بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی استان اردبیل

دانشکده بهداشت

پایان نامه جهت دریافت مدرک کارشناسی ارشد مهندسی بهداشت محیط

عنوان:

بررسی فراوانی انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل

نگارنده:

کمال حسنی

اساتید راهنما :

دکتر هادی صادقی

دکتر محسن ارزنلو

استاد مشاور :

دکتر مهدی وثوقی

پاییز ۱۳۹۹

شماره پایان نامه: ۲۰

تقدیم

شکر شایان نثار ایزد منان که توفیق را رفیق راهم ساخت تا این پایان نامه را با موفقیت به پایان برسانم. ماحصل آموخته هایم را تقدیم می کنم به:

پدر و مادر ارجمندم

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نسبیم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، چرا که این دو وجود، پس از پروردگار، مایه هستی‌ام بوده اند دستم را گرفتند و راه رفتن را در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب آموختند. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

برادران و خواهران عزیزم:

که همواره در طول تحصیل متحمل زحماتم بودند و تکیه‌گاه من در مواجهه با مشکلات، و وجودشان مایه دلگرمی و آرامش من می‌باشد.

تقدیر و تشکر

سپاس و تشکر از نوع آفرینان و تلاشگران عرصه آموزش، آنهایی که آموختند می توان عشق را ترسیم و اعجاز را خلق کرد و نیز بعثت خود را به نظاره نشست. آنگاه با شانه های خود پلی می سازند و دیگران را از آن بـه سلامت عبـور می دهند و خود شادمانه فـرو می ریزند. بدین وسیله از زحمات و تلاش جناب آقای دکتر ارزنلو، جناب آقای دکتر صادقی و جناب آقای دکتر وثوقی به دلیل راهنمایی‌ها و حمایت‌های بی‌دریغ شان سپاسگزاری می‌کنم و موفقیت آنان را از درگاه باری تعالی خواهانم.

از دوست و همکار عزیزم جناب آقای سرداری و مسئولان آزمایشگاه جناب آقای ایمانی ، جناب آقای آزغانی و جناب آقای نوروزی صمیمانه تقدیر و تشکر می‌کنم.

با تشکر فراوان و آرزوی موفقیت برای همکلاسی‌های عزیز جناب آقای مهدویان، خانم مرادی، خانم علیزاده و خانم جوانمردی

بررسی فراوانی انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل

چکیده

زمینه و هدف: خانواده انتروباکتریاسه به عنوان میکروفلور دستگاه گوارش انسان بخش بزرگی از باکتری‌های موجود در فاضلاب را تشکیل می‌دهند و با تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در برابر آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام مقاومت نشان می‌دهند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی انتروباکتریاسه‌های تولیدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع‌الطیف در تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل بود.

روش کار: پس از نمونه برداری از تصفیه خانه فاضلاب اردبیل، ایزوله‌ها با تست‌های بیوشیمیایی استاندارد تعیین هویت شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها با استفاده از روش دیسک دیفیوژن تعیین شد. ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC با استفاده از دیسک‌های ترکیبی غربالگری شدند. شناسایی ژن‌های رایج بتالاکتامازهای ESBL و AmpC با تکنیک PCR بررسی شد و ارتباط مولکولی ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC با استفاده از روش ERIC-PCR تعیین شد.

یافته‌ها : از میان ۱۴۶ ایزوله انتروباکتریاسه شناسایی شده، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیا کلی به ترتیب با تعداد ۳۷ ایزوله (% ۲۵) و ۳۴ ایزوله (% ۲۳) بیشترین فراوانی را داشتند. از میان کل ایزوله‌ها ۸ (۸/۱۴۶) ایزوله (% ۵/۴۸) مولد ESBL و ۱۸(۱۸/۱۴۶) ایزوله (% ۱۲/۳۳) مولد بتالاکتامازهای از نوع AmpC بودند. ۵ ایزوله (۳/۴۲ %) بطور مشترک مولد هر دو آنزیم ESBL و AmpC بودند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌ها به آمپی‌سیلین ۸۲/۲ % ، سفالکسین ۴۱/۱ % و نالیدیکسیک اسید ۴۳/۸ % بود و بیشترین حساسیت به آمیکاسین ۱۰۰ % ، جنتامایسین ۹۶/۵ % و سفپیم ۹۷/۳ % بود. میزان مقاومت چند دارویی در میان ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC به ترتیب برابر ۷۵ % و ۵۵/۵ % بود. بر اساس نتایج ERIC-PCR ، ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC با تشابه ۸۰ % در ۲۵ کلاستر طبقه‌بندی شدند.

نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که بخش قابل توجهی از ایزوله‌های انتروباکتریاسه در تصفیه‌خانه فاضلاب مولد آنزیم‌های بتالاکتاماز نوع ESBL و AmpC بودند. حمل ژن‌های کدکننده بتالاکتامازهای نوع ESBL و AmpC در پساب خروجی از تصفیه‌خانه فاضلاب سلامت عمومی و روش‌های موثر درمانی را تهدید می‌کند.

واژگان کلیدی: انتروباکتریاسه، بتالاکتاماز، ESBL ، تصفیه‌خانه فاضلاب، PCR

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات و پیشینه تحقیق ۱

۱-۱. مقدمه ۲

۱-۲. بیان مسئله ۳

۱-۳. فاضلاب شهری ۵

۱-۴. انتروباکتریاسه ۶

۱-۴-۱. مورفولوژی مشترک خانواده انتروباکتریاسه ۷

۱-۴-۲. انواع انتروباکتریاسه‌ها و بیماری‌های ناشی از آنها ۸

۱-۴-۲-۱. اشریشیاکلی ۸

۱-۴-۲-۱-۱. بیماری‌های ایجاد شده توسط اشریشیاکلی ۸

۱-۴-۲-۱-۱-۱. سپتی سمی ۸

۱-۴-۲-۱-۱-۲. عفونت دستگاه ادراری ۸

۱-۴-۲-۱-۱-۳. مننژیت نوزادان ۸

۱-۴-۲-۱-۱-۴. گاستروانتریت ۹

۱-۴-۲-۲. کلبسیلا ۹

۱-۴-۲-۳.سالمونلا ۹

۱-۴-۲-۴. شیگلا ۱۰

۱-۴-۲-۵. یرسینیا ۱۱

۱-۴-۲-۶. پروتئوس ۱۲

۱-۴-۲-۷. انتروباکتر، سیتروباکتر، مورگانلا و سراشیا ۱۲

۱-۴-۳. درمان، پیشگیری و کنترل عفونت ناشی از انتروباکتریاسه‌ها ۱۲

۱-۵. آنتی‌بیوتیک ۱۳

۱-۵-۱. تاریخچه آنتی‌بیوتیک ۱۴

۱-۵-۲. انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و مکانیسم اثر آنها ۱۵

۱-۵-۲-۱.آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام ۱۵

۱-۵-۳. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۱۶

۱-۵-۴. مقاومت چند دارویی ۱۸

۱-۶. آنزیم‌های بتالاکتاماز ۱۸

۱-۶-۱. بتالاکتامازهای وسیع الطیف ۱۹

۱-۶-۱-۱. انواع بتالاکتامازهای وسیع الطیف ۲۰

۱-۶-۱-۱-۱. تیپ CTX- M ۲۰

۱-۶-۱-۱-۲. تیپ TEM ۲۱
۱-۶-۱-۱-۳. تیپ SHV ۲۱
۱-۶-۱-۱-۴. تیپ OXA ۲۱
۱-۶-۲. بتالاکتامازهایAmpC ۲۱
۱-۷. بررسی متون ۲۳
۱-۷-۱. مطالعات در جهان ۲۳
۱-۷-۲. مطالعات در ایران ۲۶
۱-۸. اهداف و فرضیات ۲۷
۱-۸-۱. هدف کلی ۲۷
۱-۸-۲. اهداف اختصاصی ۲۷
۱-۸-۳. اهداف کاربردی ۲۸
۱-۹. فرضیات یا سؤالات تحقیق ۲۸

فصل دوم: مواد و روش ها ۲۹
۲-۱. مقدمه ۳۰
۲-۲. طرح کلی تحقیق ۳۰
۲-۲-۱. بررسی منابع علمی و تدوین متغییرها ۳۰
۲-۲-۲. جامعه آماری، روش نمونه گیری و حجم نمونه ۳۰
۲-۲-۳. نمونه برداری ۳۱
۲-۲-۴. روش گردآوری اطلاعات ۳۱
۲-۲-۵. نوع مطالعه ۳۱
۲-۲-۶. مواد، وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده ۳۲
۲-۲-۶-۱. محیط کشت‌های مورد استفاده ۳۲
۲-۲-۶-۲. مواد مورد استفاده ۳۲
۲-۲-۶-۳. وسایل مورد استفاده ۳۳
۲-۲-۶-۴. دستگاه‌های مورد استفاده ۳۴
۲-۲-۷. محلول‌ها و ترکیبات مورد استفاده ۳۵
۲-۲-۷-۱. سرم فیزیولوژی ۳۵
۲-۲-۷-۲. محلول استاندارد نیم مک فارلند ۳۵
۲-۲-۷-۳. محلول کاری پرایمرها ۳۵
۲-۲-۷-۴. دیسک ترکیبی برونیک اسید ۳۶
۲-۲-۷-۵. محلول تریس بیس ۱۰۰ میلی‌مولار ۳۶
۲-۳. جدول متغیرهای مطالعه ۳۷

۲-۴. نمونه‌گیری و شناسایی ایزوله‌ها ۳۸
۲-۵. تست‌های بیوشیمیایی ۳۸
۲-۵-۱. تست تشخیص افتراقی انتروباکتریاسه ها ۳۸
۲-۵-۱-۱. محیط کشت TSI ۳۸
۲-۵-۱-۲. محیط SIM ۳۹
۲-۵-۱-۳. محیط سیمون سیترات آگار ۴۰
۲-۵-۱-۴. محیط اوره آز آگار ۴۰
۲-۵-۱-۵. محیط کشت لایزین آیرون آگار ۴۰
۲-۵-۱-۶. محیط MR-VP ۴۱
۲-۵-۱-۷. محیط کشت فنیل آلانین آگار ۴۱
۲-۵-۲. تست ONPG (بتا دی گالاکتوزیداز) ۴۴
۲-۵-۳. آزمایشDNase ۴۴
۲-۶. ذخیره سازی ایزوله‌های شناسایی شده انتروباکتریاسه ۴۴
۲-۷. تایید ایزوله‌های انتروباکتریاسه با روش PCR ژن 16SrRNA ۴۴
۲-۸. تعیین الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک آگار دیفیوژن ۴۵
۲-۹. غربالگری ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC ۴۶
۲-۹-۱. تایید ایزوله‌های مضنون به تولید ESBL با دیسک‌های ترکیبی دوگانه ۴۶
۲-۹-۲. تایید ایزوله‌های مضنون به تولید بتالاکتاماز AmpC ۴۷
۲-۹-۳. تایید فنوتیپی حالت مشترک ESBL مثبت و AmpC مثبت ۴۸
۲-۱۰. بررسی مقاومت چند دارویی ۴۹
۲-۱۱. تست‌های ژنوتیپی ۴۹
۲-۱۱-۱. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۴۹
۲-۱۱-۲. استخراج DNA الگو: ۵۰
۲-۱۱-۳. اندازه‌گیری غلظت DNA با دستگاه نانودراپ ۵۰
۲-۱۱-۴.آماده سازی پرایمر ۵۱
۲-۱۱-۵. مواد و ترکیبات مورد نیاز برای PCR ژنهای ESBL و 16SrRNA ۵۱
۲-۱۱-۶. مواد و ترکیبات مورد نیاز برای PCR ژنهای AmpC ۵۱
۲-۱۱-۷. پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن‌های مورد مطالعه ۵۲
۲-۱۱-۸. دستگاه ترمال سایکلر برای PCR انواع ژن‌های بتالاکتاماز ۵۴
۲-۱۱-۹. الکتروفورز محصولات PCR ۵۶
۲-۱۲. بررسی ارتباط مولکولی ایزوله‌ها (ERIC-PCR) ۵۷
۲-۱۲-۱. مواد و ترکیبات مورد نیاز برای ERIC-PCR ۵۷

فصل سوم: نتایج.... ..... ۵۸
۳-۱. توزیع فراوانی ایزوله‌های انتروباکتریاسه در تصفیه‌خانه فاضلاب ۵۹
۳-۲. توزیع باکتری‌های مولد آنزیم‌های ESBL ، AmpC ، ESBL/AmpC و Non ESBL/AmpC در میان بخش‌های مختلف تصفیه‌خانه فاضلاب ۶۰
۳-۳. نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی..... ۶۳
۳-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت چند دارویی ۷۶
۳-۵. نتایج PCR ژن 16SrRNA ۸۵
۳-۶. نتایج PCR ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز نوع ESBLs..... ۸۵
۳-۷. نتیجه‌ی PCR زیر گروه‌های ژن کدکننده آنزیم نوع CTX-M ۸۷
۳-۸. نتایج PCR ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز نوع AmpC ۸۹
۳-۹. توزیع فراوانی آنزیم‌های ESBL و AmpC در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسه..... ۹۰
۳-۱۰. توزیع فراوانی آنزیم‌های ESBLs به تفکیک نوع باکتری ۹۱
۳-۱۱. توزیع فراوانی زیرگروه‌های آنزیم CTX-M..... ۹۱
۳-۱۲. توزیع فراوانی آنزیم‌های بتالاکتاماز AmpC به تفکیک نوع باکتری..... ۹۲
۳-۱۳. توزیع فراوانی آنزیم‌های ESBL/AmpC در انتروباکتریاسه‌های مقاوم به بتالاکتام‌های نسل سوم..... ۹۳
۳-۱۴. پروفایل ترکیبی انواع آنزیم‌های بتالاکتاماز ۹۳
۳-۱۵. نتایج ارتباط مولکولی ایزوله‌ها (ERIC-PCR) ۹۵

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۹۷
۴-۱. بحث ۹۸
۴-۲. نتیجه گیری ۱۰۲
۴-۳. پیشنهادات ۱۰۲
منابع: ۱۰۳
پیوست‌ها ۱۱۰
چکیده انگلیسی ۱۱۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱- انتروباکتریاسه‌های مهم از نظر پزشکی و بیماری زایی ۷
جدول۱-۲- جایگاه هدف آنتی‌بیوتیک‌ها در سلول هدف باکتری ۱۵
جدول ۲-۱- متغییرهای مورد استفاده در این مطالعه ۳۷
جدول ۲-۲- مواد و ترکیبات مورد نیاز جهت PCR ژن‌های ESBL و 16SrRNA..... ۵۱
جدول ۲-۳- مواد و ترکیبات مورد نیاز جهت PCR ژن‌هایAmpC ۵۲
جدول۲-۴- توالی پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه ۵۳
جدول۲-۵- برنامه دستگاه ترمال سایکلر..... ۵۵
جدول۲-۶- مواد و ترکیبات مورد نیاز جهت انجام ERIC-PCR ۵۷
جدول۳-۱- توزیع فراوانی ایزوله‌های مولد ESBL-PE، AmpC-PE و ESBL/AmpC-PE در بخش‌های مختلف تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۱
جدول۳-۲- نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۴
جدول۳-۳- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۶
جدول۳-۴- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های یرسینیا انتروکولیتیکا جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۷
جدول۳-۵- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سیتروباکتر فروندی جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۸
جدول۳-۶- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های اشریشیا هرمانیجدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷.....۶۹
جدول۳-۷- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سراشیا مارسسنس و انتروباکتر آسبوریا جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۷۱
جدول ۳-۸- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های هافنیا آلوی جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۷۲
جدول۳-۹- الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتر دیسول ونس، سیتروباکتر دیورسوس، انتروباکترگرگوویا، انتروباکترکلواکه ، کلبسیلا اوکسی‌توکا، پرویدنسیا ستوآرتی، پرویدنسیا رتگری و پروتئوس میرابیلیس جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۷۵
جدول ۳-۱۰- پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) ایزوله‌های اشریشیاکلی جدا شده از تصفیه خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۷۷

جدول ۳-۱۱- پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی(I+R) ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۷۸
جدول۳-۱۲- پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) ایزوله‌های یرسینیا انتروکولیتیکا، سیتروباکتر فروندی و اشریشیا هرمانی جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۸۰
جدول ۳-۱۳- پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی(I+R) ایزوله‌های سراشیا مارسسنس، انتروباکتر آسبوریا، هافنیا آلوی، سیتروباکتر دیورسوس و انتروباکتر دیسول ونس جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۸۲
جدول۳-۱۴- پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی(I+R) ایزوله‌های انتروباکتر گرگوویا، انتروباکتر کلواکه، کلبسیلا اوکسی‌توکا، پرووویدنسیا ستوآرتی، پرووویدنسیا رتگری و پروتئوس میرابیلیس جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۸۴
جدول ۳-۱۵- پروفایل انواع آنزیم‌های ESBL در باکتری‌های انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۱
جدول ۳-۱۶- توزیع فراوانی زیرگروه‌های آنزیم نوع CTX-M در انتروباکتریاسه‌های جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۲
جدول۳-۱۷- پروفایل انواع آنزیم‌های بتالاکتاماز AmpC در ایزوله‌های انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۲
جدول۳-۱۸ پروفایل آنزیم‌های ESBL/AmpC در ایزوله‌های انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۳
جدول ۳-۱۹- پروفایل ترکیبی آنزیم‌های ESBL تولید شده توسط انتروباکتریاسه‌های جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۳
جدول ۳-۲۰- پروفایل ترکیبی آنزیم‌های بتالاکتاماز AmpC تولید شده توسط انتروباکتریاسه‌های جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۴
جدول۳-۲۱-پروفایل ترکیبی آنزیم‌های بتالاکتاماز ESBL/AmpC تولید شده توسط انتروباکتریاسه‌های جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۴

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- چرخه مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌ها در انسان ۱۷
شکل۲-۱- رشد ایزوله‌های اشریشیاکلی بر روی محیط‌های تشخیص افتراقی ۴۲
شکل ۲-۲- رشد ایزوله‌های پروتئوس میرابیلیس بر روی محیط‌های تشخیص افتراقی ۴۳
شکل۲-۳- شماتیک الگوی حساسیت آنتی بیوتیکی به روش دیسک آگار دیفیوژن در آزمایش آنتی بیوگرام ۴۶
شکل ۲-۴- دیسک‌های ترکیبی دوگانه تایید ایزوله‌های ESBL مثبت حاصل از افزایش قطر هاله . ۴۷
شکل ۲-۵- دیسک ترکیبی تایید ایزوله‌های AmpC مثبت حاصل از افزایش قطر هاله ۴۸
شکل ۲-۶- دیسک ترکیبی تایید ایزوله‌های $ESBL^+$ و $AmpC^+$ ۴۹
شکل۲-۷- تصویر دستگاه ترمال سایکلر جهت تکنیک PCR ۵۴
شکل۲-۸- تصویر دستگاه ژل داکت و تانک الکتروفورز ۵۶
شکل ۳-۱- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن 16SrRNA ۸۵
شکل ۳-۲- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن کدکننده آنزیم ESBL نوع CTX-M(bla_{CTX-M}) (لاین اول: مارکر ۱۰۰bp، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش) ۸۶
شکل ۳-۳- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن کدکننده آنزیم ESBL نوع TEM(bla_{TEM}) (لاین اول: مارکر ۱۰۰bp، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش) ۸۶
شکل ۳-۴- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن کدکننده آنزیم ESBL نوعSHV (bla_{SHV}) (لاین اول: مارکر ۱۰۰bp، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش) ۸۷
شکل ۳-۵- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن کدکننده آنزیم نوع CTX-M-1 (لاین اول: مارکر ۱۰۰bp، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش)..... ۸۸
شکل ۳-۶- تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR ژن کدکننده آنزیم نوع CTX-M-1-15 (لاین اول: مارکر ۱۰۰b، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش)..... ۸۸
شکل ۳-۷- تصویر ژل الکتروفورز محصول Multiplex PCR ژن‌های کدکننده آنزیم‌های نوع AmpC (bla_{MOX}، bla_{CIT} ، bla_{DHA} ، bla_{ACC} ، bla_{EBC} و bla_{FOX}) (لاین اول: مارکر ۵۰bp، لاین دوم: ایزوله استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس (ATCC =25212) به عنوان کنترل منفی و لاین‌های ۸-۱ : ایزوله های مورد آزمایش) ۸۹

شکل۳-۸- تصویر ژل الکتروفورز محصولات ERIC-PCR در ایزوله‌های انتروباکتریاسه مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC (لاین M: مارکر ۵۰bp، لاین‌های ۱۳-۱ : ایزوله‌های مورد آزمایش)..... ۹۵
شکل ۳-۹- دندروگرام تشابه ژنومی ایزوله‌های انتروباکتریاسه مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC.....۹۶

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار۳-۱- فراوانی باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۵۹
نمودار۳-۲- نتایج تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک آگار دیفیوژن برای ایزوله‌های خانواده انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل ۶۳
نمودار۳-۳- توزیع فراوانی انواع آنزیم‌های ESBL و AmpC در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسه جدا شده از تصفیه‌خانه فاضلاب شهر اردبیل در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ ..... ۹۰

فهرست علایم اختصاری

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute
DNA: Deoxyribonucleic acid
rRNA: ribosome Ribonucleic acid
PCR: Polymerase Chain Reaction
ESBL: Extended spectrum beta-lactamase
ESBL-PE: ESBL producing Enterobacteriaceae
AmpC: Ambler plasmid class C
AmpC-PE: AmpC producing Enterobacteriaceae
CFU: Colony Forming Unit
E coli: *Escherichia coli*
MDR: Multi Drug Resistant
bla: beta-lactamase
ATCC: American Type Culture Collection
ST: Sequence Typing
ml: Milliliter
µl: Microliter
ERIC-PCR: Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus-PCR