



دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی درمانی استان اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل
دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد میکروبی شناسی

عنوان:

تعیین فراوانی توزیع جزایر بیماری زایی PAI ICFT073, PAI II536, PAI III536, PAI IV536

در ایزوله های اشیشیا کلی یوروپاتوژن جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های

وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال 1394-1395

استاد راهنما:

دکتر هادی پیری دوگانه

استاد مشاور:

دکتر محسن ارزنلو

نگارنده:

شیما فراشی

مرداد 1396

شماره پایان نامه:

029

به نام یگانه خالق، هستی

تقدیم به:

محضر ارزشمند سنگ صبورم، بهترین دوست زندگیم

پدر عزیزم

او که جرأت می بخشد، روشنم میدارد

تقدیم به

مادر عزیزم

او که در دریای بی کران فداکاری و مهربانی اش غرق شده ام

تقدیم به

خواهران عزیزم

آنان که در تمام لحظات رفیقان راهم بودند

تقدیم به

پارسا و پرهام دلبندم

که در نگاه آیشان امید و معصومیت موج میزند

تقدیر و سپاس

سپاس ویژه دارم از انسانی فرهیخته که بعد از الطاف الهی، مرهون راهنمایی های دلسوزانه ایشان هستم؛

استاد راهنمای بزرگوار و ارجمند؛

جناب آقای دکتر هادی پیری

واز مساعدت بی دریغ استاد محترم مشاور؛

جناب آقای دکتر محسن ارزنلو

کمال تشکر را دارم.

هم چنین از استاد ارجمند؛

جناب آقای دکتر بهنام محمدی بخاطر توجهات و محبت بی دریغشان سپاسگزارم.

از اساتید فرزانه؛

سرکار خانم دکتر تیمورپور، جناب آقای دکتر محمدی و جناب آقای دکتر محمد شاهی

که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛

هم چنین از مساعدت کارشناسان آزمایشگاه جناب آقای آذغانی و جناب آقای نوروزی و

سرکار خانم حسین زاده

پشتیبانی بستگان مهربانم جناب مهندس توکل هرسینی و جناب مهندس سعیدسروش مهر

و از بذل محبت و الطاف خالصانه ی تمام دوستان عزیزم؛

سرکار خانم ها فریده منافی، مرضیه شریفی نیا و سمیرا محمودی نیا

کمال تشکر را دارم و امیدوارم این پایان نامه مقبول طبع دقیق و نکته سنج آنان و همه دانش پژوهان واقع شود.

شمافرشی

چکیده:

تعیین فراوانی توزیع جزایر بیماری زایی PAI ICFT073, PAI II536, PAI III536, PAI IV536 در ایزوله های اشریشیا کلی یوروپاتوژن جدا شده از بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل در سال 1394-1395

زمینه و هدف: عفونت دستگاه ادراری (UTI) از شایع ترین بیماری های عفونی در سراسر جهان می باشد و اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک شایع ترین عامل آن شناخته شده است. اشریشیا کلی برای کلونیزه شدن، تهاجم و در نهایت ایجاد عفونت دستگاه ادراری نیاز به کسب عوامل ویرولانسی دارد. این عوامل به صورت مجموعه ای تحت عنوان جزایر بیماری زایی (PAI) در قالب قطعات ژنتیکی سیار می تواند به شکل افقی بین باکتری ها مبادله شود. این مطالعه با هدف بررسی فراوانی جزایر PAI ICFT073, PAI II536, PAI III536, PAI IV536 انجام شده است.

روش ها: در این مطالعه در مجموع 150 ایزوله اشریشیا کلی از نمونه های ادراری بیماران مراجعه کننده به بیمارستان های وابسته به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل از دی ماه 1394 تا تیر ماه 1395 جمع آوری شد. ایزوله ها براساس تکنیک های متداول میکروب شناسی شناسایی و در نهایت با استفاده از روش های مولکولی تایید گردید. DNA باکتری استخراج گردید و ژن های هدف با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و تکنیک PCR ردیابی شدند. برای اطمینان از صحت ژن های تکثیر شده چند نمونه از محصولات PCR بطور تصادفی تعیین توالی گردید.

نتایج: از مجموع 150 ایزوله ی ادراری، فراوانی جزایر بیماری زایی در سویه های کامنسال و پاتوژن به ترتیب (PAI II536 (41/26%, 57/47%), PAI III536 (58/73%, 73/56%), PAI IV536(84%, 85/5%), PAI ICFT073 (23/80%, 56/32%) می باشد.

نتیجه گیری: باکتری اشریشیا کلی یوروپاتوژن برای سازش با محیط بیرون و ایجاد عفونت ادراری یکسری عوامل ویرولانسی (جزایر بیماریزایی) کسب می کند. با توجه به متفاوت بودن فراوانی این عوامل در مناطق مختلف جغرافیایی، شناسایی مولکولی و تعیین فراوانی این فاکتور ها در این مطالعه می تواند بخشی از اطلاعات لازم جهت طراحی استراتژی های درمانی و پیشگیری عفونت ادراری را فراهم نماید.

کلمات کلیدی: عفونت دستگاه ادراری، اشریشیا کلی یوروپاتوژنیک، جزایر بیماری زایی

فهرست مطالب

| صفحه | عنوان |
|------------------------------|---|
| Error! Bookmark not defined. | 1-1 مقدمه |
| Error! Bookmark not defined. | 2-1 بیان مساله |
| Error! Bookmark not defined. | 3-1 اهداف و سوالات اساسی تحقیق |
| Error! Bookmark not defined. | 1-3-1 هدف اصلی |
| Error! Bookmark not defined. | 2-3-1 اهداف اختصاصی |
| Error! Bookmark not defined. | 3-3-1 سوالات تحقیق |
| Error! Bookmark not defined. | 4-3-1 اهداف کاربردی |
| Error! Bookmark not defined. | 1-2 آناتومی دستگاه ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 2-2 بخش های تشکیل دهنده ی دستگاه ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 3-2 عفونت مجرای ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 4-2 طبقه بندی انواع عفونتهای دستگاه ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 5-2 تظاهرات بالینی عفونت ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 6-2 اپیدمیولوژی عفونت ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 7-2 عوامل اتیولوژیک عفونت ادراری |
| Error! Bookmark not defined. | 8-2 اشریشیا کلی |
| Error! Bookmark not defined. | 1-8-2 مورفولوژی |
| Error! Bookmark not defined. | 2-8-2 خصوصیات رشد |
| Error! Bookmark not defined. | 3-8-2 خصوصیات بیوشیمیایی |
| Error! Bookmark not defined. | 9-2 کشت و شناسایی |
| Error! Bookmark not defined. | 10-2 زیستگاه طبیعی در میزبان های جانوری و بیماریزایی آن |

- 11-2 طبقه بندی اشیشیا کلی. Error! Bookmark not defined.
- 12-2 فاکتورهای ویرولانسی اشیشیا کلی یوروپاتوژنیک. Error! Bookmark not defined.
- 1-12-2 ادھزین ها. Error! Bookmark not defined.
- 2-12-2 توکسین ها. Error! Bookmark not defined.
- 1-2-12-2 آلفا همولیزین. Error! Bookmark not defined.
- 2-2-12-2 فاکتور نکروز دهنده سایتوتوکسیک 1. Error! Bookmark not defined.
- 3-12-2 سیستم های اکتساب آهن. Error! Bookmark not defined.
- 4-12-2 پروتکتین ها. Error! Bookmark not defined.
- 13-2 پاتوژنز. Error! Bookmark not defined.
- 14-2 فاکتورهای میزبان. Error! Bookmark not defined.
- 15-2 پاسخ میزبان به UPEC. Error! Bookmark not defined.
- 16-2 واکسن علیه UPEC. Error! Bookmark not defined.
- 17-2 جزایر بیماری زایی. Error! Bookmark not defined.
- 18-2 ویژگی های مشترک جزایر بیماری زایی. Error! Bookmark not defined.
- 19-2 tRNA. Error! Bookmark not defined.
- 20-2 DR. Error! Bookmark not defined.
- 21-2 توالی های الحاقی (IS). Error! Bookmark not defined.
- 22-2 ژن های تیپ های مختلف PAI در اشیشیا کلی یوروپاتوژنیک. Error! Bookmark not defined.
- 1-4 معیارهای ورود و خروج مطالعه. Error! Bookmark not defined.
- 1-1-4 معیار ورود به مطالعه. Error! Bookmark not defined.
- 2-1-4 معیارهای خروج از مطالعه. Error! Bookmark not defined.
- 2-4 دستگاه های مورد استفاده. Error! Bookmark not defined.

- Error! Bookmark not defined. 3-4 مواد مصرفی مورد استفاده
- Error! Bookmark not defined. 4-4 مواد شیمیایی مورد استفاده
- Error! Bookmark not defined. 5-4 مارکرها
- Error! Bookmark not defined. 7-4 روش جداسازی باکتری و تهیه ی نمونه خالص
- Error! Bookmark not defined. 8-4 روش های شناسایی باکتری
- Error! Bookmark not defined. 1-8-4 رنگ آمیزی گرم (میکروسکوپی)
- Error! Bookmark not defined. 2-8-4 تست های بیوشیمیایی
- Error! Bookmark not defined. 1-2-8-4 تست TSI
- Error! Bookmark not defined. 2-2-8-4 تست سیمون سترات
- Error! Bookmark not defined. 3-2-8-4 محیط SIM
- Error! Bookmark not defined. 4-2-8-4 تست MRVP
- Error! Bookmark not defined. 1-4-2-8-4 تست VP
- Error! Bookmark not defined. 2-4-2-8-4 تست MR (متیل رد)
- Error! Bookmark not defined. 3-8-4 تست تاییدی مولکولی 16SrRNA
- Error! Bookmark not defined. 9-4 استخراج DNA
- Error! Bookmark not defined. 10-4 واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR)
- Error! Bookmark not defined. 1-10-4 انجام PCR
- Error! Bookmark not defined. 2-10-4 چرخه های دمایی PCR
- Error! Bookmark not defined. 3-10-4 روش انجام PCR
- Error! Bookmark not defined. 4-10-4 تشخیص محصولات PCR:
- Error! Bookmark not defined. 5-10-4 شناسایی UPEC از سویه های کامنسال
- Error! Bookmark not defined. 11-4 بافر TBE

12-4 ملاحظات اخلاقی. **Error! Bookmark not defined.**

1-5 فراوانی ژن rRNA 16S در 151 نمونه ی جمع آوری شده. **Error! Bookmark not defined.**

2-5 فراوانی ایزوله های اشیشیا کلی جدا شده از نمونه های ادراری بر حسب جنسیت: **Error! Bookmark not defined.**

1-2-5 تعیین رابطه بین جنسیت بیماران و فراوانی ژن PAI II536. **Error! Bookmark not defined.**

2-2-5 تعیین رابطه بین جنسیت بیماران و فراوانی ژن PAI III536. **Error! Bookmark not defined.**

3-2-5 تعیین رابطه بین جنسیت بیماران و فراوانی ژن PAI IV536. **Error! Bookmark not defined.**

4-2-5 تعیین رابطه بین جنسیت بیماران و فراوانی ژن PAI ICFT073. **Error! Bookmark not defined.**

3-5 فراوانی ایزوله های اشیشیا کلی جدا شده از نمونه ها بر حسب گروه های سنی **Error! Bookmark not defined.**

1-3-5 تعیین رابطه بین رده سنی بیماران و فراوانی ژن PAI II536. **Error! Bookmark not defined.**

2-3-5 تعیین رابطه بین رده سنی بیماران و فراوانی ژن PAI III536. **Error! Bookmark not defined.**

3-3-5 تعیین رابطه بین رده سنی بیماران و فراوانی ژن PAI IV536. **Error! Bookmark not defined.**

4-3-5 تعیین رابطه بین رده سنی بیماران و فراوانی ژن PAI ICFT073. **Error! Bookmark not defined.**

4-5 فراوانی ایزوله های جدا شده از نمونه ها بر حسب بیماری زایی یا کامنسال بودن **Error! Bookmark not defined.**

5-5 فراوانی ژن های PAI II536, PAI III536, PAI IV536, PAI ICFT073, Pap در کل نمونه ها **Error! Bookmark not defined.**

6-5 فراوانی ژن های PAI II 536, PAI III 536, PAI IV 536, PAI ICFT073 در نمونه های پاتوژن

Error! Bookmark not defined.

7-5 فراوانی ژن های PAI II 536, PAI III 536, PAI IV 536, PAI ICFT073 در نمونه های کامنسال

Error! Bookmark not defined.

8-5 فراوانی نمونه های جمع آوری شده بر حسب نوع مراجعه ی بیماران. **Error! Bookmark not defined.**

1-8-5 تعیین رابطه بین نوع مراجعه بیماران و فراوانی ژن PAI II536. **Error! Bookmark not defined.**

2-8-5 تعیین رابطه بین نوع مراجعه بیماران و فراوانی ژن PAI III536. **Error! Bookmark not defined.**

Error! Bookmark not defined. __ PAI IV536 3-8-5 تعیین رابطه بین نوع مراجعه بیماران و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. PAI ICFT073 4-8-5 تعیین رابطه بین نوع مراجعه بیماران و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ 9-5 فراوانی افراد در بخش های مختلف بیمارستان

Error! Bookmark not defined. _____ 10-5 فراوانی ژن ها در بخش های مختلف بیمارستان

Error! Bookmark not defined. _____ 11-5 فراوانی نمونه ها بر حسب علائم بالینی

Error! Bookmark not defined. _____ 1-11-5 فراوانی ژن ها در بین ایزوله های جدا شده با علائم بالینی پیلونفریت
defined.

Error! Bookmark not defined. _____ 2-11-5 فراوانی ژن ها در در بین ایزوله های جدا شده با علائم بالینی سیستیت
defined.

Error! Bookmark not defined. _____ PAI II536 3-11-5 تعیین رابطه بین نوع عفونت و مشاهده ژن

Error! Bookmark not defined. _____ PAI III536 4-11-5 تعیین رابطه بین نوع عفونت و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ PAI IV536 5-11-5 تعیین رابطه بین نوع عفونت و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ PAI ICFT073 6-11-5 تعیین رابطه بین نوع عفونت و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ UPEC 12-5 فراوانی ژن ها در بیماران دارای کاتتر و مبتلا به

Error! Bookmark not defined. _____ PAI II536 1-12-5 تعیین رابطه بین استفاده از کاتتر و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ PAI III536 2-12-5 تعیین رابطه بین استفاده از کاتتر و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. PAI IV536 3-12-5 تعیین رابطه بین نوع استفاده از کاتتر و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _ PAI ICFT073 4-12-5 تعیین رابطه بین استفاده از کاتتر و فراوانی ژن

Error! Bookmark not defined. _____ 1-6 بحث

Error! Bookmark not defined. _____ 2-6 نتیجه گیری

Error! Bookmark not defined. _____ 3-6 محدودیت ها

Error! Bookmark not defined. _____ 4-6 پیشنهادات:

فهرست شکل ها

- شکل 1.2. آناتومی دستگاه ادراری..... **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 2.2. کلنی باکتری اشیشیا کلی..... **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 3.2. خصوصیات بیوشیمیایی باکتری اشیشیا کلی..... **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 1.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن 16s rRNA باکتری اشیشیا کلی..... **Error!**
- Bookmark not defined.**
- شکل 2.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن PAI CFTO73..... **Error! Bookmark not defined.**
- defined.**
- شکل 3.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن PAI III 536. . **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 4.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن PAI II..... **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 5.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن PAI IV..... **Error! Bookmark not defined.**
- شکل 6.4. الکتروفورز محصولات PCR مربوط به ژن Pap..... **Error! Bookmark not defined.**

فهرست جدول ها

- جدول 1.4. دستگاه های مورد استفاده 27
- جدول 2.4. مواد مصرفی مورد استفاده 28
- جدول 3.4. مواد شیمیایی مورد استفاده 28
- جدول 4.4. نتایج کشت باکتری اشیریشیا کلی در محیط کشت TSI **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 5.4. نتایج کشت باکتری در محیط SIM **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 6.4. مواد لازم برای مراحل مختلف PCR **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 7.4. توالی پرایمر های مورد استفاده **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 8.4. چرخه های دمایی PCR **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 1.5. فراوانی ژن 16S rRNA در 151 نمونه ی جمع آوری شده **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 2.5. فراوانی ایزوله های اشیریشیا کلی جدا شده از نمونه های ادراری بر حسب جنسیت **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 3.5. توزیع فراوانی جنسیت بیماران و PAI II536 **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 4.5. توزیع فراوانی جنسیت بیماران و PAI III536 **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 5.5. توزیع فراوانی جنسیت بیماران و PAI IV536 **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 6.5. توزیع فراوانی جنسیت بیماران و PAI ICFT073 **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 7.5. فراوانی ایزوله های اشیریشیا کلی جدا شده از نمونه ها بر حسب گروه های سنی **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 8.5. توزیع فراوانی رده ی سنی بیماران و PAI II536 **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 9.5. توزیع فراوانی رده سنی بیماران و PAI III536 **Error! Bookmark not defined.**

- جدول 10.5. توزیع فراوانی رده سنی بیماران و PAI IV536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 11.5. توزیع فراوانی رده سنی بیماران و PAI ICFT073. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 12.5. فراوانی ایزوله ای جدا شده از نمونه ها برحسب بیماریزایی یا کامنسال بودن. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 13.5. فراوانی ژن های PAI II 536, PAI III 536, PAI IV 536, PAI ICFT073, Pap در کل نمونه ها. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 14.5. فراوانی ژن های PAI II 536, PAI III 536, PAI IV 536, PAI ICFT073 در نمونه های پاتوژن. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 15.5. فراوانی ژن های PAI II 536, PAI III 536, PAI IV 536, PAI ICFT073 در نمونه های کامنسال. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 16.5. توزیع فراوانی نوع مراجعه بیماران و PAI II536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 17.5. توزیع فراوانی جنسیت بیماران و PAI III536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 18.5. توزیع فراوانی نوع مراجعه بیماران و PAI IV536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 19.5. توزیع فراوانی نوع مراجعه بیماران و PAI ICFT073. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 20.5. فراوانی افراد در هر یک از بخش های بیمارستان. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 21.5. فراوانی ژن ها در بخش های مختلف بیمارستان. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 22.5. فراوانی نمونه ها برحسب علایم بالینی. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 23.5. فراوانی ژن ها در بین ایزوله های جدا شده با علایم بالینی پیلونفریت. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 24.5. فراوانی ژن ها در در بین ایزوله های جدا شده با علایم بالینی سیستیت. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 25.5. توزیع فراوانی نوع عفونت و PAI II536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 26.5. توزیع فراوانی نوع عفونت و PAI III536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 27.5. توزیع فراوانی نوع عفونت بیماران و PAI IV536. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 28.5. توزیع فراوانی نوع عفونت و PAI ICFT073. **Error! Bookmark not defined.**
- جدول 29.5. فراوانی ژن ها در بیمارانی که کاتتر استفاده شده و UPEC می باشند. **Error! Bookmark not defined.**

جدول 30.5. توزیع فراوانی استفاده از کاتتر و PAI II536 **Error! Bookmark not defined.**

جدول 31.5. توزیع فراوانی استفاده از کاتتر و PAI III536 **Error! Bookmark not defined.**

جدول 32.5. توزیع فراوانی استفاده از کاتتر بیماران و PAI IV536 ... **Error! Bookmark not defined.**

جدول 33.5. توزیع فراوانی استفاده از کاتتر و PAI ICFT073 **Error! Bookmark not defined.**