دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل
دانشکده پزشکی

پایان نامه

جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای پزشکی

عنوان:

بررسی کارایی روش تغییر یافته CLSI جهت ردیابی باکتری های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) جدا شده از عفونتهای ادراری

استاد راهنما:

دکتر هادی پیری

استاد مشاور:

دکتر محسن ارزنلو

نگارش:

الهه شیرازی

مهر ماه ۹۲

شماره پایان‌نامه:

۰٤۵۵

تقدیم به همسر مهربانم

که همواره با قلبی سرشار از عشق و مهربانی ناملایمات روزگار را برایم ناچیز ساخته و لحظاتم را پر از شادی و زیبایی کرده است.

و

پدر بزرگوار و مادر مهربانم؛ آنان که از خواسته هایشان گذشتند، سختی ها را به جان خریدند، و خود را سپر بلای مشکلات کردند، تا من به جایگاهی که اکنون در آن ایستاده ام برسم.

و با سپاس فراوان

از جناب آقای دکتر پیری و جناب آقای دکتر ارزنلو که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید.

و با قدردانی از دوستان عزیزم سرکار خانم دکتر آیدا ورقایی و سرکار خانم دکتر پریوش رحیم زاده که در دوران تحصیل پزشکی همواره یاریگر و پشتیبان من بوده اند.

عنوان: بررسی کارایی روش تغییر یافته CLSI جهت ردیابی باکتری های تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBL) جدا شده از عفونتهای ادراری

چکیده

مقدمه : عفونت های ادراری از شایعترین بیماریهای میکروبی در انسان می باشند و بیشتر موارد عفونت های ادراری توسط چند جنس از باکتری های خانواده انتروباکتریاسه ایجاد می شود. تاخیر در ردیابی و گزارش باکتریهای تولید کننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف منجر به بستری شدن طولانی تر در بیمارستان و افزایش موربیدیتی و مرگ و میر و تحمیل هزینه های اضافه به بیماران می گردد. بنابراین ما تصمیم گرفتیم تا کارایی روش تغییر یافته CLSI را در شناسایی سویه های تولید کننده ی بتالاکتامازهای وسیع الطیف در باسیلهای گرم منفی جدا شده از عفونتهای ادراری مورد مطالعه قرار دهیم.

روش ها: باکتری های جدا شده از عفونت های ادراری توسط تستهای بیوشیمیایی تعیین هویت شدند و جهت تعیین تولید بتالاکتاماز های وسیع الطیف با روش استاندارد و تغییر یافته CLSI مورد بررسی قرار گرفتند. در این مطالعه از دیسک های آنتی بیوتیکی آغشته به آنتی بیوتیک های سفوتاکسیم و سفتازیدیم با کلاوولونیک اسید در روش اولیه و برونیک اسید در روش تغییر یافته جهت شناسایی بتالاکتاماز های وسیع الطیف در باکتری های تولیدکننده ی بتالاکتامازهای وسیع الطیف با استفاده از معیارهای تغییر یافته (CLSI) استفاده شد.

نتایج: این مطالعه شامل ۱۱۲ نفر مرد (۳۲٪)و ۲۳۸ نفر زن (۶۸٪) بود. از بین ۳۵۰ نمونه ی ادراری در مرحله اول ۱۲۴ مورد(۳۵/۴٪) و در مرحله دوم ۱۰۵ مورد (۳۰٪) با روش M.CLSI به عنوان ESBL مثبت شناخته شدند. از ۱۰۵ نمونه ۱۰۲ مورد (۹۷/۱۴٪) نسبت به هر دو آنتی بیوتیک ESBL مثبت بودند.

نتیجه گیری: نتایج نشان می دهند روش تغییر یافته CLSI در شناسایی باکتری های ESBL کارایی قابل قبولی دارد. با استفاده از روش M.CLSI ، تولید بتالاکتامازهای وسیع الطیف در نمونه های ادراری بیماران مبتلا به عفونت ادراری تقریباً در نزدیک به ۳۰٪ نمونه های جامعه دیده می شود که حدود ۸۵٪ روش استاندارد است.

کلمات کلیدی: بتالاکتامازهای وسیع الطیف ،انتروباکتریاسه، روش Modified CLSI

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول (طرح تحقیق..... ۱
مقدمه و بیان مسئله..... ۲
تعریف واژه های کلیدی..... ۳
اهداف و فرضیات..... ٤
هدف کلی..... ٤
اهداف اختصاصی..... ٤
هدف کاربردی..... ٥
فرضیات تحقیق..... ٥
فصل دوم بررسی متون..... ٦
انتروباکتریاسه ها..... ۷
عفونت دستگاه ادراری..... ۱۰
اپیدمیولوژی..... ۱۱
پاتوژنز..... ۱۲
UTI حاصل از کاتتریزاسیون..... ۱٦
اشکال بالینی..... ۱۷
تعیین محل عفونت..... ۱۷
سیستیت حاد..... ۱۷
پیلونفریت حاد..... ۱۸
پیلونفریت آمفیزماتو..... ۱۹
آبسه کلیه..... ۱۹
تشخیص..... ۲۰
آنتی بیوتیک های مورد استفاده در درمان..... ۲۱
پنی سیلین ها..... ۲۱
سفالوسپورین ها..... ۲۱
فلوروکینولون ها..... ۲۲

آمینوگلیکوزیدها..... ۲۲
تری متوپریم-سولفامتوکسازول..... ۲۲
نیتروفورانتوئین..... ۲۳
بتالاکتامازهای وسیع الطیف..... ۲۳
طبقه بندی ESBL ها..... ۲۵
اسید برونیک..... ۲۷
تست های جداسازیESBL ۲۷
بررسی متون..... ۳۱
بررسی متون در ایران..... ۳۱
بررسی متون در جهان..... ۳۷
فصل سوم (شیوه اجرای تحقیق..... ٤۲
نوع مطالعه..... ٤۳
جامعه آماری مورد مطالعه و روش جمع آوری اطلاعات..... ٤۳
روش تجزیه و تحلیل داده ها و بررسی آماری..... ٤٤
ملاحظات اخلاقی..... ٤٤
روش کار..... ٤٤
فصل چهارم (نتایج..... ٥۷
فصل پنجم (بحث و نتیجه گیری..... ٦۷
منابع..... ۷٥

فهرست نمودارها

نمودار ۱-٤ توزیع جنسی بیماران ۵۸
نمودار ۲-٤ فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه ۵۹
نمودار ۳-٤ فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه در مرحله اول ٦۰
نمودار ٤-٤ فراوانی باکتری های ESBL مثبت به تفکیک آنتی بیوتیک در مرحله اول ٦۱
نمودار ۵-٤ فراوانی کشت های ESBL مثبت مرحله دوم ٦۲
نمودار ٦-٤ فراوانی باکتری های ESBL مثبت به تفکیک آنتی بیوتیک در مرحله دوم ٦۳
نمودار ۷-٤ فراوانی سویه های ESBL مثبت در مرحله دوم ٦٤
نمودار ۸-٤ توزیع جنسی در سویه های ESBL مثبت در مرحله دوم ٦۵
نمودار ۹-٤ :مقایسه نتایج مرحله اول و دوم در شناسایی باکتری های ESBL مثبت ٦٦

فهرست جداول

جدول ۱-٤ توزیع جنسی بیماران ۵۸
جدول ۲-٤ فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه ۵۹
جدول ۳-٤ فراوانی سویه های باکتریایی مورد مطالعه در مرحله اول ٦۰
جدول ٤-٤ فراوانی باکتری های ESBL مثبت به تفکیک آنتی بیوتیک در مرحله اول ٦۱
جدول ۵-٤ فراوانی کشت های ESBL مثبت مرحله دوم ٦۲
جدول ٦-٤ فراوانی باکتری های ESBL مثبت به تفکیک آنتی بیوتیک در مرحله دوم ٦۳
جدول ۷-٤ فراوانی سویه های ESBL مثبت در مرحله دوم ٦٤
جدول ۸-٤ توزیع جنسی در سویه های ESBL مثبت در مرحله دوم ٦۵
جدول ۹-٤ :مقایسه نتایج مرحله اول و دوم در شناسایی باکتری های ESBL مثبت ٦٦

فهرست علائم اختصاری:

UTI: Urinary Tract Infection

E.Coli: Esherichia Coli

Spp: Species

CTX/BA: Cefotaxime / Boronic Acid

CAZ/BA: Ceftazidime/ Boronic Acid

CAZ: Ceftazidime

CA: Clavulanic Acid

BA: Boronic 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

طرح تحقیق

۱-۱- مقدمه و بیان مسأله

انتروباکتریاسه ها، گروه بزرگ و ناهمگونی از باسیل های گرم منفی هستند که محل زندگی آنها روده انسان است. آنها بی هوازی اختیاری، اکسیداز منفی و کاتالاز مثبت هستند. گونه های شایع خانواده انتروباکتریاسه شامل اشرشیا، کلبسیلا، سالمونلا، شیگلا، انتروباکتر، پروتئوس، یرسینیا و... هستند. بیشتر گونه ها پاتوژن روده ای نیستند اما فرصت طلب هستند.(۱) این باکتریها 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.(۲)

آنزیم های بتالاکتاماز ، مهم ترین و وسیع ترین آنزیم های تخریب کننده ی آنتی بیوتیک ها هستند که شامل انواع مختلفی همانند سفالوسپورینا ز ها ، پنی سیلیناز و...می باشند و به دلیل طیف عملکردی که روی آنتی بیوتیک ها دارند باعث افزایش مرگ و میر، بستری های طولانی مدت بیمارستانی و هزینه های بالای درمانی می 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.(۳)

در سالهای 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