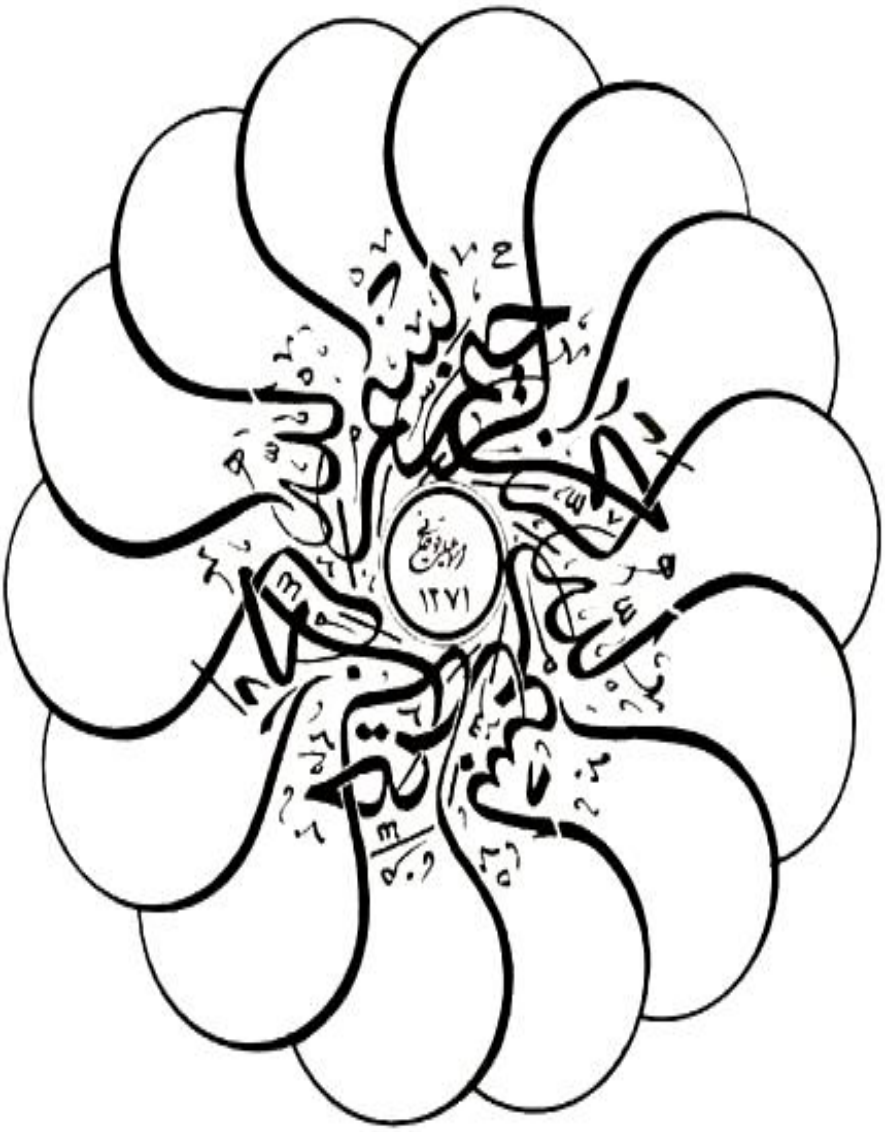

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان‌نامه جهت اخذ کارشناسی ارشد رشته باکتری‌شناسی پزشکی

عنوان: مطالعه فراوانی انتروباکتریاسیه‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف در فاضلاب‌های بیمارستان‌ها، کشتارگاه‌های دام و طیور استان اردبیل، سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷

نگارش:

مهران سرداری

استاد راهنما:

پروفسور محسن ارزنلو

استاد مشاور:

پروفسور هادی پیری دوگاهه

زمستان ۱۳۹۹

شماره پایان‌نامه: ۰۶۰

تقدیم

به مقدس‌ترین واژه‌ها در لغت‌نامه دلم،

مادر مهربانم که زندگیم را مدیون مهر و

عطوفت او می‌دانم.

پدر،مهربانی مشفق، بردبار و حامی.

برادر و خواهرم همراهان همیشگی و

پشتوانه‌های زندگیم

تقدیر

مَنْ لَمْ یَشْکُر الْمُنْعِمَ مِنَ الْمَخْلُوقِینَ لَمْ یَشْکُر اللَّهَ عَزَّ وَ جَلَّ
پس از حمد و سپاس باری تعالی که هر توفیقی بـه لطـف اوسـت، بر خود لازم می‌دانم از زحمات اساتید گرامی و عزیزانی که مـرا در انجام مراحل مختلف ایـن رسـاله یـاری کرده‌انـد تشـکر و قـدردانی نمایم:
جناب آقای دکتر محسن ارزنلو استاد راهنمای محتـرم، کـه در تمـام مراحـل انجـام ایـن رسـاله و در طـول تحصـیل از حسـن اخـلاق، راهنمایی‌ها و یاری بی دریغشان بهره مند بوده‌ام.
جناب آقای دکتر هادی پیـری اسـتاد مشـاور گرامـی، کـه بـا دقـت و همکاری بسیار مشاوره این رساله را بر عهده داشتند.
دوسـت عزیـزم جنـاب آقـای حامـد ایمـانی، میـثم منـوچهری، کمـال حسنی و جناب آقـای پیمـان آذغـانی کارشـناس محتـرم آزمایشـگاه میکروب‌شناسی، که در انجام مراحل مختلف ایـن رسـاله مـرا یـاری نمودند.
در پایان از پروردگار متعال برای تمام سـروران و دوسـتانی کـه بـه هـر نحـو در انجـام ایـن رسـاله مـرا یـاری دادنـد، طلـب بهـروزی، شادکامی و موفقیت را دارم.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه

۱-۱. مقدمه و بیان مسئله ۴
۱-۲. اهداف و فرضیات ۷
۱-۲-۱. هدف کلی ۷
۱-۲-۲. اهداف اختصاصی ۷
۱-۲-۳. اهداف کاربردی ۷
۱-۲-۴. فرضیات یا سؤالات تحقیق ۷
۱-۳. اطلاعات مربوط به متدولوژی طرح ۸
۱-۳-۱. نوع مطالعه ۸
۱-۳-۲. جامعه آماری و روش حجم نمونه ۸
۱-۳-۳. روش گردآوری اطلاعات ۸
۱-۴. روش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و بررسی آماری ۸
۱-۵. جدول متغیرها ۹

فصل دوم:بررسی متون

۲-۱. مبانی نظری ۱۱
۲-۱-۱. خصوصیات عمومی انتروباکتریاسیه‌ها ۱۱
۲-۱-۲. جایگاه انتروباکتریاسیه‌ها ۱۱
۲-۱-۳. خصوصیات کشت ۱۲
۲-۱-۴. خصوصیات رشد ۱۲
۲-۱-۵. پوشش سلولی ۱۲
۲-۱-۵-۱. آنتی‌ژن کپسول ۱۲
۲-۱-۵-۲. لیپوپلی ساکارید ۱۳
۲-۱-۵-۳. آنتی‌ژن فلاژلی (H) ۱۳
۲-۱-۵-۴. فیمبریه یا پیلی ۱۳
۲-۱-۶. فاکتورهای ویرولانس ۱۴

۱-۶-۱-۲. اندوتوکسین ۱۴
۲-۶-۱-۲. کپسول ۱۴
۳-۶-۱-۲. تغییر فاز آنتی‌ژن‌ها ۱۴
۴-۶-۱-۲. سیستم ترشحی نوع III ۱۴
۵-۶-۱-۲. جذب فاکتورهای رشد ۱۵
۶-۶-۱-۲. مقاومت نسبت به خاصیت کشندگی سرم ۱۵
۷-۱-۲. انواع انتروباکتریاسیه‌ها و بیماری‌های ناشی از آن‌ها ۱۵
۱-۷-۱-۲. اشریشیا ۱۵
۱-۱-۷-۱-۲. بیماری‌زایی، ایمنی و اپیدرمیولوژی اشریشیاکلی ۱۶
۲-۱-۷-۱-۲. بیماری‌های ایجادشده توسط اشریشیاکلی ۱۷
۱-۲-۱-۷-۱-۲. گاستزوانتریت ۱۷
۲-۲-۱-۷-۱-۲. عفونت‌های خارج روده‌ای ۱۷
۳-۲-۱-۷-۱-۲. مننژیت نوزادان ۱۷
۴-۲-۱-۷-۱-۲. سپتی سمی ۱۷
۲-۷-۱-۲. شیگلا ۱۸
۱-۲-۷-۱-۲. بیماری‌زایی، ایمنی و اپیدرمیولوژی شیگلا ۱۸
۲-۲-۷-۱-۲. بیماری‌های بالینی شیگلا ۱۹
۳-۷-۱-۲. سالمونلا ۱۹
۱-۳-۷-۱-۲. بیماری‌زایی، ایمنی و اپیدرمیولوژی سالمونلا ۲۰
۲-۳-۷-۱-۲. بیماری‌های بالینی سالمونلا ۲۱
۴-۷-۱-۲. یرسینیا ۲۱
۱-۴-۷-۱-۲. بیماری‌زایی، ایمنی و اپیدرمیولوژی گونه‌های یرسینیا ۲۱
۲-۴-۶-۱-۲. بیماری‌های بالینی یرسینیا ۲۲
۵-۶-۱-۲. کلبسیلا ۲۲
۶-۶-۱-۲. پروتئوس ۲۳
۷-۶-۱-۲. مورگانلا ۲۳
۱-۷-۶-۱-۲. فاکتورهای ویرولانس مورگانلا ۲۳
۸-۶-۱-۲. پرووِیدنسیا ۲۳
۹-۶-۱-۲. سیتروباکتر ۲۴
۱۰-۶-۱-۲. انتروباکتر ۲۴
۱۱-۶-۱-۲. سراشیا ۲۴

۲-۱-۶-۱۲. ادواردسیلا ۲۵
۲-۱-۶-۱۳. هافنیا ۲۵
۲-۱-۷. درمان، پیشگیری و کنترل عفونت‌های ناشی از انتروباکتریاسیه‌ها ۲۵
۲-۱-۸. روش‌های تایپینگ انتروباکتریاسیه ۲۶
۲-۱-۹. مقاومت آنتی‌بیوتیکی ۲۷
۲-۱-۹-۱. مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام ۲۷
۲-۱-۹-۲. بتالاکتامازهای وسیع الطیف(ESBL) ۲۷
۲-۱-۹-۳. بتالاکتامازهای نوع AmpC ۲۸
۲-۱-۱۰. مقاومت چند دارویی ۲۸
۲-۲. مروری بر کارهای انجام‌شده ۲۹
۲-۲-۱. مطالعات جهان ۲۹
۲-۲-۲. مطالعات ایران ۳۱

فصل سوم:مواد و روش کار

۳-۱. مواد، وسایل و دستگاه‌های مورد استفاده ۳۴
۳-۱-۱. محیط کشت‌های مورد استفاده ۳۴
۳-۱-۲. مواد مورد استفاده: ۳۴
۳-۱-۳. دستگاه‌های مورد استفاده ۳۵
۳-۱-۴. وسایل مورد استفاده ۳۶
۳-۲. محلول‌های مورد استفاده ۳۷
۳-۲-۱. سرم فیزیولوژی ۳۷
۳-۲-۲.استاندارد ۰/۵ مک فارلند ۳۷
۳-۲-۳. محلول تریس بیس ۱۰۰ میلی مولار ۳۸
۳-۲-۴. محلول کاری پرایمرها ۳۸
۳-۲-۵. دیسک ترکیبی برونیک اسید ۳۸
۳-۳. نوع مطالعه ۳۸
۳-۴. جامعه موردمطالعه ۳۹
۳-۵. حجم نمونه و روش نمونه‌گیری ۳۹
۳-۶. روش جمع‌آوری اطلاعات ۳۹
۳-۷. شناسایی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه ۴۰

۳-۷-۱. بررسی مستقیم ۴۰
۳-۷-۲-۱.رنگ‌آمیزی گرم ۴۰
۳-۷-۳.تست‌های بیوشیمیایی ۴۱
۳-۷-۳-۱.آزمایشTSI ۴۱
۳-۷-۳-۲. آزمایش اندول ۴۱
۳-۷-۳-۳. آزمایش متیل رد ۴۱
۳-۷-۳-۴. آزمایش وگس پروسکائر ۴۲
۳-۷-۳-۵.آزمایش سیمون سیترات ۴۳
۳-۷-۳-۶. آزمایش اوره آز ۴۳
۳-۷-۳-۷. آزمایش لیزین دکربوکسیلاز ۴۳
۳-۷-۳-۸. آزمایش فنیل آلانین دآمیلاز ۴۳
۳-۷-۳-۹. آزمایش (ONPG) بتا دی گالاکتوزیداز ۴۴
۳-۸. شناسایی مولکولی ایزوله‌ها ۴۴
۳-۹. ذخیره‌سازی ایزوله‌های تائید شده انتروباکتریاسیه ۴۵
۳-۱۰. تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن آگار ۴۵
۳-۱۱. غربالگری ایزوله‌های مولد ESBL وAmpC ۴۷
۳-۱۱-۱. تائید ایزوله‌های مظنون به تولید ESBL با دیسک‌های ترکیبی ۴۷
۳-۱۱-۲. تائید ایزوله‌های مظنون به تولید بتالاکتاماز AmpC ۴۸
۳-۱۱-۳. تائید فنوتیپی تولید هم‌زمان ESBL و AmpC ۴۸
۳-۱۲. تستهای ژنوتیپی ۵۰
۳-۱۳. آزمایش PCR ۵۰
۳-۱۳-۱. تهیه DNA الگو ۵۰
۳-۱۳-۲. اندازه‌گیری غلظت DNA با دستگاه نانودراپ ۵۱
۳-۱۳-۳. ارزیابی ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز ۵۱
۳-۱۳-۴. پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر آنزیم‌های موردمطالعه ۵۱
۳-۱۳-۵. ارزیابی ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز ۵۲
۳-۱۳-۶. تایپینگ مولکولی ایزوله‌ها به روش ERIC-PCR ۵۴
۳-۱۴. الکتروفورز محصول PCR ۵۵

فصل چهارم:نتایج

۴-۱. توزیع باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه در فاضلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۷-۹۸ ..... ۵۸
۴-۲. نتایج PCR آنزیم ۱۶srRNA ۵۹
۴-۳. توزیع باکتری‌های مولد آنزیم‌های AmpC، ESBL وAmpC/ESBL در فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل، ۹۷-۹۸ ..... ۶۰
۴-۴. توزیع باکتری‌های مولد آنزیم‌های AmpC،ESBL وAmpC/ESBL در فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۷-۹۸ ..... ۶۱
۴-۵. نتایج تست مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های خانواده انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل،۹۷-۹۸ ..... ۶۳
۴-۶. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی و مقاومت چند دارویی ۶۸
۴-۷. نتایج توزیع آنزیم‌های ESBL در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسیه ۷۶
۴-۸. نتایج PCR ژن‌های کدکننده آنزیم‌های بتالاکتاماز نوع ESBLها ۷۷
۴-۹. نتایج فراوانی گروه‌ها و زیرگروه‌های آنزیم CTX-M به تفکیک نوع باکتری ۸۰
۴-۱۰.توزیع آنزیم‌های AmpCدرمیان ایزوله‌های انتروباکتریاسیه بتفکیک نوع باکتری ۸۵
۴-۱۱. پروفایل ترکیبی انواع آنزیم‌های بتالاکتاماز ۸۶
۴-۱۲. تایپینگ مولکولی ایزوله‌ها با استفاده از روش ERIC- PCR ۸۹

فصل پنجم:بحث و نتیجه‌گیری

۵-۱. بحث ۹۴
۵-۲. نتیجه‌گیری ۱۰۱
۵-۳. پیشنهادات ۱۰۲

منابع ۱۰۳

ضمایم ۱۱۲

فهرست اشکال و نمودارها

عنوان **صفحه**

شکل۱-۳. نمونه تصویر محیط‌های تشخیص افتراقی برای ایزوله‌ی اشریشیا کلی ۴۴
شکل۲-۳. تصویر نمونه‌ای از تعیین الگوی حساسیت آنتی‌بیوتیکی به روش دیسک دیفیوژن..۴۶
شکل ۳-۳. نمونه‌ای از تصویر شناسایی ایزوله‌های مولد ESBL با استفاده از دیسک‌های ترکیبی ۴۷
شکل۴-۳. نمونه‌ای از تصویر شناسایی ایزوله‌های مولد AmpC با استفاده ازدیسک ترکیبی .. ۴۸
شکل۵-۳. تصویر نمونه‌ای از تست دیسک ترکیبی تائید ایزوله‌های مولد هم‌زمان ESBL و AmpC ۴۹
شکل۱-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم 16srRNA ۵۹
نمودار۳-۴. مقایسه فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین ایزوله‌های فاضلاب کشتارگاه دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۶۷
شکل۲-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای زیرگروه آنزیم bla_{CTX-M}. ۷۸
شکل۳-۴.نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم bla_{TEM} ۷۸
شکل ۴-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم bla_{SHV}. ۷۹
شکل۵-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم bla_{SHV} ۷۹
نمودار۵-۴. توزیع آنزیم‌های ESBL در میان فاضلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل،۹۸-۹۷ ..... ۸۰
شکل۶-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم $bla_{CTX-M-1}$ ۸۲
شکل۷-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم blaCTX-M-1-15..... ۸۲
شکل۸-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم $bla_{CTX-M-2}$ ۸۳
شکل۹-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم $bla_{CTX-M-9}$ ۸۴
شکل۱۰-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم $bla_{CTX-M-1-3}$ ۸۴
شکل۱۱-۴. نمونه تصویر ژل الکتروفورز محصولات PCR برای آنزیم $bla_{CTX-M-9-14}$..... ۸۵
شکل۱۲-۴. تصویر ژل الکتروفورز محصول Multiplex PCR آنزیم‌های کدکننده آنزیم‌های نوع AmpC ۸۶
شکل۱۳-۴. تصویر ژل الکتروفورز محصولات ERIC-PCR در ایزوله‌های انتروباکتریاسیه مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC. ۹۰

شکل۱۴-۴. دندروگرام تشابه ژنی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC در فاضلاب بیمارستان‌ها ۹۱
شکل۱۵-۴. دندروگرام تشابه ژنی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC در فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور ۹۲

نمودار۱-۴. مقایسه فراوانی انتروباکتریاسیه های مولد آنزیم‌های ESBL ، AmpC ، ESBL/AmpC و Non ESBL/AmpC در نمونه فاضلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۷-۹۸ .....۶۳
نمودار۲-۴. مقایسه فراوانی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین ایزوله‌های مولد آنزیم ESBL با Non ESBL/AmpC در فاضلاب بیمارستان‌ها ۶۵
نمودار ۴-۴. میزان مقاومت آنتی‌بیوتیکی در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسیه حاصل از فاضلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷.....۶۸

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول۱-۳. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در تحقیق ۵۱
جدول۲-۳. مواد استفاده‌شده در واکنش PCR برای ارزیابی ژن‌های ESBL و ۱۶srRNA..... ۵۳
جدول۳-۳. مواد استفاده‌شده در واکنش PCR برای واکنش AmpC ۵۳
جدول۴-۳. برنامه دستگاه ترموسایکلر ۵۴
جدول۵-۳. مواد و ترکیبات مورد نیاز جهت انجام ERIC-PCR ۵۵
شکل۶-۳. تصویر دستگاه ترمال سایکلر (Birad) ۵۶
جدول۱-۴. توزیع باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل،۹۷-۹۸ ..... ۵۸
جدول۲-۴. توزیع باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب کشتارگاه های دام و طیور اردبیل، ۹۷-۹۸ ..... ۵۹
جدول۳-۴. توزیع باکتری‌های مولد آنزیم‌های AmpC،ESBL و AmpC/ESBL در فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل، ۹۷-۹۸ ..... ۶۰
جدول ۴-۴. توزیع باکتری‌های مولد آنزیم‌های AmpC،ESBL و AmpC/ESBL در فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۷-۹۸ .....۶۲
جدول۵-۴. نتایج الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل،۹۷-۹۸ .....۶۴
جدول ۷-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) ایزوله‌های اشریشیا کلی جداشده از فاضلاب بیمارستان‌ها اردبیل، ۹۷-۹۸ .....۶۹
جدول۸-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۰
جدول۹-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) مابقی ایزوله های انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل،۹۷-۹۸ ..... ۷۲
جدول ۱۰-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی (I+R) ایزوله های اشریشیا کلی جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۳
جدول۱۱-۴. پروفایل الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی(I+R) ایزوله‌های کلبسیلا پنومونیه و ...جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۵

جدول۱۲-۴. میـزان مقاومـت چنـد دارویـی در میـان ایزولـه هـای مولـد بتالاکتامـاز فاضـلاب بیمارستان‌ها و کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۶
جدول۱۳-۴. توزیع انواع آنزیم‌های ESBL در میان ایزوله‌های انتروباکتریاسیه جداشده از نمونه فاضلاب بیمارستان اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۷
جدول۱۴-۴. پروفایل انواع آنزیم‌های ESBL در باکتری‌های انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۷۷
جدول۱۵-۴. توزیع فراوانی زیرگروه‌های آنزیم نوع CTX-M در انتروباکتریاسیه های جداشده از فاضلاب بیمارستان اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۱
جدول۱۶-۴. توزیع فراوانی گروه ها و زیرگروه های آنزیم نوع CTX-M در انتروباکتریاسیه هـای جداشده از جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۱
جدول۱۷-۴. توزیع انواع آنزیم های بتالاکتاماز AmpC در ایزوله‌های انتروباکتریاسیه جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۶
جدول۱۸-۴. پروفایل ترکیبی آنزیم های ESBL تولیدشده توسط انتروباکتریاسیه های جداشده از فاضلاب بیمارستان‌های اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۷
جدول۱۹-۴. پروفایل ترکیبی آنزیم های بتالاکتاماز AmpC تولیدشـده توسـط انتروباکتریاسـیه های جداشده فاضلاب بیمارستان اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۸
جـدول۲۰-۴. پروفایـل ترکیبـی آنـزیم‌هـای بتالاکتامـاز ESBL/AmpC تولیدشـده توسـط انتروباکتریاسیه های جداشده از فاضلاب بیمارستان ۸۸
جدول۲۱-۴. پروفایل ترکیبی آنزیم‌های ESBL تولیدشده توسط انتروباکتریاسیه های جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۹
جدول۲۲-۴. پروفایل ترکیبی آنزیم های بتالاکتاماز AmpC تولیدشـده توسـط انتروباکتریاسـیه های جداشده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور اردبیل، ۹۸-۹۷ ..... ۸۹

فهرست علائم اختصاری

ESBL: Extended Spectrum Beta-Lactamase

AmpC: Class C Beta-Lactamase

CTX-M: Cefotaxime Munich

OXA: Oxacillin-hydrolyzing class D beta-lactamase OXA

SHV: Sulfhydryl Variable

TEM: Temoneira (an ESBL enzyme named after a Greek patient)

MDR: Multiple Drug Resistance

PCR: Polymerase Chain Reaction

TSB: Trypticase Soy Broth

MHA: Muller Hinton Agar

CLSI: Clinical Laboratory Standard Institute

ATCC: American Type Culture Collection

CFU: Colony Forming Unite

ERIC-PCR: Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction

چکیده:

زمینه و هدف:

انتروباکتریاسیه‌های تولید کننده آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف (ESBL) و بتالاکتاماز از نوع AmpC به عنوان یکی از عوامل اصلی عفونت‌های اکتسابی از بیمارستان و همچنین جامعه محسوب می‌شوند. انتروباکتریاسیه‌ها به عنوان باکتری‌های فلور نرمال روده، بخش مهمی از جمعیت باکتریایی فاضلاب‌ها را تشکیل می‌دهند. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی و ویژگی‌های مولکولی ایزوله‌های مولد آنزیم‌های ESBL و AmpC در فاضلاب‌های بیمارستانی و کشتارگاه‌های دام و طیور در اردبیل انجام شد.

روش‌ها کار:

در کل ۶۰ نمونه فاضلاب در فاصله زمانی ۹۷ تا ۹۸ جمع‌آوری شد. ایزوله‌های انتروباکتریاسیه با استفاده از تست‌های معمول بیوشیمیایی و مولکولی شناسایی شدند. الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با بکارگیری روش انتشار از دیسک تعیین شد. شناسایی فنوتیپی تولید آنزیم‌های ESBL و AmpC با استفاده از دیسک‌های ترکیبی صورت گرفت. ژن‌های کدکننده آنزیم‌های ESBL و AmpC با استفاده از روش PCR ردیابی و ارتباط ژنتیکی ایزوله‌ها با بکارگیری روش ERIC-PCR مطالعه شد.

یافته‌ها:

در مجموع، ۷۵ ایزوله انتروباکتریاسیه از فاضلاب بیمارستانی و ۸۰ ایزوله از فاضلاب کشتارگاهای دام و طیور وارد مطالعه شد. از میان ۷۵ ایزوله جدا شده از فاضلاب بیمارستانی به ترتیب ۳۵(۴۶/۶٪)، ۳(۴٪) و ۴(۵/۳٪) مورد مولد آنزیم های ESBL، AmpC و تولیدکننده همزمان ESBL/AmpC بودند. از میان ۸۰ ایزوله جمع آوری شده از فاضلاب‌های کشتارگاه‌های دام و طیور به ترتیب ۱۵(۱۸/۷٪) و ۲(۲/۵٪) مورد مولد آنزیم‌های ESBL، AmpC بودند که از میان آن‌ها ۸۰٪ ایزوله‌های مولد ESBL ، ۱۰۰٪ ایزوله‌های مولد AmpC از کشتارگاهای طیور جداسازی شده بودند. ژن‌های کدکننده آنزیم‌های ESBL از نوع bla_{CTX-M} ۶۹/۲٪(۲۷) و ۸۰٪(۱۲) و AmpC از گروه bla_{CIT} با ۸۵/۷٪(۶) و ۱۰۰٪(۳) فراوانترین نوع بودند که به ترتیب در ایزوله‌های جدا شده از فاضلاب‌های بیمارستانی و کشتارگاهای دام و طیور شناسایی شد. در ایزوله‌های جدا شده از فاضلاب بیمارستان بیشترین میزان مقاومت

نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و سفالکسین با ۹۳٪(۷۰) و ۷۵٪(۵۶) و کمترین میزان مقاومت با ۹٪(۷) و ۲۱٪(۱۶) به ترتیب نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمیکاسین و ایمی‌پنم مشاهده شد. در ایزوله‌های جدا شده از فاضلاب کشتارگاه‌های دام و طیور بیشترین میزان مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین و تتراسایکلین با ۸۸٪(۷۰) و ۶۴٪(۵۱) و کمترین میزان مقاومت نسبت به ایمی‌پنم بود. بر مبنای نتایج ERIC-PCR ایزوله‌های مولد ESBL و AmpC جدا شده از فاضلاب بیمارستانی و کشتارگاه‌ها به ترتیب در ۶۵ و ۱۶ خوشه قرار گرفتند.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه درصد زیادی از ایزوله‌های انتروباکتریاسیه مولد بتالاکتامازهای ESBL و AmpC بودند. وجود این باکتری‌ها در فاضلاب‌ها می‌تواند خطر بالقوه‌ای برای انتشار آن‌ها در محیط باشد. بنابرین بکارگیری زیرساخت‌های مناسب تصفیه و برنامه‌های پایش مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در باکتری‌های فاضلاب‌های بیمارستانی و کشتارگاه‌ها و همچنین مزارع دام و طیور ضروری است.

واژگان کلیدی: انتروباکتریاسیه، فاضلاب، بیمارستان، دام، طیور، ESBL، AmpC