاه صفراوی و بیماری های بدخیم دستگاه پانکراسی - صفراوی می باشد.

روش بررسی: طی 6 ماهه دوم سال 1390، 102 نمونه مایع صفراوی به روش اندوسکوپیک کولانژیوپانکراتوگرافی معکوس (ERCP) از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی جمع آوری گردید. ابتدا اطلاعات بالینی بیماران، نوع سنگ و بیماری های زمینه ای مورد بررسی قرار گرفت، در ادامه بررسی های میکروب شناسی مانند کشت، شمارش تعداد و تعیین هویت باکتری ها، تست های حساسیت دارویی و تست های مولکولی تاییدی (*16S rDNA PCR*) بر روی تمامی نمونه ها انجام گردید و ارتباط های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS version 13 در پایان مورد ارزیابی قرار داده شد. وجود شمارش بیش از هزار باکتری در هر نمونه بعنوان شاهدی بر کلینزاسیون پایدار در نظر گرفته شد.

یافته ها: از میان (41,1%) 42 نمونه کشت مثبت، 59 جدایه باکتریایی با استفاده از روش کشت جداسازی گردید، به علاوه در 7 نمونه از میان نمونه های کشت منفی نیز حضور DNA باکتریایی توسط روش مولکولی نشان داده شد. بیشترین نوع سنگ ها به ترتیب مربوط به سنگ کلسترولی، پیگمانته سیاه و پیگمانته قهوه ای و بیشترین ایزوله های جداسازی شده در این بیماران باکتری های اشرشیا کلی (34,4%)، انتروکوکوس (19,7%)، کلسیلا پنومونیه (18%) و سودوموناس اثرژیونوزا (18%) بودند. بین نوع سنگ، نوع باکتری کشت شده و بیماری های تحت بررسی در این بیماران ارتباط معناداری دیده نشد. داشتن سابقه مصرف آنتی بیوتیک در این بیماران مبتلا به سنگ صفراوی (44,6%) بطور معنادار بیش از سایر مشکلات صفراوی بود ($P=0.01$).

نتیجه گیری: وجود باکتری در 41,1% نمونه های صفراوی می تواند دلیلی بر نقش آنها در پاتوژنز بیماریهای صفراوی باشد. اشرشیا کلی و انتروکوکوسها از شایعترین این عوامل می باشند. مطالعه بیشتر بر روی توان بیماریزایی و اثرات پاتوفیزیولوژیک این باکتری ها خواهد توانست به روشن تر شدن نقش باکتری ها در ایجاد سنگهای صفراوی کمک نماید.

واژه های کلیدی: سنگ های صفراوی، باکتری، ERCP، آنتی بیوتیک

آدرس مقاله:

تاج الدین، جهانی شرافت س، سید مجیدی م ر، آل بویه م، ناظم الحسینی مجرد ا، پور حسینی م ا، محمد علیزاده ا، زالی م ر " توزیع فراوانی عوامل باکتریایی در شیر صفاوی بیماران مبتلا به سنگ و سایر بیماریهای صفراوی ". مجله علوم آزمایشگاهی پاییز و زمستان، 1390 دوره پنجم (شماره 2): 34-43

می شوند، به علاوه ارتباط معناداری بین شکل گیری سنگهای پیگمانته قهوه ای مجاری صفراوی و عفونت باکتریال دیده شده است. مطالعات اخیر نشان داده اند که 20-50% موارد کوله سیستیت سنگی همراه با عفونت باکتریال ثانویه هستند. انسداد مجاری صفراوی نیز در کلاژیت های بالارونده معمولا همراه با عفونت های باکتریال گرم منفی روده ای می باشند (7).

شیوع شکل گیری سنگ های صفراوی در ایران بر اساس یافته های سونوگرافی به طور متوسط در زنان و مردان در حدود 12 و 5% است (8). این فراوانی در قومیت های مختلف متفاوت می باشد و تحت تاثیر فاکتورهای خطری همچون سن، جنسیت، موتاسیون های ژنی، بارداری، چاقی، چربی خون، بیماری های زمینه ای، مصرف دارو و عفونت های میکروبی است. با توجه به شیوع بالای بیماری های دستگاه صفراوی و اهمیت پیشگیری در شکل گیری سنگ های صفراوی در مطالعه ی حاضر تلاش شده است شیوع عفونت های باکتریال هوازی و بی هوازی اختیاری در سنگ های مجاری صفراوی در بیماران تحت Endoscopic (ERCP) retrograde cholangiopancreatography و الگوی مقاومت دارویی آنها مورد بررسی قرار گیرد.

روش بررسی

نمونه گیری

در طی 6 ماهه اول سال 1389، 102 نمونه مایع صفراوی با رضایتنامه کتبی از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان طالقانی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در تهران به روش ERCP جمع آوری گردید. برای هر بیمار پرسشنامه مربوط به اطلاعات شخصی و نوع آنتی بیوتیک مصرفی در طی یک ماه پیش از نمونه گیری به منظور بررسی ارتباط آنها در تشکیل سنگ تکمیل شد. علت انجام ERCP در این بیماران سنگ و عفونت مجاری صفراوی، سرطانهای مجاری صفراوی و لوزالمعده و بیماریهای التهابی بود. بدین منظور میزان حداقل دو میلی لیتر صفرا از محتویات مجرای صفراوی هر بیمار، توسط اسپیراسیون در طول جراحی تهیه و در یک ظرف استریل جمع آوری گردید. نمونه ها جهت بررسی های بیشتر بلافاصله به آزمایشگاه ارسال می گردید.

صفرا در افراد سالم استریل و فاقد هر گونه باکتری می باشد و وجود میکرو ارگانسیم ها در صفراوی انسان می تواند نشانه ای از وجود یک مشکل بالینی باشد که در اغلب موارد با بیماری کوله لیتیازیس (Cholelithiasis) مرتبط است (1و2). شناسایی میکرو ارگانسیم های دخیل در ایجاد این بیماری ها و ارزیابی وضعیت مقاومت دارویی آنها می تواند کمک شایانی به پزشکان جهت تشخیص عوارض بیماری یا کنترل آنها نماید. عفونت های مجاری صفراوی اغلب با منشا اندوژن می باشند از این رو هدف از مطالعات اپیدمیولوژیک در این نوع از عفونت ها اثبات نقش باکتری ها و تنوع در توان بیماریزایی جمعیت های مختلف باکتریایی دخیل در بروز این علائم و پیرو آن شناسایی راهکارهای جدید درمانی جهت کنترل این بیماری ها است (3). مطالعات کمی در رابطه با نقش باکتری ها در ایجاد عفونت های مجاری صفراوی صورت گرفته است، نتایج حاصله از این مطالعات تا حدودی ارتباط باکتری های فلور دستگاه گوارش را در بروز این بیماری ها مورد توجه قرار می دهند (1و3).

سنگ های صفراوی عموماً از رسوب املاح صفراوی و پسماند های صفراوی حاصل می گردند که به دو دسته سنگ های صفراوی پیگمانته و کلسترولی طبقه بندی می گردند. سنگ های کلسترولی از بیش از 50 درصد کریستال های منو هیدراته ی کلسترولی به همراه ماتریکس گلیکوپروتئینی و هسته ی بیلی روبینات کلسیم تشکیل یافته اند. در مقابل سنگ های پیگمانته قهوه ای و سیاه به ترتیب از نمک های کلسیم ی بیلی روبین و کنجوگه، اسیدهای صفراوی و دکنجوگه و مقادیر متفاوتی از کلسترول و اسیدهای چرب اشباع بلند زنجیره، و بیلی روبینات کلسیم تشکیل یافته اند (4). حدود 80 درصد سنگ های کیسه صفرا به طور عمده از نوع کلسترولی و 20 درصد آنها مربوط به سنگ های رنگدانه ای (پیگمانته) هستند که بخصوص در آسیایی ها شایع بوده و اغلب با عفونت سیستم صفراوی همراه است (5و6). نقش باکتری ها، عفونت های باکتریایی و متابولیت های آنزیمی آنها در بیماری های صفراوی چندان روشن نمی باشد. عفونت های اولیه ی میکروبی کیسه صفرا بعنوان یکی از فاکتورهای خطر ابتلا به کوله سیستیت غیر سنگی در نظر گرفته

تعیین هویت میکروبی

نمونه ها به منظور بررسی میکروبی پس از دریافت در لوله های انتقال نمونه استریل، بلافاصله در محیط های بلاد آگار و مک کانگی آگار تحت شرایط هوازی و بروسلا آگار حاوی خون 5% تحت شرایط میکروانروفیل (آلمان, Merck) کشت و در دمای 37 درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. تعیین هویت جدایه ها با کمک آزمون های بیوشیمیایی استاندارد از قبیل حرکت، سترات، تخمیر قند گلوکز، اندول و لیزین دکربوکسیلاز و سایر آزمون های تخصصی انجام پذیرفت (9).

بررسی حساسیت آنتی بیوتیکی

آزمون حساسیت آنتی بیوتیکی جدایه ها، با استفاده از راهنمای استاندارد آزمایشگاه های بالینی (CLSI) و با کمک روش انتشار دیسک های جنتامایسین، آموکسی سیلین، ایمی پنم، سفالوسپورین ها، آزیترومایسین و سیپروفلوکساسین در محیط کشت مولر هینتون آگار انجام شد (10).

تشخیص مولکولی میکروب ها

به منظور شناسایی حضور باکتری های غیر قابل کشت، باکتری های بی هوازی و یا DNA های باقیمانده باکتریایی در این نمونه ها، ناحیه ژنی هدف 16S rRNA به کمک روش PCR توسط پرایمرهای ناحیه ژنی 16S-1492R و 16S-27F (11)، تحت شرایط دناتوراسیون اولیه در دمای 94 درجه سانتیگراد به مدت 5 دقیقه، طویل سازی طی 30 سیکل شامل 94 درجه سانتیگراد به مدت 30 ثانیه و 56 درجه سانتیگراد به مدت 30 ثانیه و مرحله طویل سازی

نهایی در 72 درجه سانتیگراد به مدت 10 دقیقه، مورد تکثیر قرار داده شدند. محصول های تکثیر یافته پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز 1%، مورد مطالعه قرار داده شدند.

آنالیز آماری

وجود هر گونه رابطه آماری میان متغیرهای مورد نظر در شکل دهی سنگ، نوع بیماری و حضور باکتری با استفاده از نرم افزار spss version 13 مورد بررسی قرار داده شد.

یافته ها**مشخصات بالینی بیماران**

نمونه های جمع آوری شده (102 نمونه)، شامل 52 نمونه (50,98%) متعلق به زنان و 50 نمونه (49,02%) متعلق به مردان، با میانگین سنی 59,51 سال بودند. از این میان 19 بیمار، (18,6%) تنها دارای سنگ CBD Common Bile Duct stone (سنگ های شایع مجاری صفراوی) از انواع کلسترولی (52,63%)، پیگمانته سیاه (26,31%) و پیگمانته قهوه ای (21,05%) بودند و 44 مورد (43,1%) دچار مشکل همزمان سنگ CBD و کیسه صفرا از انواع کلسترولی (59,09%) و پیگمانته سیاه (40,91%) بودند. 44,6% از بیماران دارای بیماریهای مرتبط با سنگ های صفراوی سابقه مصرف آنتی بیوتیک داشتند. فراوانی باکتریایی در سنگ های کلسترولی بالاتر از سایر سنگها مشاهده شد (نمودار 1). بیماران شامل سه گروه بیماریهای مربوط به سنگ صفراوی (74) بیماریهای مربوط به بدخیمی های پانکراسی -صفراوی (15) و سایر بیماریها (13) بودند (جداول 1، 2 و 3).

ترادف پرایمرهای عمومی به کار رفته در PCR

توالی بازها (از '5 به '3)	طول محصول (bp)
FD1: AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	1300~
RP2: GGTTACCTTGTTACGACTT	

جدول 1- توزع فراوانی نوع بیماری و سنگ های صفراوی در میان بیماران تحت مطالعه در بیمارستان طالقانی تهران سال 1389

BMI	سن (متوسط بر حسب سال)	تعداد زنان (درصد)	تعداد کل (درصد)	خصوصیات بالینی بیماران
23,67±2,93	57,16 ± 17,3	(73,7)14	(18,6)19	سنگ CBD به تنهایی
23,40±2,35	62,89±16,3	(52,3)23	(43,1)44	حضور همزمان سنگ CBD و کیسه صفا
±2,33 22,84	58,91±17,7	(36,4)4	(10,8)11	میکرولیتیاز
±1,85 21,75	62,83 ±9,2	(33,3)2	(5,9)6	کلانژیوکاریسینوم
±1,85 21,93	63,5 ±16,3	(16,7)1	(5,9)6	کانسر ابتدای پانکراس
24	75	0	(1)1	آدنوکاریسینوم دئودنوم
23,57±1,55	40±8,4	(50)1	(2)2	کاریسینوم آمپولر
24,33±0,98	56,5±18,1	(75)6	(7,8)8	SOD*
23,23±2,55	40,8±8,4	(20)1	(4,9)5	PSC**
23,28±2,36	59,5±16,6	(50,98)52	102	تمام بیماران

SOD* Sphincter of Oddi dysfunction

PSC** Primary sclerosing cholangitis

همانگونه که در جدول 2 آمده است از بین متغیرهای مورد بررسی سابقه مصرف آنتی بیوتیک در یک ماه گذشته در سه نوع بیماری از نظر آماری است (P=0.001) تفاوت معنی داری داشته است و در کسانی که بوده سنگ کیسه صفرا داشتند بیش از دو گروه دیگر

جدول 2: توزیع عوامل دموگرافیک بیماران مورد مطالعه در بیمارستان طالقانی تهران بر حسب نوع بیماری

ارزش P	سایر بیماریها	بیماریهای مربوط به بدخیمی های پانکراسی - صفراوی (15)	بیماریهای مربوط به سنگ صفراوی (74)	بیماریهای مربوط به
0,124	7(53,8)	4(26,7)	41(55,4)	تعداد زنان (درصد)
0,111	16.7±50.4	14,5 ± 60,8	16,7 ± 60,8	سن (متوسط بر حسب سن)
0,270	1,74 ± 23,90	1,92 ± 22,21	2,49 ± 23,38	BMI
0,001	30,7%	20%	44,6%	مصرف آنتی بیوتیک*

* سابقه مصرف آنتی بیوتیک در یک ماه قبل از نمونه گیری

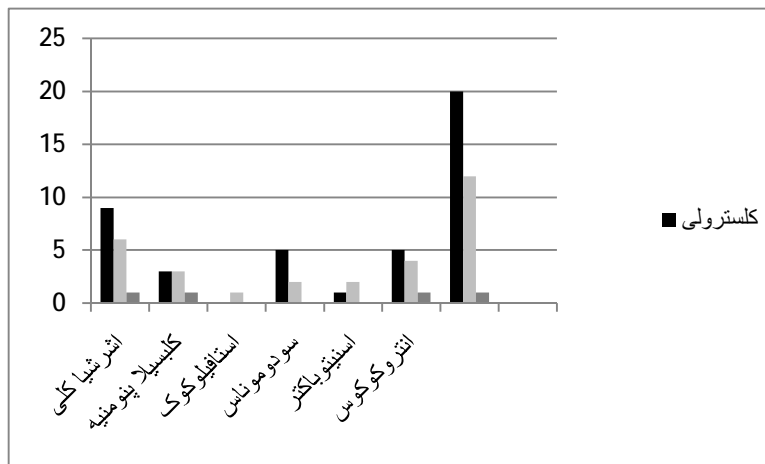
شده در این مطالعه به ترتیب فراوانی متعلق به باکتری های انتروکوکوس، کلبسیلا پنومونیه، سودوموناس ائروژینوزا و اسنتیوباکتر بودند (جدول 3). در میان ایزوله های جدا شده تنها 1,96% از جدایه ها، مربوط به باکتری های گرم مثبت و مابقی متعلق به باکتری های گرم منفی بودند.

در این مطالعه 59 جدایه باکتریایی از میان 42 نمونه کشت مثبت با استفاده از روش کشت جداسازی گردید. در سایر نمونه ها با این روش جدایه باکتریایی قابل تشخیصی دیده نشد. از میان این نمونه ها، 21 جدایه اشرشیا کلی بدست آمد که به عنوان غالب ترین باکتری در نظر گرفته شد. سایر جدایه های شایع شناسایی

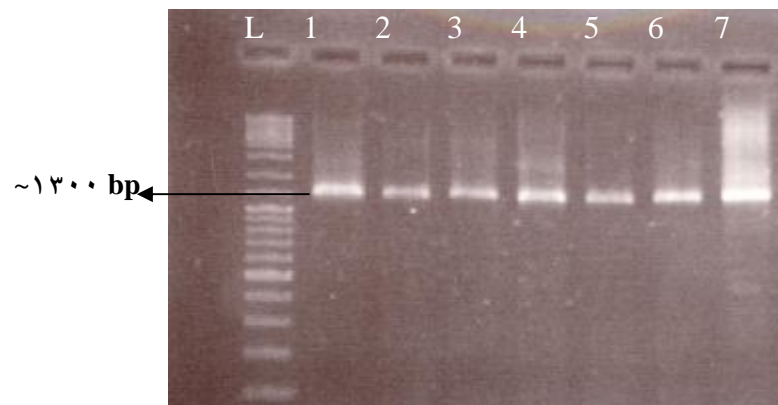
جدول 3- توزع فراوانی عوامل باکتریال بر حسب نوع بیماری در بین بیماران تحت مطالعه

ارزش P	تعداد کل (درصد) (%)n=102	سایر بیماریها (%) n=13	بدخیمی های دستگاه پانکراسی - صفاوی (%) n=15	بیماریهای مربوط به سنگ صفاوی (%) n=74	جدایه های باکتریایی *
0,97	(41,1)42	(47,38)5	(40)6	(8,41)31	مثبت بودن باکتری در کشت
0,75	(20,6)21	(1,23)3	(3,13)2	(6,21)16	<i>E. coli</i>
0,8	(11,8)12	(7,7)1	(7,6)1	(5,13)10	<i>Enterococcus spp.</i>
0,7	(9,8)10	(3,15)2	(7,6)1	(45,9)7	<i>Klebsiella pneumonia</i>
0,86	(9,8)10	(7,7)1	(3,13)2	(45,9)7	<i>Pseudomonas spp</i>
0,6	(3,9)4	(7,7)1	(0)0	(1,4)3	<i>Acinetobacter spp.</i>
0,8	(0,98)1	(0)0	(0)0	(35,1)1	<i>Streptococcus Group A</i>
0,8	(0,98)1	(0)0	0 (0)	(35,1)1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
0,87	(56,9) 58	(5,61)8	(40)6	(59,5)44	گونه های باکتریال مقاوم به صفا
0,93	(23,5)24	3(1,23)	(20)3	(3,24)18	باکتریهای تولید کننده اوره آز
0,94	(22,5)23	3(1,23)	(3,13)2	(3,24)18	حضور تعداد مساوی یا بیشتر از 10 ³ CFU از هر باکتری در هر بیماری
0,9	(35,3) 36	5 (38,46)	4 (26,6)	27 (36,48)	تعداد کمتر از 10 ³ CFU از هر باکتری در هر بیماری

* نتایج بر اساس تعداد و درصد فراوانی گونه های باکتریایی در هر بیماری ارائه شده است. در صورت حضور همزمان چند باکتری در هر نمونه از بیماری های قید شده علاوه بر تعداد حضور مجموع نمونه های کشت مثبت، تعداد و درصد مربوط به حضور هر گونه باکتریایی نیز به طور مجزا بیان شده است.



نمودار 1- بررسی فراوانی نوع سنگ صفراوی و نوع باکتری شناسایی شده در نمونه های صفرا از بیماران تحت مطالعه



L: مارکر وزن مولکولی مخلوط؛ 1: سویه *E. coli* ATCC 25922، ردیف های 2-7 مربوط به الگوهای بانندی ژنی استخراج شده از نمونه های مستقیم صفراوی حاوی ایزوله های بالینی.

تشخیص مولکولی میکروب ها

به منظور بررسی حضور احتمالی باکتری های غیر قابل کشت یا باکتری های سخت رشد، نمونه های تحت بررسی از نظر حضور توام چندین گونه باکتریایی از نظر مولکولی بر اساس ناحیه ژنی حفاظت شده 16S rRNA مورد مطالعه قرار داده شدند که از میان نمونه های کشت منفی 7 مورد حاوی DNA باکتریایی بودند که فراوانی آن در بیماران مبتلا به سنگ صفرا، بدخیمی پانکراس-صفرا و سایر بیماریهای صفراوی به ترتیب 2، 2 و 3 مورد بوده است. 100% نمونه های کشت مثبت نیز باند مولکولی مربوط به حضور باکتری را نشان دادند (شکل 1).

آنالیز آماری داده ها

مصرف آنتی بیوتیک در میان بیماران دارای سنگ های صفراوی و کشت منفی از نظر آماری معنادار بود ($P < 0.01$). سایر خصوصیات مرتبط با بیماری، BMI و نوع سنگ و یا حضور باکتری ارتباط معناداری را نشان ندادند؛ همچنین تفاوت آماری معنی داری میان جنسیت و حضور سنگ وجود نداشت. بین نوع سنگ و نوع باکتری های شناسایی شده بر اساس روش های بیوشیمیایی و PCR نیز ارتباطی دیده نشد

بحث

عوامل مختلفی در ایجاد سنگهای صفراوی نقش دارند. از عوامل دخیل در بروز سنگ های صفراوی می توان به عواملی مانند عوامل ژنتیکی، جنسیت، سن، حاملگی، چاقی و کاهش سریع وزن و مصرف برخی داروها و آنتی بیوتیک مانند سفتریاکسون اشاره نمود. همانگونه که در مطالعات مختلف نیز نشان داده شده است میزان بروز این سنگ ها در زنان بالاتر از مردان است که مطالعات ما نیز تاییدی بر این موضوع می باشد، همچنین با افزایش سن نیز میزان بروز سنگهای صفراوی افزایش می یابد، میانگین سنی افراد تحت بررسی در مطالعه حاضر 59,5 سال بود که به عنوان افراد مسن طبقه بندی گردیدند (12-15).

وجود باکتری در صفرا با روش PCR در 43,2% بیماران مبتلا به سنگ صفراوی، 53,3% بیماران مبتلا به بدخیمی های صفراوی-پانکراسی و 53,8% سایر بیماریهای خوش خیم دیده شد که درصد قابل ملاحظه ای می باشد. این میزان بالاتر از

میزان ردیابی باکتری ها با روش کشت است که می تواند به دلیل از بین رفتن باکتری در محیط کیسه صفرا باشد. جمعیت گونه های باکتریایی شناسایی شده (بدون توجه به نوع باکتری جداسازی شده و نوع سنگ یا بیماری) حمایت کننده نقشی در تولید یا بروز این نوع سنگ ها یا بیماری ها نمی باشد و تفاوت معنی داری در رابطه با آنها در بین دو گروه دیده نمی شود. 28% نمونه های مورد بررسی در مطالعه فاقد سنگ بودند، 46% از نمونه ها دارای سنگ از نوع کلسترولی و 26% از نوع پیگمانته بودند که همانند مطالعات گذشته میزان سنگ های کلسترولی درصد بالاتری را نسبت به سنگهای پیگمانته نشان می داد (16).

عفونت های باکتریایی صفرا می تواند یکی از علل ایجاد سنگ های صفراوی باشد. مطالعات محدود صورت گرفته در این زمینه توانسته اند دخالت عفونت های باکتریایی را در ارتباط با حضور سنگهای پیگمانته قهوه ای نشان دهند (15). در مطالعه حاضر در میان نمونه های صفراوی دارای آلودگی باکتریایی 72,5 درصد از بیماران دارای سنگ صفراوی بودند. لویز و همکاران ارتباط بین مصرف دارو و تشکیل سنگ مجاری صفراوی را بررسی و نشان دادند که مصرف برخی از آنتی بیوتیک ها مانند سفتری اکسون در ایجاد سنگ های صفراوی نقش بسزایی دارد (11). در مطالعه حاضر نیز ارتباط معناداری میان مصرف آنتی بیوتیک و حضور سنگ های صفراوی مشاهده شد. هرچند مکانیسم دقیق این اثر مشخص نمی باشد ولی به نظر می رسد مصرف آنتی بیوتیک باعث رسوب آن در کیسه صفرا شده که خود هسته ی اولیه سنگ را ایجاد می نماید. حضور همزمان چند باکتری (عفونت مخلوط) به عنوان یک راهبرد اساسی بیماریزایی در عفونت های باکتریایی در نظر گرفته می شود. فراهم سازی شرایط فیزیولوژیک مناسب و یا تامین نیازمندی های غذایی لازم توسط یک باکتری جهت رشد و بیماریزایی سایر باکتری ها از جمله مزایای این عفونت ها محسوب می شود. این عفونت ها از یک سو می توانند بافت مجاری صفراوی را جهت رسوب گذاری املاح صفراوی مستعد نمایند و از سوی دیگر ترکیب

قبل از مطالعه مصرف آنتی بیوتیک خوراکی داشته اند (شامل سفالوسپورین ها، آزیترومایسین، مترونیدازول و سیپروفلوکساسین) که این فرضیه را تقویت می کند. یافتن باکتریها در شیره صفرا، مخاط کیسه صفرا و سنگهای صفراوی می تواند دلیلی بر نقش آنها در پاتوژنز بیماریهای صفراوی باشد. در واقع شاید اجزای ساختاری باکتریهای لیز شده در صفرا، و یا فرآورده های تولیدی آنها در حین رشد، مانند آنزیم اوره آز، (تولید شده از باکتریهای اوره آز مثبت همچون هلیکوباکتر پیلوری که در این مطالعه مورد بررسی قرار نگرفته است) در شکل گیری سنگ ها در طی عفونت مزمن نقش داشته باشند. بیوفیلم های باکتریایی شکل یافته در صفرا می توانند شکل دهنده هسته مرکزی تشکیل سنگ های صفراوی باشند و با تغییر در ترکیب شیره صفراوی توسط فراورده های آنزیمی خود (مانند بتا گلوکورونیداز و فسفولیپاز)، القای بیان افزایش یافته موسین یا واکنش های التهابی در این موضع، شکل گیری سنگ های صفراوی و رخداد ضایعات پاتولوژیک و بیماری های مرتبط را تسریع نمایند. با توجه به نقش احتمالی باکتریها بعنوان عوامل موثر در ایجاد سنگ های کلیوی در صورتی که در مورد فاکتورهای دخیل در تشکیل سنگ توسط این باکتری ها و نوع سنگ ها بررسی های دقیق تری صورت بگیرد ممکن است داده های جدیدتری در این زمینه حاصل گردد.

References

- 1- Vaishnavi C, S Singh, R Kochhar, D Bhasin, G Singh, K Singh. *Prevalence of Salmonella enterica serovar typhi in bile and stool of patients with biliary diseases and those requiring biliary drainage for other purposes*. Jpn J Infect Dis. 2005; 58: 363-365
- 2-Manolis E, Filippou D K, Papadopoulos VP, Kaklamanos I, Katostaras T, Christianakis E. *The Culture Site of the Gallbladder Affects Recovery of Bacteria in Symptomatic Cholelithiasis*. J Gastrointest Liver Dis. 2008; 17(2): 179-182
- 3-Krejčí Z, Hanuš L, Podstatová H, & Reifová E. "A contribution to the problems of the pathogenesis and microbial etiology of cholelithiasis". Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae. 1983; 104: 279-286.
- 4-Weinstein WM, Mawkey CJ, Bosch J. *Diseases of the pancreas and biliary tract. Clinical Gastroenterology and Hepatology*. first ed. Elsevier. 2005; 459-74.

های متابولیک حدواسطی را تولید می کنند که به تشکیل سنگ های صفراوی کمک می نمایند. در مطالعه حاضر از 41,1% (42 نمونه) از نمونه های کشت مثبت، در 48,7% (19 نمونه) آنها عفونت به صورت چند باکتریایی تشخیص داده شد. در مطالعه ای مشابه که توسط پائوسکی و همکارانش انجام شده بود، از میان 58% نمونه های کشت مثبت، 70% موارد آلودگی توام چند باکتری را نشان دادند؛ این مطالعات وجود درصد بالایی از آلودگی همزمان را در این عفونت ها نشان می دهند (17).

در مطالعه Lee و همکاران وجود باکتری در 6 مورد از 12 مورد (50%) سنگهای پیگمانته ثابت شد (5) که تقریباً مشابه با یافته حاضر یعنی 13 مورد از 27 (48%) سنگ پیگمانته می باشد. شیوع باکتریها در مطالعه Lee به ترتیب نزولی شامل گونه های اشیریشیا کلی، سودوموناس، سیتروباکتر و کلبسیلا و در مطالعه حاضر به ترتیب نزولی شامل گونه های اشیریشیا کلی، اتروکوکوس، سودوموناس، کلبسیلا و اسینتوباکتر می باشد که در هر دو مطالعه گرم منفی ها بخصوص اشیریشیا کلی شایعترین باکتری موجود را شامل میشوند. با توجه به حضور بالای باکتری در نمونه های تحت بررسی در مطالعه حاضر و معنادار بودن ارتباط مصرف آنتی بیوتیک، به نظر می رسد مصرف این داروها از سویی باعث منفی شدن نتایج کشت صفرا شده باشد و بتواند بعنوان یک عامل مخدوش کننده در نظر گرفته شود. 48,9% از افراد مبتلا به سنگ کلسترولی در این تحقیق در عرض یکماه

- 5- Jin-Woo Lee, Don Haeng Lee, Jung Il Lee, Seok Jeong, Kye Sook Kwon, Hyung Gil Kim, et al. *Identification of Helicobacter pylori in Gallstone, Bile, and Other Hepatobiliary Tissues of Patients with Cholecystitis*. Gut and Liver. 2010; 4(1): 60-67.
- 6-Kaufman HS, Magnuson TH, Lillemoe KD, Frasca P, Pitt HA. *The role of bacteria in gallbladder and common duct stone formation*. 1989; 209(5):584-91.
- 7-Feldman M, Friedman L, Brandt L. Sleisenger and Fordtan's. *Gastrointestinal and Liver Disease*. 9th ed. Philadelphia: Saunders Press. 2010: 1090.
- 8-Massarrat S. *Prevalence of gallstone disease in Iran*. Journal of Gastroenterology and Hepatology. 2001; 16(5), 564-567.
- 9-Murray P.R, Baron E.J, Pefaller M and et al. *Mannal of clinical microbiology*. 7th ed. American society for microbiology .1999; 459-74.
- 10-CLSI. *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 17th Informational Supplement. 2007; CLSI Document M100- S16, 26 Wayne PA: CLSI.

11-Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J. *16s ribosomal DNA amplification for phylogenetic study*. Journal of Bacteriology. 1991; 173(2), 697-703.

12-Cynthia WK, Sum P L. *Epidemiology and natural history of common bile duct stones and prediction of disease*. GASTROINTESTINAL ENDOSCOPY. 2002; 56(6):S165-9.

13-Everhart JE, Khare M, Hill M, Maurer KR. *Prevalence and ethnic differences in gallbladder disease in the United States*. Gastroenterology 1999; 117(3):632-639.

14-Lopez AJ, O'Keefe P, Morrissey M, Pickleman J. *Ceftriaxone induced cholelithiasis*. Ann Intern Med 1991;115:712-714.

15-Maringhini A, Ciambra M, Baccelliere P, Raimondo M, Orlando A, Tine F, et al. *Biliary sludge and gallstones in pregnancy: incidence, risk factors, and natural history*. Ann Intern Med 1993;119(2):116-20.

16-Stewart L, Oesterle AL, Erdan I, Griffiss JM, Way LW. *Pathogenesis of pigment gallstones in Western societies: the central role of bacteria*. J Gastrointest Surg. 2002;6(6):891-903.

17- Povoski SP, Karpeh MS Jr, Conlon KC, Blumgart LH, Brennan MF. *Preoperative biliary drainage: impact on intraoperative bile cultures and infectious morbidity and mortality after pancreaticoduodenectomy*. J Gastrointest Surg. 1999; 3(5):496-505.