****

**دانشکده پزشکی**

**پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای حرفه ای در رشته ی پزشکی**

**عنوان:**

**بررسی شیوع انتروباکتریاسه های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL ) جدا شده از عفونت های ادراری**

**استاد راهنما:**

**دكتر هادي پيري دوگاهه**

**استاد مشاور:**

**دكتر افشان شرقی**

**نگارنده:**

**نگار فرهودی**

**شماره پایان نامه:0436 تابستان1392**



**پروردگارا...**

با من بمان!

در هر لحظه به حضور تو نیازمندم...

چه چیزی جز لطف تو می تواند ترس مرا درهم شکند...

چه کسی جز تو می تواند راهنما و پناه من باشد...

از هیچ دشمنی نمی هراسم،چون تو در همه حال در کنار منی.

اگر با من بمانی،همیشه پیروزم.

تقدیم به:

پدر و مادر نازنینم

آنان که تمامی لحظات شاد و افتخار آمیز زندگی ام را مدیون فداکاری ها و محبت های بی دریغ شان هستم و دستان پر مهرشان را بوسه باران می کنم.

برادران گلم:نوید و محسن

به پاس وجود پاک،بی ریا و دوست داشتنی شان که همواره مایه ی دلگرمی زندگی من هستند.

داستان کارآموز ،رنج استادش است...

تقدیم به:

اساتید بزرگوارم

دکتر هادی پیری دوگاهه

که تا پایان عمرم مدیون زحمات ومحبت هایشان هستم.

و خانم دکتر افشان شرقی

و تمامی استادانی که محبت هایشان فراتر از مرز اندازه ها و راهنمایی هایشان فراتر از مرز دانش هاست

تقدیم به

سرکار خانم اکبری و تمامی دوستان عزیزم.

و

تقدیم به

همه ی بیمارانی که طب را بر بالینشان آموختم.

و با سپاس از زحمات سرکار خانم نفتچی.

**فهرست مطالب**

**عنوان**..................................................................................................................................................**صفحه**

**فصل اول: كليات**

1-1 مقدمه و بيان مسأله................................................................................................................................. 5

2-1 تعريف واژه هاي كليدي....................................................................................................................... 6

3-1 اهداف و فرضيات................................................................................................................................ 7

1-3-1 هدف كلي........................................................................................................................................ 7

2-3-1 اهداف اختصاصي............................................................................................................................. 7

3-3-1 اهداف كاربردي............................................................................................................................... 7

4-3-1 فرضيات يا سؤالات تحقيق................................................................................................................ 7

**فصل دوم: پيشينه تحقيق و بررسي متون**

1-2 انتروباكترياسه ها.................................................................................................................................... 9

2-2 عفونت دستگاه ادراری........................................................................................................................ 12

1-2-2 اپیدمیولوژی.................................................................................................................................... 12

2-2-2 پاتوژنز............................................................................................................................................ 13

3-2-2 UTI حاصل از کاتتریزاسیون.......................................................................................................... 17

3-2 اشکال بالینی عفونت............................................................................................................................ 18

1-3-2 تعیین محل عفونت.......................................................................................................................... 18

2-3-2 سیستیت حاد................................................................................................................................... 19

3-3-2 پیلونفریت....................................................................................................................................... 19

4-3-2 پیلونفریت آمفیزماتو........................................................................................................................ 20

5-3-2 آبسه ی کلیه................................................................................................................................... 20

4-2 تشخیص.............................................................................................................................................. 21

5-2 بیشترین آنتی بیوتیک های مورد استفاده درUTI................................................................................. 22

1-5-2 پنی سیلین ها................................................................................................................................... 22

2-5-2 سفالوسپورین ها.............................................................................................................................. 22

3-5-2 فلوروکینولون ها............................................................................................................................. 23

4-5-2 آمینو گلیکوزیدها........................................................................................................................... 23

5-5-2 تری متوپریم ها............................................................................................................................... 23

6-5-2 نیتروفورانتوئین................................................................................................................................ 23

6-2 بتالاکتامازهای وسیع الطیف................................................................................................................. 23

1-6-2 طبقه بندی ESBL ها..................................................................................................................... 25

7-2 بررسی متون.......................... ............................................................................................................. 27

1-7-2 بررسی متون در ایران............ ......................................................................................................... 27

2-7-2 بررسی متون در جهان............. ....................................................................................................... 33

**فصل سوم: روش تحقيق و شيوه اجراي طرح**

1-3 نوع مطالعه........................................................................................................................................... 39

2-3 جامعه آماري مورد مطالعه.................................................................................................................... 39

3-3 روش نمونه گيري و جمع آوري اطلاعات............................................................................................ 39

4-3 روش تجزيه و تحليل داده ها و بررسي آماری...................................................................................... 40

5-3 ملاحظات اخلاقي................................................................................................................................ 40

6-3 روش كار............................................................................................................................................ 40

1-6-3 روش تهيه نمونه.............................................................................................................................. 40

2-6-3 تست هاي افتراقي انتروباكترياسه ها................................................................................................. 41

3-6-3 تهیه ی محیط کشت مک کانکی.................................................................................................... 45

4-6-3 تهيه سوسپانسیون استاندارد نيم مك فارلند....................................................................................... 46

5-6-3 تلقیح.............................................................................................................................................. 48

6-6-3 جایگذاری دیسک ها...................................................................................................................... 49

7-6-3 خواندن نتایج.................................................................................................................................. 50

**فصل چهارم: نتايج**

نتايج........................................................................................................................................................... 52

**فصل پنجم: بحث و نتيجه گيري**

1-5 بحث و نتيجه گيري ............................................................................................................................ 58

2-5 پيشنهادات........................................................................................................................................... 61

3-5 محدوديت ها...................................................................................................................................... 61

چکیده انگلیسی.......................................................................................................................................... 63

منابع........................................................................................................................................................... 64

**فهرست جداول**

جدول 1-4: جدول متغیرها.......................................................................................................................... 50

جدول 2-4: فراواني سويه هاي باكتريايي مورد مطالعه................................................................................. 52

جدول 3-4: توزيع جنسي بيماران................................................................................................................ 53

جدول 4-4: فراواني سويه هاي ESBL مثبت............................................................................................... 54

جدول 5-4: فراواني سويه هاي مثبت با هر دو آنتي بيوتيك CTX و CAZ و هر کدام به تنهایی................... 55

جدول 6-4: توزيع جنسي در سويه هاي ESBL مثبت.................................................................................. 56

**فهرست نمودارها**

نمودار1-4: فراواني سويه هاي باكتريايي مورد مطالعه.................................................................................. 52

نمودار2-4: توزيع جنسي بيماران................................................................................................................ 53

نمودار3-4: فراواني سويه هاي ESBL مثبت............................................................................................... 54

نمودار4-4: فراواني سويه هاي مثبت با هر دو آنتي بيوتيك CTX و CAZ و هر کدام به تنهایی................... 55

نمودار5-4: توزيع جنسي در سويه هاي ESBL مثبت.................................................................................. 56

**چكيده**

**مقدمه**: عفونت های ادراری از شایعترین عفونت های انسان می باشد که بیشتر موارد توسط انتروباکتریاسه ها ایجاد می شود. امروزه تعدادی زیادی از انتروباکتریاسه ها بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) تولید می کنند که باعث مقاومت آنها به آنتی بیوتیک های بتالاکتام است و اين مسأله درمان آن ها را با شکست مواجه می کند.در اين مطالعه هدف ما تعیین میزان شیوع باکتری های تولید کننده ی بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در عفونت های ادراري بود.

**روش ها**: 150 نمونه ادراري بيماران مبتلا به عفونت ادراري بستري در بيمارستان امام خميني اردبيل وارد مطالعه شدند. با استفاده از روش Disc Agar Diffusion بر اساس معیارهای CLSI و با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی سفتازیدیم و سفوتاکسیم 30 میکروگرمی با و بدون کلاولانیک اسید باکتری های تولید کننده یESBL ردیابی شدند.

**نتايج**: اين مطالعه شامل 51 نفر مرد (34%)و 99 نفر زن (66%) بود. از بين 150 نمونه ي ادراري مورد آزمايش، 74 مورد (30/49%) به عنوان ESBL مثبت شناخته شدند.از 74 نمونه 66 مورد(89.1%) نسبت به هر دو آنتی بیوتیک ESBL مثبت بودند.

**بحث:** نتايج نشان مي دهند با استفاده از روش Disc Agar Diffusion، توليد بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در نمونه هاي ادراري بيماران مبتلا به عفونت ادراري تقريباً در نزديك به 50% نمونه ها ديده مي شود و به دليل شيوع بالاي توليد اين آنزيم ها در منطقه ما بايد درمان مناسب آنها مدنظر باشد.

**كلمات كليدي**:بتالاكتامازهاي وسيع الطيف ،انتروباكترياسه، روش Disc Agar Diffusion

**فهرست علائم اختصاري:**

UTI: Urinary Tract Infection

E.coli: Esherichia Coli

Spp: Species

CTX/CA: Cefotaxime / Clavulanic Acid

CAZ/CA: Ceftazidime/ Clavulanic Acid

CAZ: Ceftazidime

CA: Clavulanic Acid

CTX: Cefotaxime

ESBL: Extended Spectrum β-lactamas

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

PCR: Polymerase Chain Reaction

ATM: Aztreonam

FEP: Cefepime

CFU/ml: Colony Forming Unit/ Millilitre

RBC: Red Blood Cell

WBC: Withe Blood Cell

KUB: Kidney, Ureter and Bladder

‍CT Scan: Computed Tomography Scan

ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate

CRP: C-reactive Protein

KOH: Potassium Hydroxide

EMB: Eosin methylene blue (agar)

TSI: Triple Sugar ( lactose, glucose, sucrose) , Iron (agar)

SIM: Sulphide, Indole, Motility (Medium)

VP: Voges- Proskauer (test)

فصل اول

كليات

**1-1-مقدمه و بيان مسأله**

انتروباکتریاسه ها، گروه بزرگ و ناهمگونی از باسیل های گرم منفی هستند که محل زندگی بعضی از آنها روده ی انسان است. آنها بی هوازی اختیاری، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت هستند. گونه های شایع خانواده انتروباکتریاسه شامل اشرشیا، کلبسیلا، سالمونلا، شیگلا،انتروباکتر،پروتئوس،یرسینیاو...هستند. بیشتر گونه ها پاتوژن روده ای نیستند اما فرصت طلب هستند.(1). آنها برای ایجاد مقاومت دارویی روش های مختلفی دارند که یکی از آنها مقاومت خارج کروموزومی مثل پلاسمید است. پلاسمیدها ژن مقاومت به یک یا چند دارو را دارند که یکی از آنها بتالاکتام ها هستند. این آنتی بیوتیک ها یک عنصر مشترک در ساختار مولکولی شان دارند (یک حلقه ی چهار اتمی که به عنوان بتالاکتام شناخته می شود). آنزیم بتالاکتاماز باکتری(ناشی از ژن پلاسمید) این حلقه را می شکند و ساختارهای مولکولی آنتی بیوتیک را غیر فعال می کند. (2).

آنزیم های بتالاکتامازی ،مهم ترین و وسیع ترین آنزیم های تخریب کننده ی آنتی بیوتیک ها هستند که شامل انواع مختلفی همانند سفالوسپوریناز ها ،پنی سیلیناز و...می باشد و به دلیل طیف عملکردی که روی آنتی بیوتیک ها دارند باعث افزايش مرگ و مير، بستري هاي طولاني مدت بيمارستاني و هزينه هاي بالاي درماني مي شود.این آنزیم ها به پیوند آمیدی موجود در حلقه ی بتالاکتام پنی سیلین و بتالاکتام ها حمله ور می شوند و یک اتصال آسیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه ی بتالاکتام بوجود می آورند که حاصل آن باز شدن حلقه ی بتالاکتام و ایجاد یک آنتی بیوتیک بی اثر است.(3).

در 6 سال اخیر مقاومت انتروباکتریاسه ها به بتالاکتام ها در کل دنیا افزایش داشته است و این منجر به بستری شدن طولانی تر در بیمارستان و افزایش موربیدیتی و مورتالیتی و تحمیل هزینه های اضافه به بیماران می گردد. الگوی مقاومت باکتری هاي اوروپاتوژن بر اساس موقعیت جغرافیایی و سایر عوامل مؤثر در آن دایماً در حال تغییر است و داشتن اطلاعات لازم جهت درمان این باکتری ها یک مرحله اساسی می باشد.(4). عفونت های ادراری از شایعترین عفونت های انسان می باشند و بیشتر موارد عفونت های ادراری توسط خانواده ی انتروباکتریاسه ایجاد می شوند و E.coli شایع ترین ارگانیسم مسئول می باشد. از دیگر اعضای این گروه کلبسیلا از عوامل شایع عفونت های ادراری می باشد و مقاومت فزاینده ای را نسبت به سفالوسپورین ها نشان می دهد.(5). این ارگانیسم ها بتالاکتاماز های وسیع الطيف و نیز Amp-C تولید می کنند که ژن های آن ها بر روی پلاسمیدهای قابل انتقال قرار دارند.(6).

شواهد کافی و مناسب از اپیدمیولوژی و الگوی بالینی این ارگانیسم ها در منطقه ی ما وجود ندارد. بنابراین ما تصمیم گرفتیم تا فراوانی سویه های تولید کننده ی بتالاکتامازهای وسیع الطیف را در باسیل های گرم منفی جداشده از عفونت های ادراری را مورد مطالعه قرار دهیم.

هدف از این مطالعه تعیین شیوع باکتری های ESBL مثبت در سویه های اوروپاتوژنیک می باشد.

**2-1- تعريف واژه هاي كليدي**

**بتالاکتامازهای وسیع الطیف**: بتالاکتامازها آنزیم هایی هستند که توسط بعضی باکتری ها با هدف غیر فعال نمودن آنتی بیوتیک ها تولید میشود.

**انتروباکتریاسه ها**: انتروباکتریاسه ها، بزرگترین گروه باسيل هاي گرم منفي هستند كه قسمت عمده ی عفونت های ادراری و بیمارستانی را ایجاد می کنند. آنها بی هوازی اختیاری، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت هستند.

**(DAD)Disc Agar Diffusion:** روشي برای ردیابی تولید ESBLs در باکتری ها مي باشد که بر اساس معیارهای CLSI و مقایسه ی هاله ی عدم رشد اطراف دیسک های آنتی بیوتیکی با و بدون کلاولانیک اسید می باشد.

**3-1- اهداف و فرضيات**

**1-3-1-** **هدف كلي**

تعیین شیوع باکتری های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL ) جدا شده از عفونتهای ادراری

**2-3-1-** **اهداف اختصاصي**

1.تعیین فراوانی باکتری های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف جداشده از نمونه های ادراری با روش Disc Agar Diffusion

2. مشخص نمودن آنتی بیوتیک های ناکارامد در درمان عفونت های ادراری

**3-3-1-** **اهداف كاربردي**

استفاده از آنتی بیوتیک های مناسب برای درمان باکتری های جدا شده از نمونه هاي ادراري

**4-3-1- فرضيات يا سؤالات تحقيق**

1. چه درصدی از باکتری های جدا شده از عفونت های ادراری تولید بتا لاکتاماز های وسیع الطیف مي کنند؟

2. چه آنتي بيوتيك هایی براي درمان عفونت هاي ادراري ناکارآمد است؟

فصل دوم

پيشينه تحقيق و بررسي متون

**1-2- انتروباكترياسه ها:**

انتروباکتریاسه ها شایعترین باکتری های گرم منفی و میله ای شکل هستند. بعضي از آنها فلاژل داشته و متحرک هستند ولی بعضی غیر متحرک هستند. گونه های شایع خانواده انتروباکتریاسه شامل اشرشیا، کلبسیلا، سالمونلا، شیگلا، سیتروباکتر، آنتروباکتر، پروتئوس، سراشيا، یرسینیا و...هستند. اسپور توليد نمي كنند. اندازه ی متوسط آنها 6-1 میکرون بوده ، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت هستند.(7). به همراه استافيلوكوك و استرپتوكوك ها از شايع ترين عوامل ايجاد بيماري محسوب مي شوند آنها قند را تخمیر و اسید لاکتیک و محصولات دیگر را تولید می کنند. بيشتر آنها همچنين نيترات را به نيتريت احيا مي كنند. (8).

خصوصیات کولونی این ارگانیسم ها بروی محیط کشت ها یکی از راههای تشخیصی برای شناسایی گونه های شایع خانواده ی انترو باکتریاسه می باشد.برای مثال توانایی در تخمیر لاکتوز برای شناسایی گونه های تخمیر کننده ی لاکتوز مثل:اشرشیا،کلبسیلا،انتروباکتر،سیتروباکتر و گونه های سراشیااز سایر گونه های غیر تخمیری یا تخمیرکننده ی کند مثل:پروتئوس، سالمونلا ،شیگلا و گونه های یرسینیا به کار گرفته می شود. در محيط كشت هایي كه حاوي رنگ هاي اختصاصي و قند هاست ،نظير محيط هاي ائوزين- متيلن بلو (EMB)، مك کانكي (MacConkey) و دي اكسي كولات ،مي تواند ارگانيسم هاي تخمير كننده لاكتوز را (كه رنگي مي شوند) از ارگانيسم هاي غير تخمير كننده افتراق داد که این در تشخيص احتمالي باكتري هاي روده اي مفيد است. برخي از تست ها نظير توليد اندول از تريپتوفان، به طور معمول براي شناسايي سريع استفاده مي شود. (9).

برخي از اين ارگانيسم ها نظير اشرشياكلي قسمتي از فلور طبيعي بوده و به طور تصادفي موجب بيماري مي شوند، در حالي كه برخي نظير سالمونلا و شيگلا همواره به صورت بيماري زا براي انسان محسوب مي شوند.(1).

LPS مقاوم به حرارت مهمترین آنتی ژن دیواره ی سلولی است که از سه جز تشکیل شده است که عبارتنداز:پلی ساکارید پیکره ای(سوماتیک)O ،پلی ساکارید مرکزی مشترک در بین خانواده انتروباکتریاسه (آنتی ژن مشترک)و لیپید A. آنتی ژن مشترک از جنس گلیکولیپید نیز در غشای خارجی وجود دارد.اساس طبقه بندی سرولوژیک در انتروباکتریاسه ها، پلی ساکارید سوماتیک، آنتی ژن های K کپسولی(پلی ساکارید اختصاصی گونه)و پروتئین های فلاژلیH می باشد. آنتي ژن هاي Oبه عنوان آنتی ژن های اختصاصی در هر جنس مطرح است. هر چند واکنش متقاطع میان جنس های نزدیک (سالمونلا با سیتروباکتر و اشرشیا با شیگلا)شایع می باشد، يك ارگانيسم ممكن است حاوي چندين آنتي ژن O باشد. گاهي آنتي ژن هاي O در ارتباط با بيماري هاي خاص انسان هستند، نظير برخي از تيپ هاي O اختصاصي اشرشياكلي كه در عفونت هاي دستگاه ادراري و مواردی از اسهال ديده مي شوند.(1).

**بیماری زایی انتروباکتریاسه**: آنتي ژن هايK کپسولی روی آنتي ژن سوماتیک Oقرار دارد، و جنس آن در برخی باکتری ها مثل E.coli، پلي ساكاريدي است، اما بعضي ديگر پروتئيني اند. اين آنتي ژن ها ممكن است با بيماري زايي باكتري ارتباط داشته باشند. آنتي ژن هايK مانع آگلوتیناسیون باکتری با آنتی بادی و در نتیجه بیماری زایی می شود.آنتی ژن K1 در مننژیت نوزادان نقش داشته ودر E.coli ها یافت می شود.آنتی ژن K در UTI و عفونت های روده ای نیز نقش دارد. آنتي ژن هاي H بر روي فلاژل باكتري قرار داشته و به وسيله ي حرارت يا الكل تخريب مي شوند. (9).

بسياري از ارگانيسم هاي گرم منفي باكتريوسين توليد مي كنند. اين مواد باكتريوسيدال شبه ويروسي ،توسط سويه هاي خاصي از باكتري ها توليد شده و بر عليه سويه هاي همان گونه يا گونه هاي مشابه، اثر مي كنند. كنترل توليد اين مواد توسط پلاسميد ها است. سويه هاي توليد كننده باكتريوسين، نسبت به باكتريوسين خود مقاومند، لذا از باكتريوسين ها در تيپ بندي ارگانيسم ها مي توان استفاده كرد. اغلب باكتري هاي گرم منفي، اندوتوكسين كه داراي اثرات پاتوفيزيولوژيكي متعددي است توليد مي كنند و همچنين اگزوتوكسين هايي توليد مي كنند كه از نظر باليني حائز اهميت مي باشند.(1).

**E.coli**:اشرشیا شامل 5 گونه است که مهم ترین آنها اشرشیا کلی مي باشد. کلی یکی از اعضای فلور طبیعی گوارشی است.ساير باكتري هاي روده اي مانند پروتئوس، انتروباكتر، كلبسيلا، مورگانلا، سيتروباكتر و ... نيز به عنوان فلور نرمال گوارشي مي توانند حضور داشته باشند، اما در مقايسه با اشرشياكلي، كمتر شايعند. در برخي موارد باكتري هاي روده اي به عنوان قسمتي از فلور طبيعي دستگاه تنفسي فوقاني و تناسلي محسوب مي شوند. باكتري هاي روده اي عموماً موجب بيماري نمي شوند و ممكن است در عملكرد تغذيه اي طبيعي نيز نقش داشته باشند. زماني كه عفونت هاي مهم باليني اتفاق مي افتد معمولاً اشرشياكلي عامل بيماري است. بقيه باكتري هاي روده اي عمدتاً عامل عفونت هاي بيمارستاني بوده و گاهي از عفونت هاي ديگر جدا مي شوند. اين باكتري ها زماني بيماري زا مي شوند كه به خارج از محل طبيعي خود (روده) و يا مكان هاي كمتر شايع وارد شده باشند. مهم ترين قسمت هايي كه در آن عفونت باليني اتفاق مي افتد شامل: دستگاه ادراري، مجاري صفراوي و ساير قسمت هاي حفره ي شكمي مي باشد، اما ساير مناطق آناتوميكی مانند خون، ريه، استخوان و مننژ نيز مي توانند درگير شوند.(1).

آنتی بادی کشنده ی E.coli، IgM است که قادر به عبور از جفت نیست و سیستم ایمنی نوزاد نیز ضعیف است به همین دلیل نوزادان مستعد سپسیس E.coli می باشند.(9).اشرشياكلي شايع ترين عامل UTI است که حدود 90% موارد در خانم هاي جوان اتفاق می افتد. علائم باليني اين عفونت به صورت تكرر ادراري، سوزش ادراري، خون در ادرار و چرك در ادرار مي باشد. وجود درد پهلو در ارتباط با عفونت دستگاه ادراري فوقاني است. هيچكدام از علائم، اختصاصي عفونت اشرشياكلي نيست. عفونت دستگاه ادراري مي تواند موجب باكتريمي گردد. 10 سروتیپ (O1،O2،O4،O6،O7،O9،O15،O16،O18) از اشرشیاکلی عامل اکثر عفونت های ادراری هستند و آنتی ژن K آن در عفونت های ادراری فوقانی نقش دارد. سویه های اروپاتوژن E.coli همولیزین مشخصی تولید می کنند و قند را تخمیر می کنند. این ماده سيتوتوكسيك بوده و تهاجم به بافت را تسهيل مي كند. آن دسته از سويه هايي كه ايجاد پيلونفريت مي نمايند، آنتي ژن K را بيان كرده و نوع خاصي از پيلي، فيمبريه P، كه به آنتي ژن گروه خوني P‌ متصل مي گردد را توليد مي كنند.(1).

2-2- **عفونت دستگاه ادراري**

عفونت حاد ادراری می تواند بدون علامت یا به شکل سندرم های بالینی متفاوت و حتی سپسیس باشد.عفونت های حاد ادراری از نظر آناتومیکی به دو گروه کلی تقسیم می شود:عفونت های مجاری ادراری تحتانی(اروتریت و سیستیت)و عفونت مجاری ادراری فوقانی(پیلونفریت حاد و آبسه ی داخل و اطراف کلیه).(10). بعضي از عفونت ها به دوره ي كوتاه آنتي بيوتيك خاصي پاسخ مي دهند، در حالي كه برخي ديگر به دوره ي طولاني مدت آنتي بيوتيك وسيع الطيف نياز دارند. تشخيص دقيق و درمان UTI براي كاهش موربيديتي و مورتاليتی آن ضروري است و بايد از تجويز آنتي بيوتيك هاي غير ضروري و طولاني مدت خودداري شود.(11).

**1-2-2- اپيدميولوژي**:

عفونت های ادراری از لحاظ اپیدمیولوژی به دو دسته تقسیم می شود:1-مرتبط با کاتتر(بیمارستانی) 2-بدون ارتباط با کاتتر(غیر بیمارستانی).(10). بررسي هاي غربالگري براي باكتريوري آن را در يك درصد دختران سن مدرسه (5 الي 14 ساله) نشان داده است كه اين ميزان در سن بلوغ 4 درصد و پس از آن 2-1 درصد به ازاي هر 10 سال افزايش نشان داده است. همچنين در 30 درصد زنان و 10 درصد مردان بالاي 65 سال گزارش شده است.(11). بروز UTI در پسران ختنه نشده طي 6 ماه اول زندگي بيشتر از ختنه شده ها مي باشد. بين كودكان 5-1 سال بروز باكتريوري در دختران تا 5/4% افزايش مي يابد، در صورتي كه اين ميزان در پسران به 5/0% مي رسد. در كودكان زير 5 سال UTIاغلب با آنومالي هاي مادرزادي مانند ريفلاكس وزيكويورترال يا انسداد ارتباط دارد. در سنين 6 تا 15 سال، هر چند ميزان بروز تغييري نمي كند، اما UTI در اين كودكان بيشتر با اختلالات عملكردي مجاري ادراري نظير اختلال در ادرار كردن ارتباط دارد. در سنين جواني ميزان بروز UTI در خانم ها تا 20% افزايش مي يابد، ليكن در آقايان ثابت مي ماند.(11).

از ريسك فاكتورهاي اصلي در زنان 35-16 سال روابط جنسي و استفاده از ديافراگم مي باشد. در زنان 36 تا 65 سال، جراحي هاي زنان و پرولاپس مثانه از ريسك فاكتورهاي مهم مي باشند. مردان در اين سنين به ريسك فاكتورهاي ديگري مانند هيپرتروفي پروستات يا انسداد، كاتترگذاري و جراحي دچار هستند. بعد از 65 سال بروز UTI در هر دو جنس بالا مي رود. بيشترين موربيديتي و مورتاليتي در بيماران كمتر از يك سال و بيشتر از 65 سال مشاهده مي گردد.(1).

**2-2-2-** **پاتوژنز**:

6 مورد در پاتوژنز نقش دارد:1-جنسیت و فعالیت جنسی 2-حاملگی 3-انسداد 4-اختلالات نوروژنیک عملکرد مثانه 5-ریفلاکس مثانه به حالب 6-عوامل پاتوژن باکتریایی 7-مقاومت میزبان.(10).4 مسير براي ورود باكتري ها به سيستم ادراري-تناسلي وجود دارد. صعود باكتري هاي اطراف مجراي ادراري به داخل سيستم ادراري (یا همان روش صعودی) منشأ اكثريت موارد UTI است. روش هاي ديگر ورود باكتري از عوامل ناشايع ايجاد UTI هستند. انتشار هماتوژن مي تواند در افراد با نقص ايمني يا نوزادان رخ دهد. استافيلوكوك طلايي، كانديدا و مايكوباكتريوم توبركلوزیس از جرم هاي شايعي هستند كه از طريق هماتوژن سيستم ادراري را آلوده مي كنند. انتشار از طريق سيستم لنفاوي ركتال، كولون و اطراف رحم به عنوان عامل كم اهميت ايجاد UTI دانسته شده است. انتشار مستقيم باكتري ها از ارگان هاي مجاور به سيستم ادراري مي تواند در بيماران با آبسه هاي داخل صفاق و يا فيستول مثانه اي-روده اي يا مثانه اي-واژني رخ دهد.(11).

**جنسیت و فعالیت جنسی:** به نظر میرسد پیش آبراه در زنان به علل زیر اساسا مستعد کلونیزاسیون با باسیل های گرم منفی است:نزدیکی پیش آبراه به مقعد ، کوتاهی طول پیش آبراه(تقریبا 4 سانتی متر) ، قرار داشتن پیش آبراه در زیر لابیا. فعالیت جنسی باعث ورود باکتری ها به مجاری ادراری می شود و می تواند باعث سیستیت شود.ادرار کردن بعد از فعالیت جنسی باعث کاهش ریسک UTI می شود.علاوه بر این ، استفاده از ترکیبات اسپرم کش و دیافراگم و کاندوم با پوشش اسپرم کش و cervical cap به دلیل تغییر فلور نرمال مدخل واژن با E.coli باعث افزایش ریسک ابتلا سیستیت و پیلونفریت حاد می شود. هیپرتروفی پروستات از دیگر ریسک فاکتورهای UTIدر مردان می باشد. در خانم ها بعد از سن یائسگی و نیز وجود موارد زیر ریسک UTI افزایش میابد:فعالیت جنسی اخیر، UTI اخیر، دیابت ملیتوس و بی اختیاری ادراری. مبتلایان به ایدز با CD4 کمتر از 200 در هر میکرولیتر ریسک بیشتری جهت ابتلا به UTI دارند. ختنه نکردن نیز ریسک فاکتور در مردان شناخته شده است.(10).

**حاملگی:**UTI در میان 8-2% زنان باردار دیده می شود. همچنین ریسک تبدیل این عفونت به پیلونفریت در آنها شایعتراست. 30-20% زنان باردار مبتلا به باکتریوری و سایر اشکال عفونت های ادراری تحتانی دچار پیلونفریت می شوند. علت مستعد شدن زنان باردار به UTI عبارتند از:1.کاهش تونیسیته ی مجاری ادراری و حالب 2.کاهش پریستالتیسم حالب 3.نارسایی موقت دریچه ی بین حالب و مثانه. البته کاتتریزاسیون ادراری حین یا پس از زایمان نیز در ایجاد آن دخیل است. UTI به خصوص عفونت های فوقانی در زنان باردار باعث تولد نوزاد با وزن کم، زایمان زودرس و مرگ نوزادان می باشد.(10). بيماران حامله اي كه باكتريوري دارند بايد با پني سيلين ها، سفالوسپورين هاي خوراكي يا فسفومايسين درمان شوند. پيلونفريت باكتريال حاد بايد با سفالوسپورين وريدي و پني سيلين ها به همراه مهار كننده بتالاكتاماز درمان شوند.(11).

**انسداد:**هر نوع انسداد مثل تومور، تنگی، سنگ و هیپرتروفی پروستات باعث احتباس و استاز و ایجاد عفونت می شود. اضافه شدن عفونت بروی انسداد به سرعت باعث تخریب بافت کلیه می شود.(10).

**اختلال نوروژنیک مثانه:**اختلال در عصب دهی مثانه در بیماری هایی مثل تابس دورسالیس ،مولتیپل اسکلروزیس دیابت و...می تواند باعث UTI شود. دمینرالیزه شدن استخوان در اثر بی حرکتی عامل تشدید کننده ی دیگر در این بیماران است.(10).

**مقاومت میزبان:** نقش اساسي در پاتوژنز UTI دارد. جريان بدون انسداد ادراري با شستن باكتري هاي در حال صعود براي پيشگيري از UTI نقش اساسي دارد.اسمولاليته ، ،اوره،غلظت ،اسيد هاي ارگانيك و PH ادرار نیز مانع كلونيزه شدن باكتري ها می شود. همچنين گليكوپروتئين تام هورسفال چسبيدن باكتري ها به مخاط را مهار مي كند.(11). پوشش اپي تليالي سيستم ادراري نه تنها به عنوان مانع فيزيكي عمل مي كند، بلكه توانايي شناسايي باكتري ها را بر اساس مقاومت ذاتي ميزبان داراست. در پاسخ به حضور باكتري ها، سلول هاي پوشاننده سيستم ادراري موادی نظير اينترلوكين 8 (IL8) ترشح مي كنند و نوتروفيل ها را به محل فرا مي خوانند تا تهاجم بافتي را محدود كنند.(11).

از ديگر فاكتورهاي مهم ميزبان فلور نرمال اطراف مجرا يا پروستات و يا وجود ريفلاكس وزيكويورترال است. فلور نرمال نواحي اطراف مجرا حاوي ارگانيسم هايي نظير لاكتوباسيل است كه در مقابل كلونيزاسيون باكتري هاي اوروپاتوژن مقابله مي كند. تغييرات محيط پري يورترال( نظير تغييرات PH يا سطح استروژن و يا استفاده از آنتي بيوتيك ها) ممكن است به فلور نرمال این ناحیه آسيب برساند و به پاتوژن هاي ادراري اجازه كلونيزاسيون بدهد و در نتيجه به عفونت مجاري ادراري منتهي شود. در مردان ترشحات پروستات حاوي روي (Zn) است كه فعاليت آنتي ميكروبي قوي دارد. در كودكان ريفلاكس وزيكويورترال خطر UTIرا بيشتر نمي كند، اما سبب بالا رفتن باكتري در مجاري فوقاني و پيشرفت عفونت و اسکار کلیه مي گردد.

افزايش سن در آقايان با افزايش اوروپاتي انسدادي و در زنان با تغييرات بعد از منوپوز در فلور طبيعي اطراف مجرا سبب افزايش خطر UTI مي شود.(11).

**فاكتورهاي پاتوژن باكتري:** همه ي باكتري ها قدرت چسبيدن به مجاري ادراري و ايجاد عفونت را ندارند. از انواع اشرشياكلي فقط سروتيپ هاي O, K, H اين قدرت را دارند.(11).

**ریفلاکس مثانه به حالب**: به بازگشت ادرار از مثانه به حالب و گاهی به لگنچه در هنگام ادرار کردن یا افزایش فشار مثانه اطلاق می شود. در صورت وجود اختلال آناتومیکی در محل اتصال حالب به مثانه ،ریفلاکس باکتری به کلیه و به دنبال آن عفونت قسمت های فوقانی تسهیل می شود. ریفلاکس مثانه به حالب در بین کودکان مبتلا به ناهنجاری آناتومیکی و کودکان نرمال(از نظر آناتومیکی) به یک اندازه شایع می باشد.(10).

**پاتوژن هاي موجب:** بيشتر از 90% موارد عفونت هاي ادراري به واسطه انواع خاصي از گونه هاي باكتريال كه بخشي از فلور طبيعي دستگاه گوارش را تشكيل مي دهند، ايجاد مي شود.(8). عفونت ادراري اغلب با يك نوع باكتري ايجاد مي شود. در حداقل 80% سيستيت هاي ساده و پيلونفريت ها E.coli و بيشتر سروتيپ O عامل عفونت مي باشد(5). قابليت بيش از 150 سويه اشرشياكلي در كلونيزه شدن در پرينه و مجراي ادراري و مهاجرت به دستگاه ادراري به دليل وجود فاكتور ويرولانس خاصي در اين سويه هاست. همچنين مقاومت در برابر فعاليت باكتريوسيدال طبيعي بدن و توانايي توليد هموليزين به ويرولانس اين سويه ها كمك مي كند.(8). پاتوژن هاي با شيوع كمتر شامل كلبسيلا، پروتئوس، انتروباكترها و انتروكوكسي ها هستند. در UTI بيمارستاني گونه هاي ديگري مانند سودوموناس و استافيلوكوك ها دخالت دارند. UTI ناشي از استافيلوكوك اورئوس اغلب از طريق انتشار خوني به وجود مي آيد. در خانم هاي باردار، استرپتوكوك بتا هموليتيك گروه B مي تواند موجب UTI شود. استافيلوكوك ساپروفيتيكوس مي تواند عامل UTI ساده در زنان جوان باشد. در كودكان با تفاوتي مختصر نسبت به بزرگسالان كلبسيلا و انتروباكترها نقش بيشتري دارند.(11).

**3-2-2****- UTIحاصل از کاتتریزاسیون:**

باکتریوری در 15-10%از بیماران بستری در بیمارستان که دارای سوند ادراری هستند روی می دهد.ریسک ایجاد عفونت 5-3% برای هرروز باقی ماندن سوند در پیش آبراه می باشد. عوامل ایجاد کننده ی عفونت در بیماران دارای سوند ،عبارتند از: اشرشیاکلی ،پروتئوس ،سودوموناس ،کلبسیلا ،سراشیا ،استافیلوکوک ،انتروکوک و کاندیدا. جنس مونث ،سوندگذاری طولانی مدت ،بیماری وخیم زمینه ای ،انسداد مسیر سوند و لوله های تخلیه کننده ی ادرار و سهل انگاری در مراقبت از سوند خطر عفونت در بیماران دارای سوند را افزایش می دهد. پاتوژن های بیمارستانی از طریق دست پرسنل بیمارستان ،محلول های شست و شوی آلوده ،لوازم و مواد ضد عفونی آلوده انتقال می یابد. از نظر بالینی عفونت های ناشی از سوند ادراری با علایم اندک بروز کرده و تب ایجاد نمی کنند و اکثرا بعد از خارج کردن سوند بهبود می یابند. باکتریمی گرم منفی به دنبال باکتریوری ناشی از سوند در 2-1% مبتلایان رخ داده و مهم ترین عارضه ی UTI حاصل از سوند می باشد. مجاری ادراری سوند گذاری شده ،شایع ترین منبع باکتریمی گرم منفی در بیماران بستری در بیمارستان است (30%موارد). در بیماران نیازمند سوند برای کمتر از 2 هفته استفاده از سوندهایی که آغشته به مواد ضدمیکروبی هستند ،میزان باکتریوری بدون علامت را کاهش می دهد. با این وجود در بیمارانی که بیشتر از دو هفته نیاز به سونداژ دارند ،با وجود تمام احتیاط ها باکتریوری بدون علامت رخ می دهد.(10).

بهترین روش درمان بیماران مبتلا به باکتریوری بدون علامت ،خارج کردن سوند و تجویز کوتاه مدت آنتی بیوتیک می باشد که تقریبا در اکثر موارد باعث از بین رفتن عفونت می شود. درمان باکتریوری بدون علامت ناشی از سوند بیشترین فایده را برای زنان سالخورده دارد که معمولا در صورت عدم درمان علامتدار می شوند. در صورتی که سوند خارج نشود ،درمان آنتی بیوتیکی بدون اثر بوده و ممکن است باعث عفونت با باکتری های مقاوم تر شود. پس در صورتی که خارج کردن سوند امکان پذیر نباشد ،نباید در جهت درمان باکتریوری اقدام کرد ،مگر اینکه بیمار علامت دار شود یا خطر باکتریمی بالا باشد.

بعضی از بیماران بستری در بیمارستان یا در منزل به دلیل ضایعه ی نخاعی یا بی اختیاری ادراری یا عوامل دیگر نیاز به سوند گذاری طولانی مدت دارند. در این موارد روش on &off بهترین روش جلوگیری از عفونت است. در این بیماران نیز باکتریوری بدون علامت نیاز به درمان ندارد و فقط در صورت علامت دار بودن و نیز خطر باکتریمی انجام می شود.(10).

**3-2****-اشکال باليني**

**1****-3-2-تعیین محل عفونت:**

باید تعیین شود که محل عفونت ،مجاری ادراری فوقانی و کلیه(پیلونفریت) است یا اینکه مربوط به مجاری ادراری تحتانی و مثانه(سیستیت) می باشد. چون مدت درمان ،نوع آنتی بیوتیک مورد استفاده و نیاز به بستری یا عدم نیاز به آن بستگی به محل عفونت نیز دارد. وجود تب بالا ،افزایش CRP ،تندرنس زاویه ی کوستوورتبرال ، تهوع استفراغ و وجود باکتری های پوشیده از آنتی بادی در ادرار به نفع پیلونفریت است.(10).

**2-3-****2- سيستيت حاد:**

سيستيت حاد به عفونت مجاري ادراري تحتاني به خصوص مثانه گفته مي شود. سيستيت حاد در زنان شايع تر است. 50% درصد خانم ها حداقل یکبار در طول عمر خود دچار این عارضه می شوند. عامل آن عفونت صعودی از فلور پرینه است. تشخيص آن به صورت باليني انجام مي گيرد. علائم آن ديزوري ،تكرر ادرار ،اورژنسی(فوریت) ،درد ناحیه ی سوپراپوبیک ،ادرار کدر و بدبو و ادرار خونی در 30% بیماران می باشد. در معاینه اغلب تندرنس سوپراپوبیک وجود دارد.عامل بيماري اغلب E.coliاست.(11).اما در مواردی که تعداد باکتری کم است ولی بیمار علامتدار است و ترشحات واژینال نیز وجود دارد معمولا عامل پاتوژن ،کلامیدیا تراکوماتیس ،نایسریاگونوره آ ،تریکوموناس ،کاندیدا و هرپس سیمپلکس است.(10). برای درمان يك دوره كوتاه 3 تا 5 روزه ی آنتي بيوتيكي كافي مي باشد.(11).

**3-3-2- پيلونفريت حاد:**

علایم بيماران تب و لرز ،تندرنس زاويه كوستوورتبرال ،تهوع و استفراغ ،ديزوري ،تكرر ادرار ،فوريت در ادرار ،اسهال ،تاکیکاردی ،تندرنس در لمس عمقی شکم می باشد. سپسيس هم ممكن است رخ دهد (30-20% از سپسيس هاي سيستميك ناشي از عفونت ادراري مي باشد).تشخیص اغلب بالینی است.

در آناليز ادرار**،** WBC و RBC ديده مي شود.(WBC های پوشیده شده از آنتی بادی هم ممکن است مشاهده شود) لكوسيتوز، افزايش ESRو CRPاغلب در آزمايش خون ديده مي شود.

E.coliعامل اغلب عفونت ها مي باشد. در بقيه موارد كلبسيلا، پروتئوس، انتروباكتر، سودومونا، سراشيا و سيتروباكتر ديده مي شود. درمان به شدت پيلونفريت وابسته است.(10). در مواردي كه بيماري شديد نيست، درمان 10-14 روزه ی سرپايي با آنتي بيوتيك خوراكي مثل فلوروكينولون ها يا كوتريموكسازول مؤثر مي باشند. در بيماران بدحال و توكسيك به دليل خطر سپتي سمي ناشي از پیلونفریت، بستري کردن الزامي مي باشد. درمان تجربي با آمپي سيلين و جنتامايسين وريدي طيف وسيعي از پاتوژن ها از جمله انتروكوكسي ها و سودوموناس را پوشش مي دهد. همچنين مي توان از آموكسي سيلين و كلاولانيك اسيد يا سفالوسپورين هاي نسل سوم استفاده نمود. اگر باكتريمي ديده شود، درمان وريدي بايد تا 7 تا 10 روز ديگر ادامه يابد و سپس براي 10 تا 14 روز از درمان خوراكي استفاده شود.(11).

**4-3-2- پيلونفريت آمفيزماتو**

پيلونفريت آمفيزماتو **،** يك تظاهر بالینی غیر معمول است که تقریبا همیشه در بیماران دیابتی مبتلا به انسداد ادراری و عفونت مزمن دیده می شود و به شکل عفونت نكروزانی است كه با وجود گاز در پارانشيم كليه يا بافت پري نفريك مشخص مي شود.شروع علایم بالینی بسیار سریع و پیشرونده بوده و شامل تب ،درد پهلو ،استفراغ ، لکوسیتوز و پیوری كه به درمان وريدي ابتدايي پاسخ نمي دهد می باشد. پنوماچوري ممكن است ديده شود. E.coli و گاهی انتروباكتریاسه های دیگر عوامل اصلي پاتوژن هستند.(10).

این بیماری با وجود گاز در كليه در KUB و CT Scan تشخیص داده می شود. CT Scan در يافتن گاز در پارانشيم كليه از سونوگرافي حساس تر است. علاوه بر درمان وريدي و مايع درماني، كنترل قند و رفع انسداد انديكاسيون دارد. مورتاليتي در حدود 54-11% موارد است.(11).

**5-3-2- آبسه كليه**

آبسه به معنای تجمع مايع و چرک است که در عفونت های شدید و درمان نشده بوجود می آید. تب، درد فلانك يا شكم، لرز و ديزوري از علائم آبسه مي باشند كه بيشتر آنها بيش از 2 هفته طول كشيده اند. در بعضي بيماران توده در فلانك قابل لمس است. اغلب آبسه ها نتيجه انتشار خوني استافيلوكوك ها هستند. بيماران ديابتي، همودياليزي و يا معتاد تزريقي در معرض خطر بالاي آبسه كليه مي باشند. با سونوگرافي و سي تي اسكن آبسه را به خوبي مي توان تشخيص داد.

اولين قدم درمان آنتي بيوتيك مناسب است. با توجه به دشوار بودن تعيين ارگانيسم، درمان تجربي با آمپي سيلين يا وانكومايسين همراه با آمينوگليكوزيدها يا سفالوسپورين هاي نسل سوم انديكاسيون مي يابد. در صورت عدم پاسخ به درمان ظرف 48 ساعت، درناژ آبسه انديكاسيون مي يابد. در صورت عدم بهبود، درناژ با جراحي باز يا نفركتومي ضرورت مي يابد.(11).

**4-2- تشخيص**

**آنالیز ادرار(UA):** آناليز ادراري یک روش تشخیصی بسیار مهم می باشد. ادرار را بايد از نظر لكوسيت استراز ( كه تركيبي ناشي از خرد شدن گلبول هاي سفيد است) در مدت كوتاهي ارزيابي نمود. نيتريت در ادرار نيز در بسياري از باكتري هاي گرم منفي توليد مي گردد. وجود نيتريت و لكوسيت استراز را مي توان با Dipstick بررسي نمود و اين روش هنگامي كه شمارش باكتري بيشتر از 100000 كلوني در هر سي سي باشد، قابل اعتمادتر است. بيش از 3 عدد WBCدر هر زمينه با بزرگنمايي قوي ميكروسكوپ وجود عفونت را مطرح مي كند. تست نيتريت ادراري ويژگي بالايي دارد، ليكن حساس نمي باشد.پیوری تقریبا در تمام مبتلایان به UTI حاد وجود دارد و فقدان آن تشخیص UTI را زیر سوال می برد.(11).

**كشت ادراري:** گلد استاندارد در تشخيص عفونت ادراري، كشت ادرار براي باكتري هاي اختصاصي مي باشد. ادرار بايد در ظرفي استريل جمع آوري شده و بلافاصله كشت داده شود ( در صورت عدم امكان ، مي توان ادرار را تا 24 ساعت در يخچال نگه داشت). هر عدد باكتري در ظرف هاي كشت يك كلوني بوجود مي آورد. كلوني ها شمرده مي شوند و تعداد آنها در هر ميلي ليتر محاسبه مي گردد (CFU/ml). بسته به روش جمع آوري ادرار، جنس بيمار و نوع باكتري، تعدادي كه از نظر باليني مهم است تعيين مي شود. مقادير بيش از CFU/ml 100000 ديگر آلودگي در نظر گرفته نمي شود. با اين وجود مطالعات نشان داده اند كه UTI با مقادير كمتر از CFU/ml 100000 باكتري در ادرار نيز ممكن است روي دهد.(9). در بعضی از موارد علیرغم وجود عفونت تعداد کلنی باکتری ها پایین می باشد مانند:درمان آنتی بیوتیکی، غلظت بالای اوره در ادرار، اسمولاریته ی بالای ادرار، PH پایین یا اسیدی ادرار، دیورز در اثر مصرف مقدار زیاد آب و اینکه بیمار قبل از تهیه ی نمونه به تازگی ادرار کرده باشد.(10).

**5-2-بیشترین آنتي بيوتيك های مورد استفاده در درمان عفونت های ادراری:**

**1-5****-2-پني سيلين ها :** نسل اول پني سيلين ها در پاتوژن هاي عفونت هاي ادراري بي اثر مي باشند و استفاده نمي شوند. با اين وجود آمينوپني سيلين ها( آموكسي سيلين و آمپي سيلين) بر انتروكوكسي ها، استافيلوكوك ها، E.coli و پروتئوس ميرابليس مؤثر مي باشند، اما گرم منفي ها سريعاً مي توانند در برابر اين گروه مقاوم شوند. اضافه شدن مهاركننده هاي بتالاكتاماز نظير كلاولانيك اسيد، آمينوپني سيلين ها را در برابر گرم منفي ها مؤثرتر مي كند.(11).

**2-5-2-سفالوسپورين ها :** سفالوسپورين ها بر اكثر پاتوژن هاي ادراري مؤثر هستند. نسل اول سفالوسپورين ها اثر خوبي بر گرم منفي ها، اشرشيا كلي، پروتئوس و كلبسيلا دارند. نسل دوم آنها را مي توان در عفونت با بي هوازي ها و هموفيلوس آنفلوانزا مورد استفاده قرار داد. نسل سوم آنها بر طيف وسيع تري از گرم منفي ها اثر مي گذارند، اما بر گرم مثبت ها مؤثر نمي باشند. تأثير سفالوسپورين ها بر سنتز ديواره سلولي است. سفالوسپورين خوراكي به خوبي در درمان تجربي عفونت هاي ادراري بدون عارضه به كار برده مي شوند و نسل سوم آنها مثل سفيكسيم در اطفال با UTI تب دار و پيلونفريت مؤثر است.(11).

**3-5-2-فلوروكينولون ها :** فلوروكينولون ها بر طيف وسيعي از باكتري ها به خصوص گرم منفي ها اثر دارند. با وجود تأثير بر استافيلوكوك ها، استرپتوكوك ها و بي هوازي ها را از بين نمي برند. اين داروها با مداخله در DNA ژيراز باكتري ها از تكثير آنها جلوگيري مي كنند. وسيع الطيف بودن آنها باعث شده كه از اين داروها براي درمان تجربي عفونت هاي ادراري ساده و عارضه دار استفاده شود.(11).

**4-5-2-آمينوگليكوزيدها :** آمينوگليكوزيدها در درمان UTIعارضه دار به طور گسترده اي استفاده مي شوند و بر اكثر گرم منفي ها اثر دارند. اين داروها سنتز DNAو RNA باكتري را مهار مي كنند.(11).

**5-5-2-تري متوپريم- سولفامتوكسازول :** تري متوپريم- سولفامتوكسازول يا كوتريموكسازول در درمان بسياري از عفونت هاي دستگاه ادراري به جز مواردي كه اتيولوژي آن انتروكوك و سودوموناس باشد، استفاده مي شود. اين دارو در متابوليسم فولات باكتري تداخل مي كند.(11).

**6-5-2-نيتروفورانتوئين :** نيتروفورانتوئين بر بيشتر گرم منفي ها (به غير از سودوموناس و پروتئوس)، استافيلوكوك ها و انتروكوكسي ها اثر دارد. اين دارو آنزيم ها و فعاليت DNA باكتري را مهار مي نمايد و داروي مناسبي در درمان UTI است.(11).

**6-2-** **بتالاكتامازهاي وسيع الطيف**

آنزیم های بتالاکتامازی وسیع الطیف (ESBLs) مهم ترین و گسترده ترین آنزیم های تخریب کننده ی آنتی بیوتیک ها هستند که شامل انواع مختلفی همانند سفالوسپوریناز ها پنی سیلیناز و...می باشد و به دلیل طیف عملکردی که روی آنتی بیوتیک ها دارند باعث افزايش مرگ و مير، بستري هاي طولاني مدت بيمارستاني و هزينه هاي بالاي درماني مي شود.

بتالاكتامازهاي وسيع الطيف، آنزيم هایی هستند كه اجزاي آنتي بيوتيك ها ي گروه هاي مختلف آنتی بیوتیکی مانند پني سيلين و سفالوسپورين را مي شكنند و آنها را غير فعال مي كنند.ژن ESBLs، اکثرا روی پلاسمیدهای باکتری ها قرار دارد و به همین دلیل به راحتی قابل انتقال بوده و مقاومت باکتری ها به آنتی بیوتیک ها روز به روز در حال افزایش است. شایعترین ژن های ESBLs ،CTX-M و SHV است.(12).

بتالاکتام ها در ساختار مولكولي خود عناصر مشتركي دارند: يك حلقه ي چهار اتمي كه به عنوان بتالاكتام است. ESBLs به پیوند آمیدی موجود در حلقه ی بتالاکتام پنی سیلین و بتالاکتام ها حمله ور می شوند و یک اتصال آسیل کووالانت را از طریق گروه کربوکسیل حلقه ی بتالاکتام بوجود می آورند که حاصل آن باز شدن حلقه ی بتالاکتام و ایجاد یک آنتی بیوتیک بی اثر مثل پنی سیلوئیک اسید و سفالوسپوریک اسید که ترکیب های غیرفعالی هستند. به طور مثال آنزیم پنی سیلیناز پنی سیلین را غیرفعال می کند. پني سيلينازها، اولين بتالاكتامازهايي بودند كه در سال 1940 شناسايي شدند و باعث مقاومت باکتری ها به آنتي بيوتيك هاي بتالاكتام نظير پني سيلين ها، سفالوسپورین ها و مونوباکتام ها هستند.(2).

به علت طیف بالای عملکردی این آنزیم ها ،تحت عنوان آنزیم های بتالاکتامازی وسیع الطیفESBL اطلاق می شوند. باكتري هاي داراي ESBL، اغلب مقاوم به آنتي بيوتيك هاي ديگر نيز هستند و اين مسأله درمان آنها را مشكل مي كند. پيامدهاي گسترش باكتري هاي توليد كننده ESBL، به خوبي آشكار بوده و شامل افزايش مرگ و مير، بستري هاي طولاني مدت بيمارستاني و هزينه هاي بالاي درماني مي باشند.(3).

با در نظر گرفتن این موضوع که آنتی بیوتیک های بتالاکتام اغلب درمان های آنتی بیوتیکی را در مراکز درمانی تشکیل می دهد و مقاومت باکتری ها به این آنتی بیوتیک ها در حال افزایش است این امر قابلیت انتقال پلاسمید حامل ژن مقاومت به سایر سویه ها و افزایش مدت بستری و مرگ و میرها را نشان می دهد.(12). مقاومت آنتي بيوتيكي نیز به حالتی اطلاق می شود که در آن عفونت ها با وجود استفاده از آنتی بیوتیک ها همچنان به دوام خود باقی هستند.ژن های مقاومت توسط مكانيسم هاي تركيب، انتقال و تبديل بين باكتريها مبادله شوند. اکثر ژن هاي مقاومت آنتي بيوتيكي، روي پلاسميدها قرار دارند و اين مسأله انتقال آنها را راحت تر مي كند.(6).

استفاده وسیع و بی رویه از آنتي بيوتيك ها ، نقش مهمي را در ايجاد سريع مقاومت باكتري ها ايفا مي كند. مدت زمان طولاني استفاده از آنتي بيوتيك ها هم خطر پيشرفت مقاومت را بالا مي برد. هم بیماران و هم پزشکان نقش مهمی در ایجاد این مقاومت دارند.پزشکان بایستی بعد از حصول اطمینان از وجود عفونت آنتی بیوتیک تجویز نمایند. مقاومت دارويي در بين پاتوژن هاي ادراري در چند سال گذشته به صورت مداوم افزايش داشته است. براي محدود ساختن ايجاد مقاومت آنتي بيوتيكي در پاتوژن هاي ادراري استفاده به جاي آنتي بيوتيكي لازم است(11).

**1-6-2-** **طبقه بندي ESBL ها:**

5 نوع طبقه بندی برای بتلاکتامازها وجود دارد:طبق بندی Bush ،طبقه بندی Ambler ،طبقه بندی Sawai T ،طبقه بندی Richmon & Sykes ،طبقه بندی Mitsuhashi و طبقه بندی Inoue. طبقه بندی Bush به صورت 2a,2b,… و Ambler کلاس A تا D است. در طبقه بندی Ambler تا امروز 4 نوع شناسايي شده است(D-A). طبقه بندي مولكولي بتالاكتامازها، بر اساس توالي هاي آمينواسيدي و نوكلئوتيدي اين آنزيم هاست. مكانيسم عمل كلاس A,C,Dبر پايه ي سرين است، در حالي كه كلاس B يا متالوبتالاكتاماز، نياز به روي براي فعاليت خود دارد.(13).

**كلاس A :** بتالاکتاماز TEM-1 شايع ترين بتالاكتاماز در باكتري هاي گرم منفي است و شایعترین آنزیم گروه A می باشد. بالاي 90% از مقاومت به آمپي سيلين در E.coliبه دليل توليد TEM-1است. بتالاكتامازهاي نوع TEM به صورت شايعي در E.coliو كلبسيلا پنومونيه يافت مي شوند. آنها همچنين در گونه هاي ديگر باكتري هاي گرم منفي، با افزايش فراواني يافت مي شوند. تا به امروز، حدود 140 نوع آنزيم TEM شناسايي شده است.(14).بتالاكتامازهاي SHV-1 دیگر آنزیم این گروه است. اكثراً در كلبسيلا پنومونيه يافت مي شوند و مسئول بالاي 20% از مقاومت وابسته به پلاسميد در اين گونه ها، به آمپي سيلين است. بيش از 60 نوع SHV تاكنون شناخته شده است.(15).CTX-M نوع دیگر آنزيم های این گروه است که به اين دليل نامگذاري شدند كه فعاليت بالايي بر عليه سفوتاكسيم، نسبت به ديگر سوبستراهاي بتالاكتام هاي اكسي ايمينو( نظير سفتازيديم، سفترياكسون يا سفپيم) داشتند. تاكنون بيش از 80 نوع از آن ها شناسايي شده است.(16).

**کلاس B (كارباپنمازها):** این گروه داراری یون فعال روی در بخش فعال خود است. این بتالاكتامازها نه تنها بر عليه سفالوسپورين هاي اكسي ايمينو و سفامايسين ها فعال هستند، بلكه بر عليه كارباپنم ها نيز فعال مي باشند. كارباپنمازها انواع مختلفي دارند مانند KPC, VIM, IMP, CMYكه بر عليه كلبسيلا پنومونيه فعال است.(17).

**كلاسC :** بتالاكتامازهاي Amp C اكثراً از باكتري هاي گرم منفي مقاوم به سفالوسپورين هاي وسيع الطيف جدا مي شوند. ژن آن ها بر روي پلاسميد ها حمل مي شوند. بتالاكتامازهاي Amp C، برخلاف ESBLs، سفالوسپورين هاي وسيع الطيف را هيدروليز مي كنند، اما توسط مهار كننده هاي بتالاكتامازها مانند كلاولانيك اسيد، مهار نمي شوند. بتالاكتامازهاي Amp C معمولاً روي كروموزوم بسياري از باكتري هاي گرم منفي، مثل سيتروباكتر، سراشيا و انتروباكتر كدگذاري مي شوند.(18).

**كلاسD :** بتالاكتامازهايOXA هستند. اين آنزيم ها شيوع كمتري داشته، اما از بتالاكتامازهاي وابسته به پلاسميد بوده و مي توانند اگزاسيلين و پني سيلين هاي ضد استافيلوكوك را هيدروليز كنند. انواع ديگر ESBLs وابسته به پلاسميد در این گروه شناسايي شده اند مانند IBC, GES, VEB, PER، اما غير شايع هستند و بيشتر در سودوموناس آئروژينوزا يافت مي شوند و محدود مي باشند.(14).

**گروه مینور** : در نهايت يك نوع از بتالاكتاماز ها، NDM-1 يا New Delhi متالوبتالاكتاماز است كه در سال 2009 توصيف شده و ژن آن در E.coli و كلبسيلا پنومونيه در هند و پاكستان گزارش شده است.(19).

**7-2-بررسي متون**

**1-7-2-** **بررسي متون در ايران**

دکتر منصوری و همکاران در سال 2009 در سنندج مطالعه ای را با عنوان گسترش روز افزون E.coli های ESBL مثبت در بیمارستانها را انجام دادند. در این مطالعه 158 گونه ی E.coli از نمونه های مختلف بیمارستانی ،از جمله ادرار بررسی شد و ژنهای ESBL نیز توسط روش PCR شناسایی شد. در این مطالعه ،از محیط کشت مک کانکی آگار و بلاد آگار استفاده و روش مورد استفاده Disc Agar Diffusion بود .تمامی مراحل بر اساس معیارهای CLSI اجرا شد.آنتی بیوتیک های تست شده:آمیکاسین 30 میکروگرم ،آمپی سیلین 30 میکروگرم ،سفالوتین 30 میکروگرم ،سفوتاکسیم 30 میکروگرم ،سفتازیدیم 30 میکروگرم ،سفتریاکسون 30 میکرو گرم ،سیپروفلوکسازین 5 میکروگرم ،جنتامایسین 10 میکروگرم ،تتراسایکلین 30 میکروگرم ،سفتی زوکسیم 30 میکروگرم و نورفلوکسازین 10 میکروگرم بودند. فراوانی E.coli های ESBL مثبت 16.8% بود. فراوانی E.coli های ESBL مثبت در ICU 22.2% وفراوانی آن در بخش عادی 22.2% و در بیماران سرپایی 44.6% بود.(20). دكتر نخعي مقدم در سال 1388-1387 در مشهد مطالعه اي به روش توصيفي با عنوان تعيين الگوي مقاومت آنتي بيوتيكي ايزوله هاي ادراري اشرشياكلي و شيوع بتالاكتامازهاي طيف وسيع در بين آنها انجام داد. در اين مطالعه، از نمونه هاي ادراري بيماران بستري در بيمارستان هاي قائم و 17 شهريور مشهد، 109 ايزوله اشرشياكلي با آزمايشات بيوشيميايي افتراقي شناسايي شد. آزمايش حساسيت آنتي بيوتيكي با روش انتشار در آگار مطابق متد Kirbey-Bauer انجام شد. براي شناسايي ايزوله هاي مولد بتالاكتاماز از آزمايش ديسك تركيبي استفاده گرديد. مقاومت ايزوله ها نسبت به كوتريموكسازول، ناليديكسيك اسيد، سيپروفلوكساسين، جنتامايسين، پلي ميكسين و نيتروفورانتوئين به ترتيب 05/55%، 86/34%، 10/21%، 84/12%، 75/2% و 83/1% بود. بيشترين و كمترين ميزان مقاومت به ترتيب نسبت به كوتريموكسازول و ايمي پنم بود. تعداد 35 ايزوله (11/32%) ESBL مثبت از 109 باكتري جدا شده، داراي تست مثبت از نظر بتالاكتاماز طيف وسيع بودند كه بين آنها مقاومت وابسته به آنتي بيوتيك هاي غير بتالاكتام ( كوتريموكسازول، كينولون ها، جنتامايسين و پلي ميكسين) بيشتر مشاهده شد(05/0P<).(21).

دكتر تشكري و همكارانش در سال 1387 در رفسنجان، مطالعه اي با عنوان توزيع فراواني مولدين آنزيم بتالاكتاماز در ايزوله هاي اشرشياكلي جدا شده از بيماران مبتلا به عفونت هاي ادراري به روش توصيفي انجام دادند. در اين مطالعه در طي 5 ماه، تعداد 146 ايزوله اروپاتوژن اشرشياكلي از تعداد 1634 نمونه ادرار مشكوك به عفونت ادراري مورد بررسي قرار گرفت. ايزوله ها با روش هاي استاندارد تعيين هويت شده و حساسيت آنتي بيوتيكي آنها با روش انتشار در ديسك بررسي گرديد. ايزوله هاي مقاوم به سفالوسپورين هاي نسل سوم، از نظر توليد آنزيم ESBL با روش ديسك تركيبي و مقاومت نسبت به آنتي بيوتيك هاي سفپيم، ايمي پنم و مروپنم ارزيابي شدند. مجموعاً 86/19% ايزوله ها نسبت به سفالوسپورين هاي نسل سوم مقاومت نشان دادند كه 27/10% آنها از نظر توليد ESBL مثبت بودند. همچنين در ايزوله هاي مولد بتالاكتاماز به درجاتي مقاومت چند دارويي مشاهده شد، ولي 100% موارد، حساسيت نسبت به آنتي بيوتيك هاي مروپنم و ايمي پنم نشان دادند، در صورتي كه در 66/26% موارد حساسيت به سفپيم ديده شد.(22).

دكتر رضا ترشيزي و همكاران در سال 1387 در شهر كرد مطالعه اي با عنوان بررسي فراواني شيوع ژن CTX-M در باكتري هاي روده اي توليد كننده بتالاكتامازهاي وسيع الطيف به روش واكنش زنجيره اي پليمراز(PCR) انجام دادند. در اين مطالعه 325 ايزوله انتروباكترياسه، از نمونه هاي باليني مختلف استفاده شده و مقاومت باكتري ها به روش ديسك ديفيوژن نسبت به ديسك هاي سفوتاكسيم، سفتازيديم، سفترياكسون و آزترئونام تعيين شده است. در كل 91 ايزوله (28%) مولد بتالاكتامازهاي وسيع الطيف بودند. اين ايزوله ها شامل 62 مورد اشرشيا (1/32%)، 20 ايزوله (2/20%) كلبسيلا و 9 ايزوله (6/34%) انتروباكتر بودند. در كل 15/14% از ايزوله ها واجد ژن بودند.(23).

دكتر مهرداد محمدي و همكارش در سال 1380 در فلاورجان مطالعه اي را با عنوان بررسي حساسيت آنتي بيوتيكي سويه هاي باكتريال جدا شده از عفونت هاي دستگاه ادراري انجام دادند. در اين مطالعه مقطعي، 209 بيمار مبتلا به عفونت فعال دستگاه ادراري مورد بررسي قرار گرفتند. از كل افراد مورد مطالعه 169 نفر (9/80%) را زنان و 40 نفر (1/19%) را مردان تشكيل مي دادند. در اين مطالعه 113 مورد (1/54%) اشرشياكلي، فراوان ترين ارگانيسم عامل عفونت ادراري شناخته شد. تست تعيين حساسيت آنتي بيوتيكي به روش Disc Agar Diffusion انجام شد. در كل 148 مورد (8/70%) از سويه ها واجد آنزيم بتالاكتاماز بودند.(24).

دكتر سلطان دلال و همكاران در طي سال 1388 در تهران مطالعه اي با عنوان شناسايي ژن مقاومت بتالاكتاماز CTX-M-1 در اشرشياكلي جدا شده از نمونه هاي باليني با روش واكنش زنجيره اي پليمراز انجام دادند. در اين مطالعه در مجموع 500 نمونه ادراري از بيمارستان هاي شهر تهران گرد آوري شده؛ پس از كشت بر روي محيط EMB آگار در دماي 37 درجه به مدت 24 ساعت و انجام تست هاي بيوشيميايي براي تأييد از بين 500 نمونه، 200 ايزوله اشرشياكلي جداسازي شد. بررسي حضور ژن CTX-M-1 با استفاده از روش PCR بر روي ايزوله هايي كه در تست هاي تشخيصي Diffusion agar disc و ديسك تركيبي جداسازي شده بود انجام گرفت. از 200 سويه مورد بررسي 128(64%) سويه مولد ESBL بوده، پس از طي پروسه PCRبراي شناسايي ژن CTX-M-1نشان داد از 128 سويه مولد ESBL 99 ايزوله (34/77%) حاوي ژن موردنظر بوده است .(25).

دكتر ميرصالحيان و همكارانش در طي سال 1384-1383 در تهران مطالعه اي با عنوان تعيين سويه هاي توليد كننده بتالاكتاماز وسيع الطيف در اشرشياكلي و بررسي الگوي مقاومت آنتي بيوتيكي آنها به روش ديسك آگار ديفيوژن انجام دادند. در اين مطالعه با روش ديسك آگار ديفيوژن، الگوي مقاومت آنتي بيوتيكي 392 سويه اشرشياكلي جدا شده از بيماران مختلف نسبت به 17 آنتي بيوتيك تعيين گرديد و سپس طبق دستورالعمل CLSI با روش ديسك تركيبي، باكتري هاي توليد كننده ESBL در بين آنها مورد شناسايي قرار گرفت. بيشترين درصد مقاومت نسبت به كربني سيلين(06/78%) و كمترين مقاومت نسبت به ايميدپنم(76/0%) مي باشد. مقاومت نسبت به 3 آنتي بيوتيك كربني سيلين (06/78%)، كوتريموكسازول (21/63%) و پيپراسيلين( 98/61%)، بالاتر از 50% مي باشد. در اين مطالعه بين 394 سويه اشرشياكلي 25/25% توليد كننده ESBL بودند كه بررسي مقاومت در اين باكتري ها، نشان دهنده مقاومت بالاي آنها به نسبت به ساير آنتي بيوتيك ها و مقاومت چندگانه در آنها مي باشد(26).

دكتر بابايي و همكاران در طي سال 1390-1389 در گرگان مقاله اي با عنوان فراواني اشرشياكلي هاي مولد آنزيم بتالاكتاماز وسيع الطيف منتشر كردند. در اين مطالعه 218 نمونه اشرشياكلي جدا شده از عفونت ادراري بيماران سرپايي مراجعه كننده به 6 آزمايشگاه تشخيص طبي شهر گرگان به مدت يك سال از تير ماه 89 تا تير ماه 90 مورد بررسي قرار گرفتند. مقاومت به سفوتاكسيم با روش كربي بائر انجام شد و براي ايزوله هاي مقاوم، تست تأييد فنوتيپي با ارزيابي افزايش قطر هاله عدم رشد در حضور ديسك سفوتاكسيم/ كلاولونيك اسيد انجام شد. همچنين حضور ژن هاي بتالاكتاماز وسيع الطيف bla TEM, bla SHV, bla CTX-M در سويه هاي ESBLs با استفاده از روش PCR مورد ارزيابي قرار گرفت. مقاومت به سفوتاكسيم در (1/32%) 70 ايزوله اشرشياكلي مشاهده شد كه از اين تعداد (6/88%) 62 نمونه در تست تأييدي به عنوان ESBLs شناسايي شدند. 28(2/45%)، 26(9/41%) و 6(7/9%) مورد از نمونه ها به ترتيب حاوي bla TEM, bla SHV, bla CTX-M بودند. (27).

دكتر شاهچراغي و همكارانش در طي سال 1386 در تهران مطالعه اي با عنوان بررسي وجود ژن هاي بتالاكتامازي bla TEM, bla SHV در سويه هاي اشرشياكلي مقاوم به آنتي بيوتيك جدا شده از نمونه هاي كلينيكي از بيمارستان هاي تهران انجام دادند. براي انجام اين تحقيق 200 سويه اشرشياكلي از نمونه هاي مختلف شامل ادرار، خلط، زخم، مايع مغزي نخاعي، از 5 بيمارستان تهران ايزوله و جمع آوري شد. براي تعيين مقاومت نمونه ها، تست آنتي بيوگرام با روشDisc diffusion صورت گرفت. آنتي بيوتيك هاي تحت بررسي عبارت بودند از: سفتازيديم، سفوتاكسيم، سفترياكسون، سيپروفلوكساسين، سفتي زوكسيم، ايمي پنم، كربني سيلين، آميكاسين، جنتامايسين، پيپراسيلين و پيپراسيلين/تازوباكتام. براي بررسي وجود ESBLs در سويه هاي ايزوله شده از روشDisc diffusion و تست فنوتيپي تأييدي استفاده گرديد و با استفاده از روش PCR ژن هاي bla TEM, bla SHV در سويه هاي ايزوله شده مورد بررسي قرار گرفتند. در اين تحقيق بخش اعظم نمونه ها مربوط به عفونت هاي ادراري بود، 178(89%). همچنين بيشترين ميزان مقاومت سوش ها در برابر كربني سيلين، 147(5/73%) و بيشترين ميزان حساسيت آنها در برابر ايمي پنم ديده شد 200(100%). همچنين 105 نمونه (5/52%) داراي ژن هاي ESBL بودند كه بيشترين ميزان مقاومت در اين نمونه ها نيز در برابر كربني سيلين ديده شد(95%). MIC سفتازيديم در اكثر نمونه ها (25/39%)، كمتر از 2 ميكروگرم بر ميلي ليتر بود. همچنين 48 مورد (24%) از سويه هاي مورد بررسي حاوي ژن bla TEMو 12 مورد (6%) از سويه ها حاوي ژن bla SHV بودند.(28).

دكتر هادي مهرگان و محمد رهبر در سال 1385-1384 در تهران مطالعه اي با عنوان شيوع اشرشياكلي توليد كننده ي بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در يك بيمارستان تخصصي در تهران انجام دادند. در كل 201 نمونه اشرشياكلي، از نمونه هاي باليني مختلف، از بيماران بستري در بيمارستان جمع آوري شد. 135 مورد (2/67%) از اين ها ثابت شد كه ESBL مثبت بوده و با استفاده از روش ديسك تركيبي يافت شدند. به وسيله آناليز تك متغيري، جنس مرد، كاتتريزاسيون داخل عروقي يا ادراري، جراحي اخير يا بستري شدن اخير و جدا سازي اشرشياكلي از نمونه هاي زخم يا لوله تنفسي، به عنوان ريسك فاكتور براي كسب باكتري هاي مقاوم يافت شدند. اگر چه، آناليز چند متغيري محاسبه اي دوتايي، ثابت كرد كه جداسازي اشرشياكلي از نمونه هاي ادراري از مردان ديگر در يك بخش بيمارستاني ديگر يا بيماران با جراحي قبلي، به طور معني داري، مرتبط با توليد ESBL بودند. ايمي پنم، آميكاسين و پيپراسيلين/ تازوباكتام به ميزان زيادي در برابر نمونه هاي ESBL مثبت در آزمايشگاه يافت شدند (به ترتيب حساسيت 100%، 1/91%، 2/85%). آن ها مقاومت همزمان را به ديگر آنتي بيوتيك ها مانند فلوروكينولون ها، جنتامايسين و تري متوپريم- سسولفامتوكسازول نشان دادند. 22 مورد (3/16%) از نمونه هاي ESBL مثبت به سفوتاكسيم، سفترياكسون و سفپودوكسيم مقاوم بودند، اما به سفتازيديم و پيپراسيلين/تازوباكتام حساس بودند.(29).

دكتر بهروزي و همكارانش در تهران در طي سال 1388-1387 مطالعه اي با عنوان بررسي ميزان شيوع توليد آنزيم هاي بتالاكتاماز گسترده طيف در گونه هاي كلبسيلا پنومونيه و اشرشياكلي جدا شده از نمونه هاي ادراري انجام دادند. اين مطالعه بر روي 735 سويه باسيل گرم منفي، شامل 620 سويه اشرشياكلي و 115 سويه كلبسيلا پنومونيه جدا شده از نمونه هاي ادراري انجام گرفت. توانايي توليد آنزيم بتالاكتاماز گسترده طيف در سويه هاي اشرشياكلي به روش ديسك تركيبي بررسي شد و مشخص گرديد از مجموع 620 نمونه جدا شده، 132 سويه اشرشياكلي (21%) مولد آنزيم بتالاكتاماز و همچنين از 115 نمونه كلبسيلا پنومونيه، 18 مورد(15%) مولد آنزيم بتالاكتاماز بودند. همچنين بيشترين ميزان مقاومت در سويه هاي كلبسيلا پنومونيه نيز به كاربني سيلين(95/99%)، آمپي سيلين(100%) و آميكاسين(78%) و كمترين ميزان مقاومت نيز به افلوكساسين (28%) گزارش گرديد. در مورد سويه هاي اشرشياكلي بيشترين ميزان مقاومت به آنتي بيوتيك آمپي سيلين و تتراسايكلين و كوتريموكسازول و كمترين ميزان مقاومت در مقابل آنتي بيوتيك هاي نيتروفورانتوئين، آميكاسين، جنتامايسين و سفتي زوكسيم گزارش شد .(30).

**2-7-2-** **بررسي متون در جهان**

در سال 2009-2008 در تگزاس، دكتر James H. Jorgensen و همكارانش مطالعه اي را با عنوان رديابي بتالاكتامازهاي وسيع الطيف نوع CTX-Mبه وسيله آزمايش با روش ميكرواسكن شبانه و روش هاي تأييدي ESBL انجام دادند. در اين مطالعه طبق دستورالعمل CLSI از روش هاي انتشار در ديسك و Broth Microdilution و ميكرواسكن در يك مجموعه از نمونه هاي توليد كننده ESBL كه از نظر ژنتيكي طبقه بندي شده بودند، انجام گرفت. از بين 100 نمونه انتروباكترياسه، كه قبلاً با استفاده از PCR و توالي ژن طبقه بندي شده بودند و اكثراً از نوع E.coli بودند، تعداد كل 83 نمونه CTX-M ESBL به تنهايي يا در تركيب با SHV ESBL توليد مي كردند. 17 نمونه ديگر هم فقط SHV يا TEM توليد مي كردند. در اين مطالعه روش انتشار در ديسك همه نمونه هاي توليد كننده ESBL را شناسايي كرد. روش ميكرودايلوشن 98% و روش ميكرواسكن 90% موارد ESBL را شناسايي كرد .(31).

در سال 2007، دكتر O. K. Azap و همكاران در تركيه مطالعه اي با عنوان فاكتورهاي خطر براي مثبت بودن بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در نمونه هاي E.coli اروپاتوژنيك جدا شده از عفونت هاي دستگاه ادراري اكتسابي از جامعه انجام دادند. تعداد كل 510 بيمار با عفونت ادراري كه به وسيله باكتري هاي گرم منفي ايجاد شده بودند، شامل اين مطالعه بودند. ESBL ، در 17 مورد از 269 مورد (3/6%) نمونه هاي E.coli اروپاتوژن از عفونت هاي ادراري بدون عارضه يافت شدند، و 34 مورد از 195 مورد (4/17%) نمونه هاي E.coliاز عفونت هاي ادراري عارضه دار يافت شد. بر طبق آناليز چند متغيري، بيش از 3 بار عفونت دستگاه ادراري در طي يك سال گذشته، استفاده از آنتي بيوتيك بتالاكتام در طي 3 ماه گذشته و بيماري پروستاتيك با ESBL مثبت بودن مرتبط بودند. درصد هايي از اين نمونه ها با مقاومت همزمان به تري متوپريم- سولفامتوكسازول، سيپروفلوكساسين و جنتامايسين، 6/4% در گروه ESBL منفي و 2/39% در گروه ESBL مثبت بودند. 46 مورد از 51 نمونه ي ESBL مثبت (2/90%)، به عنوان توليد كننده CTX-M-15 شناسايي شد.(32).

دكترSabrina J Moyo، در سال 2010 در تانزانيا مطالعه اي با عنوان مقاومت ضد ميكروبي در ميان توليد كننده ها و غير توليد كننده هاي بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در نمونه هاي ادراري انجام دادند. تعداد كل 270 مورد پاتوژن هاي ادراري E.coli و گونه هاي كلبسيلا از نمونه هاي كودكان و بزرگسالان از ژانويه تا مي 2010 در اين مطالعه وارد شدند. نمونه هاي E.coli و كلبسيلا براي تعيين حساسيت ضد ميكروبي به وسيله روش Disc Agar Diffusion آزمايش شدند. به علاوه اين نمونه ها براي تعيين فنوتيپ ESBL با استفاده از ديسك هاي سفوتاكسيم و سفتازيديم غربالگري شدند. نمونه هاي با حساسيت كاهش يافته با استفاده از نوارهاي E-test، ESBL تأييد شدند. از 270 نمونه، 138 مورد (1/51%) E.coli و 132 مورد (9/48%) گونه هاي كلبسيلا بودند. ESBL از 122 مورد (2/45%) از همه ي نمونه ها يافت شد. گونه هاي E.coliو كلبسيلاي توليد كننده ESBL در مقابل گونه هايي كه ESBLتوليد نمي كنند، به طور معني داري نسبت به كوتريموكسازول، سيپروفلوكساسين و ناليديكسيك اسيد مقاوم تر بودند(05/0P<). مقاومت چند دارويي در نمونه هاي توليد كننده ESBL نسبت به آنهايي كه ESBL توليد نمي كنند بيشتر بود .(33).

دكتر Aygul Dogan Celik، در سال 2006 در تركيه مقاله اي با عنوان بتالاكتاماز وسيع الطيف نوع CTX-M، در اشرشيا كلي جدا شده از عفونت هاي دستگاه ادراري فوقاني اكتسابي از جامعه در يك دانشگاه در بخش اروپايي تركيه منتشر كردند. E.coliتوليد كننده ي ESBL در عفونت هاي ادراري اكتسابي از جامعه به عنوان عامل اتيولوژيك شناخته شده است. در اين مطالعه، در طي سال 2006 در تركيه، در بيمارستان دانشگاه Trakya در مورد وقوع اشرشيا كلي توليد كننده ي ESBL كه از بيماران پذيرش شده با عفونت دستگاه ادراري اكتسابي از جامعه جدا شده بود، تحقيق انجام شد. نمونه هاي 11 بيمار مجرد شامل اشرشيا كلي توليد كننده ي ESBL از ميان 30 نمونه ي E.coli از بيماران پذيرش شده با علائم مشابه UTI فوقاني شناسايي شد. ESBL هاي نوع CTX-M، در همه ي 11 توليد كننده ي ESBL با استفاده از روش غربالگري كانوني ايزوالكتريك و واكنش زنجيره پلي مراز شناسايي شد. آناليز توالي CTX-M-1 را در يك نمونه، CTX-M-3 را در 3 نمونه و CTX-M-15 را در 7 نمونه نشان داد. نمونه هاي اشرشيا كلي توليد كننده ي ESBL در عفونت هاي ادراري اكتسابي از جامعه به طور گسترده اي در بخش اروپايي تركيه وجود دارند.(34).

دكتر Abdulrahman Abdulla Kader و همكارش در سال 2004-2003 در عربستان، مطالعه اي با عنوان شيوع و حساسيت ضد ميكروبي اشرشيا كلي و كلبسيلا پنومونيه توليد كننده ي بتالاكتاماز هاي وسيع الطيف در يك بيمارستان عمومي انجام دادند. تعداد كل 2455 نمونه ي باليني اشرشيا كلي و كلبسيلا پنومونيه براي توليد ESBL به روش ديسك ديفيوژن دوتايي آزمايش شدند و حداقل غلظت مهاري به ايمي پنم، مروپنم، پيپراسيلين/تازوباكتام، سفپيم، سيپروفلوكساسين، جنتامايسين و آميكاسين به وسيله روش Agar Dilution تعيين شد. از 2455 نمونه ي اشرشيا كلي و كلبسيلا پنومونيه كه آزمايش شدند، 268 مورد (11%) ESBL توليد مي كردند. فنوتيپ ESBL در 3/10% از 1674 نمونه ي E.coli و 2/12% از 781 نمونه ي كلبسيلا پنومونيه تعيين شد. اكثريت اين نمونه ها از ادرار (5/57%) و زخم ها (17%) جدا شدند. فقط 7% از نمونه هاي كشت خون توليد كننده ESBL بودند. در كل كارباپنم ها (ايمي پنم و مروپنم) فعاليت خوبي را در برابر نمونه هاي توليد كننده ي ESBL داشتند (بالاي 92% از نمونه ها حساس بودند). بالاي 96% از نمونه ها حساس به پيپراسيلين/تازوباكتام بودند. حساسيت نمونه ها به آميكاسين متفاوت بود و ميزان آن 8/72% براي E.coli و 62% براي كلبسيلا پنومونيه بود. جنتامايسين، سيپروفلوكساسين و سفپيم در برابر نمونه ها به ترتيب 6/58%، 55% و 8/22% فعاليت داشتند. يافته هاي ما افزايش بروز عفونت را با باكتري هاي توليد كننده ESBL و ميزان بالايي از مقاومت ضد ميكروبي را كه در ميان آن ها به وجود آمده بود، نشان دادند.(5).

دكتر Seok Hoon Jeong و همكاران در سال 2009، در كره مقاله اي را با عنوان استفاده از روش Broth Microdilution براي رديابي بتالاكتامازهاي وسيع الطيف و بتالاكتامازهاي Amp C در نمونه هاي انتروباكترياسه به وسيله استفاده از كلاولانيك اسيد و برونيك اسيد به عنوان مهار كننده ها منتشر كردند. در كل تعداد 100 نمونه از انتروباكترياسه ها آزمايش شدند. مولر هينتون براث شامل محلول هاي دو قسمتي رديفي از سفوتاكسيم، سفتازيديم، آزترئونام يا سفپيم با يا بدون هر كدام از كلاولانيك اسيد و برونيك اسيد آماده شد. يك كاهش هشت برابر يا بيشتر در MIC سفوتاكسيم، سفتازيديم، آزترئونام يا سفپيم در حضور CA و BA به صورت نتيجه ي مثبت براي ESBLيا بتالاكتاماز Amp C وابسته به پلاسميد به ترتيب در نظر گرفته شد. در آزمايش با كلاولانيك اسيد، بتالاكتام هاي وسيع الطيف كه شامل BA هم بودند (CTX-BA، CAZ-BA، ATM-BA، FEP-BA) ميزان بالايي از مثبت بودن براي توليد كننده هاي ESBL را نسبت به زماني كه بدون BA بودند، نشان داد. تركيب روش هاي BMD بر پايه ي CTX و CAZ با CA و BA حساسيت و اختصاصيت 100% را براي يافتن ESBL و PABLs نشان داد.(4).

در سال 2003، دكتر Supriya S. Tankhiwale و همكارانش در هند مقاله اي با عنوان ارزيابي بتالاكتامازهاي وسيع الطيف در نمونه هاي ادراري منتشر كردند. در اين مطالعه نمونه هاي ادراري از بيماران مبتلا به عفونت ادراري علامت دار كه به بيمارستان و دانشگاه باليني Indira Gandhi در ناگپور مراجعه كرده بودند، جمع آوري شده و با روش هاي مرسوم شناسايي شدند. تست هاي حساسيت ضد ميكروبي توسط روش Kirbey Bauer’s disc diffusion انجام شد. از 217 نمونه، 87 مورد باسيل گرم منفي مقاوم به سفوتاكسيم بودند. از نمونه ها، 42 مورد (3/48%) توليد كننده هاي ESBL شناخته شدند. E.coli ، كلبسيلا پنومونيه و آسينتوباكتر نمونه هاي توليد كننده ي ESBL بودند. مقاومت چند دارويي به طور مشخصي، در نمونه هاي توليد كننده ESBL (5/90%) نسبت به آنهايي كه ESBL توليد نمي كنند (9/68%)، به طور معني داري بالاتر بود (05/0P<).(35).

فصل سوم

روش تحقيق و شيوه اجراي طرح

**1-3-****نوع مطالعه**

اين مطالعه از نوع بررسي مقطعي يا Cross sectional طي سال هاي 1391-1390 انجام شد.

**2-3-** **جامعه آماري مورد مطالعه**

از 150 بيمار بستري در بيمارستان امام خميني اردبيل به دليل عفونت هاي ادراري، 150 كشت مثبت ادراري جمع آوري شده و مورد آزمايش قرار گرفت.

**3-3-** **روش نمونه گيري و جمع آوري اطلاعات**

اين مطالعه به منظور بررسي شیوع باكتري هاي توليد كننده بتالاكتامازهاي وسيع الطيف ESBLs عامل عفونت هاي ادراري باروش Disc Agar Diffusion انجام شد. از آنجا كه موضوع مورد نظر پيش از اين در استان اردبیل مورد مطالعه قرار نگرفته بود و با توجه به اهميت عفونت هاي ادراري ايجاد شده توسط ارگانيسم هاي ESBL مثبت به دليل مقاومت آنتي بيوتيكي تصميم گرفته شد تا اين مطالعه بر روي 150 بيمار مبتلا به عفونت ادراري بستري در بيمارستان انجام شود. در راستاي اين مطالعه 150 نمونه ادراري با كشت مثبت از آذر ماه سال 1390 تا مرداد ماه سال 1391 جمع آوري شد.نمونه گیری به روش نمونه گیری آسان تا رسیدن تعداد نمونه ها به تعداد مورد نظر تعیین شده (با توجه به بودجه ای که در اختیار قرار گرفته بود) وارد مطالعه شدند. بعد از جمع شدن تمام نمونه ها آزمايش بر روي آن ها شروع شد و بر روي محيط هاي كشت، باكتري ها كشت داده شدند و سپس جداسازي و شناسايي باكتري هاي كشت يافته انجام گرفت. بعد از آن سوسپانسیون باکتریایی تهیه شده و به محیط مولر هینتون آگار انتقال داده می شود و با استفاده از دیسک های آنتی بیوتیکی سفوتاکسیم و سفتازیدیم با و بدون کلاولانیک اسید و مقایسه ی هاله ی عدم رشد اطراف آنها وجود ESBL را ردیابی می کنیم.

**4-3-** **روش تجزيه و تحليل داده ها و بررسي آماري**

احتياج به روش هاي آماري خاصي نمي باشد و نتايج به صورت درصد بيان مي شود.

**5-3-** **ملاحظات اخلاقي**

نيازي به اخذ رضايت نامه از بيماران نمي باشد.

**6-3-** **روش كار**

**1-6-3-** **روش** **تهيه نمونه:**

در اين مطالعه، نمونه هاي ادراري 150 بيمار مبتلا به عفونت ادراري بستری در بیمارستان امام خمینی مورد آزمايش قرار گرفتند. نمونه هاي ادراري گرفته شده از بيماران، بر روي محيط هاي كشت بلاد آگار و EMB آگار كشت داده شدند و به مدت 24 ساعت در انكوباتور در دماي 37 درجه سانتيگراد قرار داده شدند. بعد از 24 ساعت، محيط كشت ها از نظر رشد كلني هاي باكتريايي مورد بررسي قرار گرفت. محيط EMB آگار به عنوان محيط انتخابي براي رشد باكتري هاي گرم منفي عمل مي كند. كلني هايي كه هم بر روي محيط بلاد آگار و هم بر روي محيط EMB آگار رشد كرده بودند، به عنوان باكتري گرم منفي، مورد توجه قرار گرفتند. نکته مهم اینجاست که، ائوزين موجود در محيط كشت EMBآگار مانع از رشد باكتري هاي گرم مثبت گرديده و فقط باكتري هاي گرم منفي توانايي رشد در اين محيط را دارا خواهند بود.

**رنگ آميزي گرم:** براي رنگ آميزي گرم ابتدا اسميري از باكتري تهيه كرده و به كمك حرارت بر روي لام فيكس مي كنيم. سپس از رنگ كريستال ويوله به مدت 30 ثانيه استفاده و سپس لام را شستشو می دهیم. در مرحله ي بعد از لوگول به مدت 45 ثانيه استفاده و دوباره لام شسته شد. سپس از رنگ بر يا الكل به مدت20-15 ثانيه استفاده كرده و بعد لام شستشو می دهیم. سپس از فوشين به مدت 30 ثانيه استفاده گرديد و دوباره لام شستشو داده شد. در نهايت لام را در كنار ميكروسكوپ گذاشتیم تا خشك گردد و بعد لامل گذاشته و در زير ميكروسكوپ مشاهده کردیم. اگر باكتري هاي قابل مشاهده به رنگ قرمز باشند نمايانگر گرم منفي بودن و اگر به رنگ ارغواني-آبي در بيايند نمايانگر گرم مثبت بودن مي باشد.

**تست اكسيداز:** ديسك اكسيداز روي لام قرار داده و روي آن سرم فيزيولوژيك ريختیم و بعد با سوآپ از كشت مثبت مقداري نمونه برداشته و روي ديسك قرار دادیم ،در صورت تغيير رنگ ديسك به بنفش تست مثبت بوده و اگر هيچ گونه تغييري در رنگ ديسك حاصل نشد تست منفي است. براي انتروباكترياسه ها تست اكسيداز منفي بود.

**تست كاتالاز:** يك قطره از محلول پراكسيد هيدروژن(H2O2)3% روي لام گذاشته شد و با سوآپ مقداري باكتري برداشته شد و در داخل آن حل گرديد. در موارد مثبت بلافاصله توليد گاز و حباب قابل مشاهده بود و در صورت منفي بودن هيچ گونه تغييري مشاهده نگرديد. براي انتروباكترياسه ها تست كاتالاز مثبت می باشد.

**2-6-3- تست هاي افتراقي انتروباكترياسه:**

**محيط SIM:** از اين محيط در دو مرحله استفاده می شود. در مرحله ی اول براي پي بردن به حركت باكتري استفاده مي شود. باكتري به صورت عمقي كشت داده شده و در انكوباتور قرار داده مي شود. بعد از 24 ساعت اگر متحرک باشد كاملاً مشخص مي گردد. در مرحله بعدي تست ايندول انجام می گیرد: چند قطره معرف كواكس روي محيط ريخته ، سپس تغيير رنگ محيط مورد بررسي قرار می گیرد. اگر قرمز باشد در اين صورت به صورت ايندول مثبت در نظر گرفته می شود.

**محيط اوره آز:** باكتري مشكوك در اين محيط كشت داده می شود و در انكوباتور به مدت 24 ساعت قرار داده می شود. تغيير رنگ اين محيط به رنگ صورتي نمايانگر توليد اوره آز و تجزيه اوره محيط مي باشد و تست مثبت در نظر گرفته مي شود.

**محيط بيس متيل red-VP :** در اين محيط مقداري از كلني باكتريايي را کشت می دهیم و در انكوباتور به مدت 24 ساعت قرار داده شد. بعد از اين مدت اين محيط به دو قسمت تقسيم می شود. در يكي از اين محيط ها معرف متيل رد اضافه می شود كه در صورت تغيير رنگ قرمز در محيط تست مثبت در نظر گرفته می شود. در لوله ی ديگر از معرف هاي VP استفاده می شود. معرف A ،آلفا نفتول مي باشد كه 15 قطره اضافه شده و از معرف Bكه KOH مي باشد 5 قطره اضافه می شود و بعد از 15 دقيقه تغيير رنگ به رنگ قرمز نشان دهنده مثبت بودن تست خواهد بود.

نتايج تمامي اين تست ها بر روي برگه اي ثبت گرديد و از روي چارت تشخيصي موجود در منابع معتبر، باكتري مجهول تشخيص داده شد.

**كشت روي محيط سيمون سيترات:** اين محيط كه در داخل لوله به شكل مورب ريخته شده، حاوي سيترات دوسديم به عنوان تنها منبع كربن مي باشد. با استفاده از لوپ مقداري از كلني باكتريايي برداشته می شود و در بخش مورب محيط كشت و در انكوباتور قرار داده می شود ، بعد از 24 ساعت محيط مورد بررسي قرار می گیرد. اگر باكتري قادر به استفاده از سيترات دو سديم به عنوان تنها منبع كربن باشد، باعث تغيير رنگ محيط به رنگ آبي مي گردد كه تست مثبت در نظر گرفته مي شود و اگر هيچ تغيير رنگي مشاهده نشود تست منفي مي گردد.

**الگوي تغيير محيط TSI:** اين محيط، حاوي سه نوع قند، آهن و آگار مي باشد. قندها 1% گلوكز، 1% سوكروز و 1% لاكتوز است. سولفات فرو (براي پي بردن به توليدH2S)، عصاره بافتي و يك نشانگر PH (متيل رد) سایر مواد موجود در آن است. باكتري ها هم در قسمت سطح و هم در قسمت عمق كشت داده و به مدت 24 ساعت در انكوباتور قرار داده می شوند. بعد از 24 ساعت از روي تغيير رنگ حاصل در محيط كشت به تشخيص باكتري از روي چارت تشخيصي می پردازيم. سه نوع تغيير رنگ در اين محيط قابل ملاحظه مي باشد:

1. **حالت اسيد/اسيد یا A/A:** كه در اين حالت سوكروز و يا لاكتوز تخمير مي گردد و مقدار زيادي اسيد توليد مي گردد كه باعث زرد شدن هر دو قسمت عمقي و سطحي مي گردد.
2. **حالت آلكالن/اسيد یا K/A :** كه در اين حالت تنها گلوكز تخمير شده و مقدار كمي اسيد توليد شده و باعث زرد شدن هر دو قسمت سطحي و عمقي مي گردد كه وقتي مواد حاصل از تخمير به CO2 و آب اكسيده گردند، از قسمت سطحي رها مي شوند و دكربوكسيلاسيون اكسيداتيو پروتئين ها با توليد آمين ادامه يافته و قسمت سطحي قليايي و قرمز مي گردد.
3. **حالت آلكالن/آلكالن یا K/K:** كه هيچ نوع تغيير رنگي مشاهده نمي شود و هر دو قسمت سطحي و عمقي به رنگ قرمز باقي مي مانند.

هر كدام از اين حالت ها مي توانند با توليد H2S همراه باشند كه با يك تغيير رنگ ديگر كه سياه شدن محيط است مشخص مي گردد و يا اين كه H2S توليد نمي كنند. انتروباكترياسه ها در برخورد با محيط TSI حالت هاي زير را نشان مي دهند:

**حالت آلكالن/اسيد همراه با توليدH2S :** در اين گروه باكتري هايي مثل پروتئوس ميرابليس، سالمونلا spp، سيتروباكتر فروندي و ادواردسيلا قرار دارند كه براي تشخيص اين 4 باكتري از محيط كشت افتراقي فنيل آلانين دآميناز استفاده مي گرد ،به اين صورت كه باكتري مورد نظر را در محيط PAD كشت داده و در انكوباتور به مدت 24 ساعت قرار داده می شود. بعد از طي اين مدت تغيير رنگ ايجاد شده به رنگ سبز نمايانگر مثبت بودن تست است . در اين صورت باکتری پروتئوس ميرابليس بوده و اگر منفي باشد ساير باكتري هاست كه براي تفكيك اين سه باكتري از محيط ليزين دكربوكسيلاز استفاده می شود كه اين محيط مایع و به رنگ بنفش است. باكتري در اين محيط حل شده و بر روي آن 1 سي سي از پارافين مذاب كه به دماي اتاق رسيده است اضافه می شود و در انكوباتور قرار داده شده و بعد از 24 ساعت بررسي می شود، اگر تغيير رنگی وجود نداشته باشد تست مثبت است. اما اگر تغيير رنگ به صورت زرد رنگ مشاهده گردد ليزين دكربوكسيلاز منفي می باشد. در صورت مثبت بودن تست ،باكتري سالمونلا sppيا ادواردسيلا تاردا است كه اين دو مورد را مي توان از طريق تست ايندول افتراق داد. سالمونلا spp ايندول منفي و ادواردسيلا تاردا ايندول مثبت مي باشد. در صورت منفي بودن، سيتروباكتر فروندي و سالمونلا پاراتيفي خواهد بود كه اين دو باكتري از طريق تست سيترات افتراق داده مي شوند( سيتروباكتر فروندي سيترات مثبت و سالمونلا پاراتيفي سيترات منفي مي باشد).

**حالت آلكالن/اسيد بدون توليد H2S:** در اين گروه باكتري هاي زيادي همانند پروويدنسيا، مورگانلا مورگاني، سيتروباكتر spp، شيگلا spp، اشرشياكلي، يرسينيا و سراشيا spp قرار دارند كه ابتدا تست PAD انجام گرفته و در صورت مثبت بودن تست، باكتري هاي مورگانلا مورگاني و پروويدنسيا از سايرين جدا می شوند كه براي افتراق اين دو از يكديگر از تست سيترات استفاده می شوند كه مورگانلا مورگاني سيترات منفي و پروويدنسيا سيترات مثبت هستند. اما در صورت منفي بودن تست، از تست موتيليتي يا حركت استفاده می شود: شيگلا و يرسينيا حركت منفي اند، اما سيتروباكتر، اشرشيا كلي و سراشيا حركت مثبت هستند.

**حالت اسيد/اسيد با توليد H2S:** در اين گروه باكتري هايي همانند پروتئوس ولگاريس، سيتروباكتر فروندي و سالمونلا آريزونا قرار دارند كه از تست PAD استفاده گرديد كه اگر PAD مثبت باشد، پروتئوس ولگاريس مي باشد و اگر منفي گرديد سيتروباكتر فروندي و سالمونلا آريزونا مي باشد.

**حالت اسيد/اسيد بدون توليد H2S:** در اين گروه اشرشيا كلي، كلبسيلا spp، انتروباكتر spp و سراشيا spp قرار دارند كه از طريق آزمون IMVC افتراق صورت گرفت. I بيانگر تست ايندول، M بيانگر متيل رد، V بيانگر آزمايش وژپرسكوئر و C بيانگر تست سيترات مي باشد. اگر آزمون IMVC به ترتيب به صورت - - + + باشد، اشرشيا كلي خواهد بود. اما اگر + + - - گردد، باكتري هاي ديگر مي باشد كه براي افتراق اين سه از يكديگر از تست حركت استفاده گرديد، كه اگر حركت منفي باشد، كلبسيلا خواهد بود و در صورت مثبت شدن حركت انتروباكتر و سراشيا بودند كه براي جداسازي آن ها از يكديگر از روش DNase استفاده گرديد كه انتروباكترDNase منفي و سراشيا DNase مثبت بود.

**روش كار**

**3-6-3- تهیه ی محیط کشت مک کانکی:**

در مرحله اول يك روز قبل از شروع كار ، محيط كشت مكانكي آگار (تهيه شده از شركت Pronadisa) را به صورت 50 گرم از پودر داخل يك ليتر آب مقطر آماده كرده و در داخل ارلن ماير ريخته، دهانه آن را محكم بسته و روي شعله قرار مي دهيم تا بجوشد. سپس آن را در اتوكلاو مي گذاريم تا به مدت 15 دقيقه در دماي 121 درجه سانتيگراد استريل شود. بعد از خارج كردن از اتوكلاو محيط كشت را در داخل پليت هاي 6 سانتي متري ريخته و صبر مي كنيم تا محيط جامد بشود. سپس نمونه هاي كشت باكتري های انتروباکتریاسه را در داخل محيط ها به روش تك كلوني كشت داده و آنها را داخل انكوباتور مي گذاريم تا به مدت 24-18 ساعت، در دماي 37 درجه سانتيگراد بمانند و رشد كنند.

**4-6-3-** **تهيه سوسپانسیون استاندارد نيم مك فارلند:**

براي آماده سازي يك سوسپانسيون ميكروبي مناسب به منظور تعيين حساسيت آنتي بيوتيكي آن لازم است تا تعداد باكتري هاي موجود در نمونه تلقيحي از معيار صحيح و قابل قبولي برخوردار باشد. تعداد اين باكتري ها براي انجام روش آنتي بيوگرام به طور قراردادي 108×5/1 سلول باكتري در هر ميلي ليتر تلقيح است. به منظور آماده سازي چنين سوسپانسيوني از لوله هاي استانداردي كه داراي نسبت هاي مختلف دو تركيب اسيد سولفوريك و كلريد باريم هستند، استفاده مي شود.(36).

لوله اي كه براي آنتي بيوگرام استفاده مي شود، لوله شماره نيم مك فارلند است كه مواد مورد نياز و روش تهيه آن در زير آمده است:

1. اسيد سولفوريك(H2SO4) يك درصد (وزني/حجمي):

الف) در حدود 90 ميلي ليتر آب ديونيزه را در داخل يك بشر يا ارلن 100 ميلي ليتري مي ريزيم.

ب) به كمك يك پيپت يك ميلي ليتري، مقدار يك ميلي ليتر اسيد سولفوريك خالص را به ظرف بالا اضافه مي كنيم.

ج) حجم مخلوط را به كمك آب ديونيزه به 100 ميلي ليتر رسانده و كاملاً مخلوط مي كنيم.

د) اين محلول را در ظروف شيشه اي درب دار مي توان بيش از يك سال نگه داري كرد.

2) كلريد باريم (BaCL2) 175/1 درصد (وزني/حجمي):

الف) مقدار 175/1 گرم كلريد باريم دو آبه را وزن كرده و در يك ارلن 100 ميلي ليتري مي ريزيم.

ب) در حدود 50 ميلي ليتر آب ديونيزه را به آن اضافه كرده و كاملاً مخلوط مي كنيم تا خوب حل شود.

ج) حجم محلول حاصل را با افزودن آب ديونيزه به 100 ميلي ليتر رسانده و كاملاً هم مي زنيم.

د) اين محلول هم در ظروف شيشه اي درب دار بيش از يك سال قابل نگه داري است.

**روش تهيه لوله نيم مك فارلند:**

1. در حدود 85 ميلي ليتر از اسيد سولفوريك 1% را به داخل يك ارلن 100 ميلي ليتري مي ريزيم.
2. با استفاده از پيپت نيم ميلي ليتري، مقدار 5/0 ميلي ليتر محلول كلريد باريم 175/1% را به درون ظرف حاوي اسيد ريخته و ظرف را به آرامي تكان مي دهيم.
3. حجم محلول را با افزودن اسيد سولفوريك 1% به 100 ميلي ليتر مي رسانيم.
4. مگنت دستگاه همزن را داخل ارلن انداخته و محلول حاصل را به مدت 5-3 دقيقه روي دستگاه همزن قرار مي دهيم.
5. محلول به دست آمده بايد در بررسي چشمي يك دست و هموژن بوده و فاقد هر گونه ذرات درشت و ناهمگون باشد. علاوه بر اين، مقدار جذب نوري اين محلول در طول موج 625 نانومتر بايد در محدوده 08/0 تا 1/0 باشد.
6. محلول تهيه شده را در حجم هاي مساوي با لوله هاي محيط كشت باكتري (در حدود 5 ميلي ليتر) در درون لوله هاي شيشه اي در پيچ داري كه قبلاً با اسيد شسته شده اند، تقسيم كرده و درب ظرف را كاملاً با پارافيلم مسدود مي كنيم.
7. اين لوله ها به مدت 3 ماه يا بيشتر در دماي اتاق و محل تاريك قابل نگه داري است.
8. هر بار قبل از استفاده از لوله هاي مك فارلند، لازم است لوله كاملاً ورتكس شده و يكنواخت گردد.

حال برای تهیه ی سوسپانسیون در ابتدا لوپ را استریل کرده و می گذاریم تا سرد شود سپس با لوپ چند کلنی از کشت های روز قبل برداشته و در لوله ی آزمایش حاوی 3 سی سی سرم فیزیولوژی استریل حل می کنیم تا کدورت آن مشابه کدورت لوله ی استاندارد نیم مک فارلند شود. اگر ميزان كدورت سوسپانسيون باكتري كمتر از نيم مك فارلند شد دوباره از باكتري به آن اضافه مي كنيم و اگر كدورت بيشتر شد، سرم فيزيولوژي اضافه مي كنيم تا زماني كه كدورت يكسان شود. در اين مرحله غلظت باكتري معادل نيم مك فارلند يا 108×5/1 به دست آمده است. تمام اين كارها بايد در شرايط كاملاً استريل، زير هود و در 10-7 سانتي متري شعله انجام شود.

**5-6-3-****تلقیح:**

برای انجام تلقیح ابتدا درب پلیت ها را در حدود 5-3 دقیقه باز می گذاریم تا رطوبت اضافی آن خارج گردد. سپس یک سوآپ استریل را داخل سوسپانسیون 5/0 مک فارلندی که در مرحله ی قبل تهیه کرده بودیم فرو می بریم ،سپس سوآپ را بالا آورده و روی دیواره ی قسمت خالی لوله فشار می دهیم و بخوبی می چرخانیم تا محلول اضافی آن بریزد. در مرحله ی بعد سوآپ را بصورت یکنواخت روی تمام سطح پلیت مولر هینتون آگار می کشیم ،سپس پلیت را در حدود 60 درجه می چرخانیم و مجددا سواپ را روی سطح پلیت می کشیم ،و این کار را برای بار سوم تکرار می کنیم. سپس سوآپ را یک دور کامل روی حاشیه ی آگار می کشیم. تمامی پلیت ها باید یک اندازه باشد .ما در این طرح از پلیت های 10 سانتی متری استفاده کردیم. در یک پلیت 10 سانتی متری 5 دیسک را می توان به صورت همزمان آزمایش کرد و در یک پلیت 15 سانتی متری 12 عدد دیسک قابل جایگذاری است. استفاده بیشتر از این تعداد باعث اورلپ زون های بدون رشد باکتری شده و در نتیجه اندازه گیری زون های بدون رشد باکتری و در نتیجه تخمین مقاومت آنتی بیوتیکی و بررسی وجود یا عدم وجود ESBL دچار اشتباه خواهد شد.

**6-6-3-****جایگذاری دیسک های آنتی بیوتیکی**

دیسک های آنتی بیوتیکی تا زمان استفاده باید در دمای مناسب نگه داری شود تا قدرت آنتی بیوتیکی آنها کاهش نیابد. برای نگه داری طولانی مدت دیسک ها را باید در دمای 14- نگه داشت. البته برای نگه داری دیسک ها می توان از دستگاه Container نیز بهره برد. با استفاده از این دستگاه دیسک ها تا یک هفته در دمای 8-2 درجه ی سانتی گراد نگهداری می شوند. ظرف حاوی دیسک ها را باید محکم بست. هنگام استفاده ابتدا بایستی ظرف مدتی در دمای اتاق بماند و بعد از اینکه به دمای اتاق رسید درب آن باز شود تا دیسک ها در اثر میعان مرطوب نشوند.جایگذاری دیسک ها باید در عرض 15 دقیقه در داخل هر پلیت انجام شود. جایگذاری دیسک ها با کمک دستگاه Dispenser یا با کمک فورسپس استریل انجام می شود ،بهتر است برای هر دیسک از فورسپس مجزا استفاده کرد تا محتوای آنتی بیوتیک ها با هم مخلوط نشود. با کمک فورسپس دیسک های آنتی بیوتیکی سفتازیدیم 30 میکرو گرم و دیسک سفوتاکسیم 30 میکرو گرم بدون کلاولانیک اسید و دیسک سفوتاکسیم حاوی کلاولانیک اسید و دیسک سفتازیدیم حاوی کلاولانیک اسید را یکی یکی روی محیط کشت مولر هینتون آگار قرار می دهیم و از بالا فشار می دهیم تا مطمئن شویم به خوبی با سطح آگار در تماس است. بعد از قرار دادن دیسک ها نباید آنها را تکان داده یا جابجا کنیم ،چون آنتی بیوتیک داخل دیسک ها بلافاصله بعد از جایگذاری آزاد می شود و در اطراف منتشر می شود و تکان دادن دیسک ها باعث می شود زون ها و در نتیجه نتایج حاصل از آنها غیر قابل اعتماد باشد. سپس پلیت را وارونه کرده و برای 16 تا 18 ساعت در دمای 35 درجه در انکوباتور قرار می دهیم.

**7-6-3-خواندن نتایج**

ابتدا باید کلنی ها و رشد باکتری ها را چک کنیم. الگوی رشد باکتری ها باید به صورت انبوه و گروهی و تقریبا یکنواخت باشد و اگر کلنی ها به صورت مجزا از هم باشد قابل قبول نیست و آنتی بیوگرام باید مجدد تکرار شود. کلنی های کوچک در داخل یا حاشیه ی مناطق بدون رشد باکتری معمولا سویه های پروتئوس بوده و نادیده گرفته می شود ،اما کلنی های بزرگتر در داخل مناطق بدون رشد باکتری نادیده گرفته نمی شود. این ها می توانند نشانه ی آلودگی یا مقاومت به آنتی بیوتیک ها در جمعیت های کوچک باشد ،پس باید از این کلنی های کوچک مجددا کشت تهیه شود. مشروط بر رشد رضایت بخش باکتری ها ،قطر مناطق بدون رشد باکتری ها را با کمک خط کش و به طور دقیق تر با کمک کالیپر یا قطرسنج اندازه گیری کرده و بر حسب میلی متر یادداشت می کنیم. اگر قطر هاله ی عدم رشد اطراف دیسک های سفتازیدیم و سفوتاکسیم دارای کلاولانات ،در مقایسه با سفتازیدیم و سفوتاکسیم بدون کلاولانات 5 میلی متر یا بیشتر بزرگتر باشد ارگانیسم ESBL مثبت اطلاق می شود.

**جدول 1-4:جدول متغيرها**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **نام متغير** | مستقل | وابسته | کمی | | کیفی | | تعريف کاربردي | مقیاس |
| پیوسته | گسسته | اسمی | رتبه ای |
| **ESBLS** |  | ■ |  |  | ■ |  |  | کاهش حداقل سه تیتررشد |
| **جنس** | ■ |  |  |  | **■** |  |  |  |
| **باکتری** | ■ |  |  |  | **■** |  |  |  |

فصل چهارم

نتايج

**جدول 2-4:** **فراواني سويه هاي باكتريايي مورد مطالعه**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| سويه | تعداد | درصد |
| اشرشياكلي | 123 | 82% |
| كلبسيلا | 15 | 10% |
| انتروباكتر | 7 | 67/4% |
| سيتروباكتر | 2 | 34/1% |
| پروتئوس | 2 | 34/1% |
| ادواردسيلا | 1 | 66/0% |
| كل نمونه ها | 150 | 100% |

از بين 150 سويه مورد مطالعه،123 مورد (82%)اشرشياكلي، 15 مورد (10%) كلبسيلا، 7 مورد(67/4%)انتروباكتر و بقيه مطابق جدول فوق بودند.

**نمودار1-4:****نمودار فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه**

**جدول 3-4:** **توزيع جنسي بيماران**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| جنس | فراواني | |
| تعداد | درصد |
| مرد | 51 | 34% |
| زن | 99 | 66% |
| كل | 150 | 100% |

از بين 150 بيماري كه نمونه هاي ادراري آن ها مورد آزمايش قرار گرفتند، 51 نفر مرد (34%) و 99 نفر زن (66%) بودند.



**جدول 4-4:** **فراواني سويه هاي ESBL مثبت**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| سويه باكتريايي | موارد ESBL مثبت | |
| تعداد | درصد |
| اشرشياكلي | 66 | 18/89% |
| كلبسيلا | 6 | 10/8% |
| انتروباكتر | 1 | 35/1% |
| سيتروباكتر | 1 | 35/1% |
| پروتئوس | 0 | 0 |
| ادواردسيلا | 0 | 0 |
| كل | 74 | 100% |

همان طوري كه در جدول مشاهده مي كنيم، از بين 74 نمونه ی ESBL مثبت 66 مورد، يعني 18/89% مربوط به اشرشياكلي و 6 مورد (10/8% ) مربوط به كلبسيلا بودند. انتروباکتر و سیتروباکتر هر کدام 1.35% ESBL مثبت بودند.

**نمودار3-4:نمودار فراوانی سویه های ESBL مثبت**

**جدول 5-4: فراواني سويه هاي مثبت با هر دو آنتي بيوتيك CTX و CAZ يا هر كدام به تنهايي**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| آنتي بيوتيك  موارد مثبت | سفوتاكسيم به تنهايي | سفتازيديم به تنهايي | سفوتاكسيم و سفتازيديم | مجموع |
| تعداد | 2 | 6 | 66 | 74 |
| درصد | 70/2% | 10/8% | 18/89% | 100% |

از بين 74 مورد ESBLمثبت ، 66 مورد (18/89%) از سويه ها نسبت به هر دو آنتي بيوتيك سفوتاكسيم و سفتازيديم ESBL مثبت شدند. 2 مورد (70/2%) از سويه ها به تنهايي نسبت به سفوتاكسيم و 6 مورد (10/8%) از سويه ها تنها نسبت به سفتازيديم ،ESBL مثبت شدند.

**نمودار4-4:نمودار فراوانی سویه های مثبت با هر کدام از آنتی بیوتیکها به تنهایی و هردو**

**جدول 6-4:** **توزيع جنسي در سويه هاي ESBL مثبت**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| جنس | فراواني | |
| تعداد | درصد |
| زن | 53 | 62/71% |
| مرد | 21 | 37/28% |
| كل | 74 | 100% |

از بين 74 مورد ESBL مثبت ، نسبت موارد مثبت در زنان به مردان بيشتر از 2 برابر است.

**نمودار 5-4:توزیع جنسی نمونه های ESBL مثبت**

فصل پنجم

بحث و نتيجه گيري

**1-5- بحث و نتيجه گيري:**

در مطالعه ی ما 150 نمونه ادراری بیماران بستری در بیمارستان بررسی شد. در مطالعه ی دکتر منصوری و همکاران در سنندج 158 گونه ی E.coli از نمونه های مختلف بیمارستانی ،از جمله ادرار بررسی شد.(20). دكتر نخعي مقدم در مشهد از نمونه هاي ادراري بيماران بستري ، 109 ايزوله ی اشرشياكلي را با آزمايشات بيوشيميايي افتراقي شناسايي نمود.(21).

دكتر تشكري و همكارانش در رفسنجان، در طي 5 ماه، تعداد 146 ايزوله اروپاتوژن اشرشياكلي از تعداد 1634 نمونه ادرار مشكوك به عفونت ادراري مورد بررسي قرار دادند.(22).

دكتر بهروزي و همكارانش در تهران مطالعه ای را بر روي 735 سويه باسيل گرم منفي، شامل 620 سويه اشرشياكلي و 115 سويه كلبسيلا پنومونيه جدا شده از نمونه هاي ادراري انجام دادند.(30).

دكتر Abdulrahman Abdulla Kader و همكارش 2455 نمونه ي باليني اشرشيا كلي و كلبسيلا پنومونيه را براي توليد ESBL به روش Disc Agar Diffusion آزمايش کردند.(5).

دكتر James H. Jorgensen و همكارانش در تگزاس، مطالعه اي را روی يك مجموعه شامل 100 نمونه ي انتروباکتریاسه توليد كننده ESBL كه از نظر ژنتيكي طبقه بندي شده بودند، انجام دادند.(31).

دكتر O. K. Azap و همكاران در تركيه 510 بيمار با عفونت ادراري را كه به وسيله باكتري هاي گرم منفي ايجاد شده بودند، بررسی کردند.(32).

نتيجه مطالعه اي که ما انجام دادیم در مقایسه با مطالعات قبلي که در ايران، براي رديابي باكتري هاي توليد كننده ESBL انجام شده در برخی موارد بیشتر و در برخی موارد کمتر است ،ولی در کل با نتایج آنها مطابقت دارد.

از 150 نمونه ادراري در مطالعه ما، 74 مورد (3/49%)،به عنوان مولد بتالاكتامازهاي وسيع الطيف یا ESBL مثبت شناخته شدند. در برخي مطالعات انجام شده در ايران ميزان باكتري هاي توليد كننده ESBL نسبت به مطالعه ما بيشتر است: در تحقيق دكتر مهرداد محمدي و همكارش در فلاورجان در كل 148 مورد (8/70%) از سويه ها واجد آنزيم بتالاكتاماز بودند(24). در تحقيق دكتر سلطان دلال و همكاران در تهران از 200 سويه مورد بررسي 128(64%) سويه مولد ESBL بودند(25) و در مطالعه دكتر شاهچراغي و همكارانش در تهران، 105 نمونه (5/52%) داراي ژن هاي ESBL بودند.(28).

در برخي مطالعات قبلي انجام شده در ايران درصد باكتري هاي توليد كننده ESBL نسبت به مطالعه ما پايين تر است: در مطالعه ی دکتر منصوری و همکاران در سنندج از 158 گونه ی E.coli از نمونه های مختلف بیمارستانی ، فراوانی E.coli های ESBL مثبت 16.8% بود(20) و درمطالعه دكتر نخعي مقدم در مشهد تعداد 35 ايزوله (11/32% ) ESBL مثبت از 109 باكتري جدا شده، داراي تست مثبت از نظر بتالاكتاماز طيف وسيع بودند.(21). در مطالعه دكتر ميرصالحيان و همكارانش در تهران از بين 394 سويه اشرشياكلي 25/25% توليد كننده ESBL بودند.(26). در مطالعه رضا ترشيزي و همكاران در كل 91 ايزوله (28%) مولد بتالاكتامازهاي وسيع الطيف بودند.(23). در مقايسه با مطالعات ديگر مي توان به اين نتيجه رسيد كه علت درصد بالاي موارد مثبت در مطالعه ما، مي تواند به دليل به كار بردن نمونه هاي بيماران بستري در بيمارستان باشد.

در مطالعات انجام شده در ساير كشورها: در مطالعه دكتر Supriya S. Tankhiwale در هند، 42 مورد (3/48%) از نمونه ها توليد كننده هاي ESBL شناخته شدند(35) ،كه تقريباً با ميزان به دست آمده از مطالعه ما يكسان است. در تحقيق دكتر Sabrina J Moyoدر تانزانيا، ESBL از 122 مورد (2/45%) از همه ي نمونه ها يافت شد(33) ،كه تا حدودی با ميزان به دست آمده از مطالعه ما يكسان هستند.

در مطالعه ي ما، نمونه هاي ادراري 150 بيمار زن و مرد وارد آزمايش شدند تا به روش Disc Agar Diffusion ، ESBL مثبت بودن يا منفي بودن نمونه ها مشخص شود. در مطالعه ما از بين 150 نمونه ادراري مورد مطالعه، مطابق جدول 2-4، 123 مورد (82%) اشرشياكلي، 15 مورد (10%) كلبسيلا، 7 مورد (67/4%) انتروباكتر، 2 مورد سيتروباكتر (34/1%)، 2 مورد پروتئوس (34/1%) و يك مورد (66/0%) ادواردسيلا بودند. شايع ترين عامل پاتوژن عفونت هاي دستگاه ادراري اشرشياكلي مي باشد(1)كه در مطالعه ما نيز اشرشياكلي بيشترين فراواني را داشت و 82% موارد را شامل شد.در مطالعه ی دکتر منصوری و همکارانش از بین 158 نمونه ی بیمارستانی فراوانی E.coli های ESBL مثبت 16.8% بود. فراوانی E.coli های ESBL مثبت در ICU 22.2% وفراوانی آن در بخش عادی 22.2% و در بیماران سرپایی 44.6% بود.(20).

از 150 بيمار مورد مطالعه طبق جدول 2-4، 66% از بيماران زن و 34% از بيماران مرد بودند. که مطابق با بیشتر بودن UTI در زنان است.(10).از بين 150 نمونه ي ادراري مورد آزمايش در مطالعه ی ما، 66 مورد نسبت به هردو آنتي بيوتيك سفوتاكسيم و سفتازيديم ESBL مثبت بودند. از بين 74 نمونه 66 مورد، يعني 18/89% مربوط به اشرشياكلي و 6 مورد (10/8% ) مربوط به كلبسيلا، 1 مورد انتروباكتر (35/1%) و 1 مورد سيتروباكتر (35/1%) بودند. سويه هاي پروتئوس و ادواردسيلا ESBL مثبت نبودند. در مطالعه دكتر بهروزي و همكارانش در تهران از مجموع 620 نمونه جدا شده، 132 سويه اشرشياكلي(21%) مولد آنزيم بتالاكتاماز و همچنين از 115 نمونه كلبسيلا پنومونيه، 18 مورد( 15%) مولد آنزيم بتالاكتاماز بودند(30) كه اين ميزان با مطالعه ما مطابقت ندارد و ميزان موارد ESBL مثبت اشرشياكلي در مطالعه ما بسيار بيشتر از اين مطالعه است. در مطالعه دكتر Abdulrahman Abdulla Kader و همكارش در عربستان، از 2455 نمونه ي اشرشيا كلي و كلبسيلا پنومونيه كه آزمايش شدند، 268 مورد (11%) ESBL توليد مي كردند. فنوتيپ ESBLدر 3/10% از 1674 نمونه ي E.coli و 2/12% از 781 نمونه ي كلبسيلا پنومونيه تعيين شد(5). در اين مورد هم بر خلاف مطالعه ما، درصد موارد ESBL مثبت اشرشياكلي نسبت به مطالعه ما بسيار كمتر است.

از بين 74 مورد ESBL مثبت ،66 مورد (10/89%) از سويه ها نسبت به هر دو آنتي بيوتيك سفوتاكسيم و سفتازيديم ESBL مثبت بودند و مثبت شدند. 2 مورد (70/2%) از سويه ها به تنهايي به سفوتاكسيم و 6 مورد (10/8%) از سويه ها تنها به سفتازيديم ESBL مثبت شدند. مي توان به اين نتيجه رسيد كه موارد بيشتري از باكتري ها نسبت به سفتازیدیم ESBL مثبت هستند. در مطالعه ی دكتر هادي مهرگان و محمد رهبر 22 مورد (3/16%) از نمونه هاي ESBL مثبت به سفوتاكسيم، سفترياكسون و سفپودوكسيم مقاوم بودند، اما به سفتازيديم و پيپراسيلين/تازوباكتام حساس بودند.(29).

**2-5- پيشنهادات:**

مطالعه ما فقط بر روي نمونه هاي ادراري بيماران بستري در بيمارستان انجام شد كه بهتر است همزمان در بيماران سرپايي نيز انجام شده و نتايج با هم مقايسه شوند. همچنين در اطفال نيز انجام اين مطالعه بايد صورت بگيرد. بهتر است بعد از مرحله نهايي PCR، براي شناسايي ژن هاي توليد كننده ESBL انجام شود. مطالعه ما بهتر است با تعداد بيشتري از نمونه هاي ادراري انجام شود و همچنين مي توان بر روي نمونه هاي باليني ديگري از اين روش براي شناسايي باكتري هاي توليد كننده ESBL استفاده كرد. همچنین بهتر است از آنتي بيوتيك هاي بيشتري مانند آزترئونام و سفپيم و ... استفاده كرد.

**3-5- محدوديت ها:**

روش Disc Agar Diffusion ، مانند سایر روش های تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی يك روش in vitro است و ممکن است با مقادیر موجود در in vivo متفاوت باشد. آلوده شدن احتمالي محيط هاي كشت و در نتيجه عدم رسيدن به نتيجه مطلوب و لزوم تكرار همان مرحله، نيز جزو محدوديت ها بود. زمان بر بودن انجام آزمايشات، کمیاب و گران شدن دیسک های آنتی بیوتیکی نسبت به گذشته نيز از محدوديت هاي ديگر اين مطالعه بود.

**Abstract**

Prevalence of Extended-Spectrumβ-lactamases (ESBLs) producing Entrobactriacea isolated from Urinary samples.

Background and Aim: urinary tract infection are the most common infection in human.the most cases are caused by (ESBLs) producing Entrobacteriacea.responsible for their resistance to beta-lactam antibiotics and this makes it difficult to treat them.In this study our purpose is evaluate the prevalence of Extended-Spectrumβ-lactamases (ESBLs) producing Entrobactriacea isolated from Urinary samples.

Method: this study was performed on 150 isolated bacteria from individuals with UTI who are admitted to Imam Khomeini hospital in Ardebil. extended spectrum beta-lactamase producing Entrobacteriacea detected by Disc Agar Diffusion method as recommended by CLSI with using antibiotic discs containing ceftazidim (30 μg) and cefotaxim (30 μg) either alone or in combination with clavulanic acid.

Result: the study included 51 men (34%) and 99 women (66%) respectively.Among the 150 bacteria tested 74 were identified as the ESBL producing and 66 cases of these bacteria were ESBL produsing with both ceftazidim and cefotaxim antibiotics disc.

Conclusion: results showed that with using Disc Agar Diffusion method ESBL was produced in 50% of urinary samples and due to that suitable treat must be consider.

Key words: Extended spectrum Beta-Lactamases , Entrobacteriacea, Disc Agar Diffusion.

منابع

1. Jawets E, Melnick JL, editors. Review of medical microbiology. 25th ed. New York, Appleton & Lange. 2010.115-122.

2. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. [A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure.](http://aac.asm.org/cgi/reprint/39/6/1211?ijkey=c8e8586b43c1d0526d3f78dcfadea52ad10fb65d&keytype2=tf_ipsecsha) Antimicrob Agents Chemother. 1995; 39(6): 1211-33.

3. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase producing Escherichia coli in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol. 2004;42(3):1089-94.

4. Hoon Jeong S, Song W, Kim J, et al. Broth Microdilution Method To Detect Extended-Spectrum Beta-Lactamases and AmpC Beta-Lactamases in enterobacteriaceae Isolates by Use of Clavulanic Acid and Boronic Acid as Inhibitors. JClin Microbiol. 2009;47(1) : 3409–3412.

5. Kader AA, Kumar A. Prevalence and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in a general hospital. JAnn Saudi Med. 2005;25(3):239–242.

6.  Mathew AG, Cissell R, Liamthong S. Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: a United States perspective of livestock production. Foodborne Pathog. Dis. 2007; 4 (2): 115–133.

7. Identification of Enterobacteriaceae. National Standard Method, BSOP ID 16 Issue**.** Health Protection Agency .2010;2-41

8. Macfaddin, Jean F. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. J of Clin Microbial. 1980; 21: 441.173-183

9. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA, eds. Medical microbiology. 5th ed. Philadelphia: Elesvier Mosby; 2005 .91-99

10.  Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. (2008). [Harrison's principles of internal medicine](http://www.mhprofessional.com/product.php?isbn=0071466339&cat=4) (17th ed.). New York: McGraw-Hill Medical Publishing Division. [ISBN](http://en.wikipedia.org/wiki/International_Standard_Book_Number) [978-0-07-146633-2](http://en.wikipedia.org/wiki/Special:BookSources/978-0-07-146633-2).

11. Tanagho EA, McAninch JW, editors. Smiths' General urology.17th ed. Philadelphia, McGrow Hill. 2008. 142-149

12. Rodriguez-Bano J, Navarro MD , Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamaseproducing Escherichia coli in nonhospitalized patients. J Clin Microbiol. 2004; 42(3): 1089-94.

13. Ambler RP. [The structure of beta-lactamases.](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=pubmed&list_uids=6109327&dopt=Abstract) Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1980;289: 321-31.

14. Bradford PA. [Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat.](http://intl-cmr.asm.org/cgi/reprint/14/4/933) Clin Microbiol Rev. 2001; 48:933-51.

15. Paterson DL, Hujer KM, Hujer AM, et al. [Extended-spectrum beta-lactamases in Klebsiella pneumoniae bloodstream isolates from seven countries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type b-lactamases.](http://aac.asm.org/cgi/reprint/47/11/3554) Antimicrob Agents Chemother.2003; 47:3554-60.

16. Woodford N, Ward E, Kaufmann ME, et al. [Molecular characterisation of Escherichia coli isolates producing CTX-M-15 extended-spectrum β-lactamase (ESBL) in the United Kingdom](http://www.hpa.org.uk/cfi/armrl/ARMRL_posters/Woodford%20ECCMID%202004%20poster.pdf). Health Protection Agency. 2006; 11-19.

17. Philippon A, Arlet B, Jacoby GA. [Plasmid-determined AmpC-type β-lactamases](http://aac.asm.org/cgi/reprint/46/1/1.pdf). Antimicrob Agents Chemother. 2002; 46(1):1-11.

18. Nordmann P, Cuzon G, Naas T . The real threat of Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis. 2009; 9(4): 228–36.

19. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Dis. 2010 (9): 597–602.

20. Mansouri M, Ramazanzadeh R.Spread of Extended-Spectrum Beta-Lactamase producing Escherichia Coli clinical isolate in Sanandaj Hospitals. Journal of biological science, 2009, 9(4):362-366.

21. نخعي مقدم م، مشرفي ش. تعيين الگوي مقاومتآنتي بيوتيكي ايزوله هاي ادراري اشرشياكلي و شيوع بتالاكتامازهاي طيف وسيع در بين آنها. مجله دانشگاه علوم پزشكي و خدمات بهداشتي درماني سبزوار، دوره 16، ش 4، (زمستان 1388): 233-228.

22. Tashkori M, Farokhnia M, Zia Sheikhaleslami N, Mirzaei T, Yosefi H, et al. Evalution of Producing extended spectrum Beta-Lactamase among Isolated Escherchia Coli from Patients Suffering from Urinary Tract Infections. J Rafsanjan Univ Med Sci .2011; 10(1): 62-68.

23. ترشيزي ر، زمان راد ب، مختاريان ك، كريمي ع. بررسي فراواني شيوع ژنCTX-M در باکتری های روده اي توليد كننده بتالاكتامازهاي وسيع الطيف به روش واكنش زنجيره اي پليمراز. مجله دانشگاه علوم پزشكي شهركرد، دوره 13، ش 3، (مرداد و شهريور 1390)، 17-9.

24.محمدي مريم، محمدي مهرداد. بررسي حساسيت آنتي بيوتيكي سويه هاي باكتريال جدا شده از عفونت هاي دستگاه ادراري. مجله علوم پزشكي دانشگاه آزاد اسلامي، دوره 16، ش 2، (تابستان 85): 99-95

25. سلطان دلال م م، مبصري گ، فلاح ج، اشراقيان م ر، رستگار ع، ملاآقاميرزايي ه و همكاران. شناسايي ژن مقاومت بتالاكتاماز CTX-M-1 در اشرشياكلي جدا شده از نمونه هاي باليني با روش واكنش زنجيره اي پليمراز. مجله دانشكده پزشكي، دانشگاه علوم پزشكي تهران، دوره 69،ش 1(فروردين 1390): 21-16.

26. Mirsalehian A, Jabalameli F, Mirafshar S.M, Bazarjani F, Gorjipor A, Goli H.R. Determination of antimicrobial resistance patterns and extended spectrum β lactamases in clinical isolates of E. coli. J of Tehran Uni of Med Sci. 2008; 66(6): 373-378.

27. Babaii Kochaksaraii M, NasrolahiOmran A, Javid N, Shakeri F, Yazdi M, Ghaemi E A. Extended spectrum beta lactamase producing E.coli isolated from Gorgan, North of Iran. J of Gorgan Univ Med Sci. 2010-11;6(1):51-58.4

28. شاهچراغي ف، نصيري س، نويري ه. بررسي وجود ژن هاي بتالاكتامازي bla TEM, bla SHVدر سويه هاي اشرشياكلي مقاوم به آنتي بيوتيك جدا شده از نمونه هاي كلينيكي از بيمارستان هاي تهران. مجله ميكروب شناسي پزشكي ايران، سال 1، ش 3( پاييز 1386): 8-1.

29. Mehrgan H, Rahbar M. Prevalence of extended-spectrum beta lactamase-producing Escherichia coli in a tertiary care hospital in Tehran, Iran. International Journal of Antimicrobial Agents. 2008; 31: 147–151.

30. بهروزي آ، رهبر م، جليل وند. بررسي ميزان شيوع توليد آنزيم هاي بتالاكتاماز گسترده طيف در گونه هاي كلبسيلا پنومونيه و اشرشياكلي جدا شده از نمونه هاي ادراري. مجله ميكروب شناسي پزشكي ايران، سال 4، شماره 1 ( بهار 1389):34-27.

31. Jorgensen J H, McElmeel M. L, Fulcher C, Zimmer B. L. Detection of CTX-M-Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBLs) by Testing with MicroScan Overnight and ESBL Confirmation Panels. J of Clin Microb. 2010; 48(1):120–123.

32. Azap O. K, Arslan H, Serefhanoglu K, olakoglu S. C,

Erdogan H, Timurkaynak F, et al. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic Escherichia coli isolated from

community-acquired urinary tract infections. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2009; 16: 147–151.

33. Moyo S, Aboud S, Kasubi M, Lyamuya E, Maselle S. Antimicrobial resistance among producers and non-producers of extended spectrum betalactamases in urinary isolates at a tertiary Hospital in Tanzania. Muhimbili Univ of Health and Allied Sci. 2010; 3:348.

34. Dogan Celik A, Yulugkural Z, Kuloglu F, Eroglu C, Torol S, Vahaboğlu H, et al. CTX-M Type Extended Spectrum beta-Lactamases in Escherichia coli Isolates From Community Acquired Upper Urinary Tract Infections at a University in the European Part of Turkey. J Microbiol Immunol Infect. 2010;43(2):163–167.

35. Tankhiwale S, Jalgaonkar S, Ahamad S, Hassani U. Evaluation of extended spectrum beta lactamase in urinary isolates. Indian J Med Res. 2004; 120: 553-556.

36. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.Twenty- First Informational Supplement M100-S18. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2011.