"دانشگاه علوم پزشکی تهران "

"دانشکده داروسازی"

پایان نامه:

" برای دریافت درجه دکتری"

موضوع:

" بررسی چهار دارو ی کلاسیک "

آمپی سیلین ،آموکسی سیلین،

کلرا مفنیکل وکوتریموکسازول

برروی سوشهای مختلف سالمونلایی

برا هنمائی:

"استاد ارجمند ، سرکار خانم دکتر مینو محرز

نگارش :

" پیمانه جوهری "

شماره پایان نامه: ۲۵۴۵

سال تحصیلی: ۶۷-۱۳۶۶

۹۹۶۷

تقـــدیـــم بـــه :

" پدربزرگوا رم کههموا رهمرا درتما مهمرا حل زندگی یـا ری نمودهاست ."

تقـــدیـــم بـــه :

" ما درعزیزترا زجا نـــم ،بخا طرفدا کا ریها یش وهرآنچـــه درزندگی کسب کردهام مرهون زحما ت بیدریغا وســت ."

۹۹۶

تقـــديـــم بـــه :

" يـــا رويـــا ورم شـــا هـــــرخ"

تقـــديـــم بـــه :

" فرزنـددلبنـــدم، بنيـــا ميـــــن"

تقـــدیـــم بـــه :

" برادران مهربـان وخواهـران خوبـــــم "

و

تقـــدیـــم بـــه :

" تمامی دوستـــان وآشنـــایـــــان "

تقـــدیـــم بـــه :

" استا دعا لیقدرم سرکا رخا نم دکتر مینو محـــرزکه همـــوا ره
ا زرا هنما ئیها ی ا یشا ن بـهره مندبوده ا م . "

تقـــدیـــم بـــه :

" ۱ـ سرکا رخا نم دکتر لکستـــا نـــی
۲ـ جنا ب آ قا ی دکتر علـیرضا یلـــدا
۳ـ جنا ب آ قا ی دکتر محمدحسین نصیرزا ده
ا عضا ی محترم هیئت قضا ت که منت دا وری ا ین پا یا ن نا مـــه
را پذیرفتند . "

با تشکـــر از :

" خانم شاهین پورکارشناس محترم آزمایشگاه بخش عفونـــــــی بیمارستان امام خمینـــی. "

با تشکـــر از :

" آقای هوشنگ ثابت زاده کارشناس محترم آزمایشگاه دانشکـــده بهداشت دانشگاه تهران . "

با تشکـــر از :

" کارمندان محترم موسسه تایپ آتنا بخصوص خانم فرزانه امیـــری که در تایپ و تنظیم پایان نامه از کمکهای ایشان بهره منـــــد بوده ام . "

" فهرست مطالب "


| عنوان | صفحه |
|---|---|
| فصل اول | |
| مقدمه | ۱ |
| هدف | ۲ |
| فصل دوم: بررسی میکروب | ۳ |
| ۱- صفات عمومی | ۳ |
| ۱-۱- شکل | ۳ |
| ۱-۲- شناسایی ومقاومت | ۳ |
| ۱-۳- شاخصهای آنتی ژنیک | ۴ |
| ۱-۴- تغییرات آنتی ژنیک | ۵ |
| ۲- طبقه‌بندی | ۶ |
| ۲-۱- طبقه‌بندی کوفمن وایت | ۶ |
| ۳- پاتوژنزوپاتولوژی | ۹ |
| ۳-۱- تبهای روده‌ای | ۱۰ |
| ۳-۲- باکتریمی باضایعات فوکال | ۱۱ |
| ۳-۳- آنتروکولیت | ۱۱ |
| ۳-۴- عفونت موضعی | ۱۴ |
| ۴- تشخیص | ۱۵ |
| ۵- ایمنی | ۱۶ |
| ۶- درمان | ۱۶ |
| ۷- اپیدمیولوژی | ۱۸ |
| ۸- پیش‌آگهی | ۲۰ |
| ۹- پیشگیری | ۲۰ |

| عنوان | صفحه |
|---|---|
| فصل سوم: کنترل میکروبی آنتی بیوتیکها ومعرفی۴ داروی بررسی شده | ۲۲ |
| ۱- آمپی سیلین | ۲۳ |
| ۲- آموکسی سیلین | ۲۶ |
| ۳- کلرا مفنیکل | ۲۷ |
| ۴- سولفا متوکسا زول | ۳۲ |
| ۵- تری متوپریم | ۳۴ |
| فصل چهارم: مواد موردنیاز وروش کار | ۳۶ |
| ۱- مواد موردنیاز | ۳۶ |
| ۱-۱- محیط ها ومواد لازم جهت شناسایی اولیه وتهائی سالمونلاها | ۳۶ |
| ۱-۲- محیط ها ومواد لازم جهت سروتایپینگ | ۳۸ |
| ۱-۳- مواد لازم جهت آنتی بیوگرام | ۳۹ |
| ۲- روش کار | ۴۱ |
| ۲-۱- نمونه برداری | ۴۱ |
| ۲-۲- شناسایی وتائیدنهائی سالمونلاها | ۴۲ |
| ۲-۳- سروتایپینگ | ۴۲ |
| ۲-۴- تعیین حساسیت دارویی | ۴۶ |
| ۳- نتایج سروتایپینگ | ۵۲ |
| ۳-۱- نتایج حاصل از تعیین گروه | ۵۲ |
| ۳-۲- نتایج حاصل از تعیین سروتایپهای سالمونلایی | ۵۳ |
| ۴- نتایج آنتی بیوگرام وتعیین حساسیت دارویی | ۵۵ |
| خلاصه ونتیجه | |

## " فهرست جداول"


| عنوان | صفحه |
|---|---|
| جدول(۱) : نمایش فرمول آنتی ژنیک سالمونلاها | ۸ |
| جدول(۲) : نمایش قسمتی از طبقه‌بندی کوفمن وایت | ۸ مکرر |
| جدول(۳) : جدول استاندارد بیومریو جهت تعیین حساسیت و مقاومت باکتریها نسبت به دیسکهای آنتی‌بیوگرام | ۵۱ |
| جدول(۴) : نمایش درصد گروههای سروتایپ شده | ۵۲ |
| جدول(۵) : نمایش درصد سروتایپهای شناسایی شده | ۵۴ |
| جدول(۶) : نمایش میزان درصد مقاومت سویه‌های سالمونلائی نسبت به ۴ داروی کلاسیک | ۵۵ |

# " فصـــــل اول "

## ۱ـ مقدمـــــــه :

سالمونلاها ازمهمترین باکتریها ی خانواده انتروباکتریاسه ها هستند که درطبیعت انتشاروسیعی دارندوبطورطبیعی برروی خاک وآب وفاضـــلاب وبقایای گیاهی ومواد غذائی وبدن انسان وبسیاری ازحیوانات خونگـــرم وخونسردیافت میشوند واکثرآنها برای انسان وسایرحیوانات منجملـــه چهارپایان اهلی ووحشی وپرندگان وخزندگان ونیزحیوانات خونسردبیماریزا میباشـــند .

درچندسال اخیرسالمونلوزهای غیرتیفوئیدی دردنیا شیوع وسیعی پیـــدا نموده وعلت آن پیدایش بسیاری ازسروتایپهای جدیدسالمونلایی اســـت که درگذشته چندان شیوع نداشته اند ، ازقبیل سالمونلاها وانا (S.havana) وسالمونلادوبلین (S.dublin) وسالمونلانیوپـــورت ( S. newport ) سالمونلاتیفی موریوم (S.typhimurium) که بسیاری ازعفونتهای روده ای و غیرروده ای راسبب میشوند .

بعلاوه گزارشهای متعددی دررابطه با تغییرمیزان حساسیت آنهـــا نسبت به درمانهای کلاسیک آنتی بیوتیکها مشاهده گردیده است که علت آنـــرا مصرف بی رویه آنتی بیوتیکها درحیوانات وانسانها پیدا نموده اند البتـــه مطالعات وکوششهای زیادی برای کنترل ومحدودنمودن اینوع بیماریهـــا انجام گرفته وبجزسالمونلاهای مولدتیفوئید وپاراتیفوئیدکه تاحدزیادی قابل کنترل هستنددرموردیگرسالمونلاها که امروزه بیش از ۱۷۰۰ سروتایپ ازآنها شناخته شده واکثرا " قابلیت ایجاد انواع سالمونلوزهارا دارنـــد

پیشگیری بسیار مشکل ومستلزم مطالعه وصرف وقت وهزینه سنگینی میباشد وطبق مطالعات انجام شده عفونتهای سالمونلائی غیرتیفوئیدی در ایران نیز روبه افزایش است . لذا بررسی تعیین میزان مقاومت وحساسیت آنها نسبت به داروهای تجویزشده درجوامع مختلف از اهمیت ویژه ای برخوردار است .

## ۲- هدف :

هدف اصلی این رساله بررسی وشناسائی میزان حساسیت ومقاومت داروئی سوشهای سالمونلائی بیماریزا در انسان در دو بیمارستان امام خمینی وبیمارستان پارس تهران درسال ۱۳۶۶ میباشدکه مراحل آن به ترتیب زیر خلاصه میشود :

۱- جدا نمودن سوشهای سالمونلائی از خون ویا مدفوع بیماران شناسائی شده .

۲- شناسائی وتائیدسروتایپ سالمونلاهای جدا شده .

۳- آنتی بیوگرام سوشها نسبت به چهار دارو ی کلاسیک آمپی سیلین، آموکسی سیلین ، کلرامفنیکل، کوتریموکسازول ،

۴- ارائه آمارحساسیت میکروبهای بررسی شده درمحیط invitro جهت درمان گزیده تربرای بیماران مبتلا به سالمونلوزدر ایران.

## " فصـــل دوم ، بررســـی میکـــروب "

### ۱ـ صفـــات عمومـــی :

۱ـ۱ـ شکل : سالمونلاها باسیلهای گرم منفی ومیله‌ای شکل بطـــول ۳ـ۱ میکرون وعرض ۱/۲ـ۰/۷ میکرون وفاقد اسپورهستند هوازی وبیهـوازی اختیاری ومتحرک بوده‌وبخصوص گلوکزوما نوزرا تخمیرکرده‌ولی لاکتوزوسوکروز را نمیتوانند تخمیرکنند اغلب ازراه‌دهان برای انسان وحیوانـــات بیماریزا است .

۱ـ۲ـ شناسائی ومقاومـــت :

سالمونلاها میکروبهائی استوانه‌ای وگرم منفی هستند که‌تولیداسپـور نکرده‌ولی متحرک وهوازی هستند،طول این میکروبها بایکدیگرمتفـــاوت میباشد اکثر اعضای این گروه دارای تاژه‌ازنوع پیرامونی‌میباشندکـــه متحرکند بجزسالمونلاپولوروم وسالمونلا گالـیناروم. سالمونلاها براحتی درروی محیط کشت ساده‌رشدکرده‌ولی لاکتوزوسوکروزرا تخمیرنمیکنندازگلوکز وما نوزتولیداسیدوگازمینمایندتمایل به‌تولید سولفیدهیدروژن دارنـــد این میکروبها دریخ برای مدت مدیدی زنده میمانند سالمونلاها به‌بعضـی ازموادشیمیائی مقاومند ( مثل تتراتیونات‌سدیم، دزکسی کولات‌سدیـم ) چنین ترکیباتی جلـوی رشدباکتریهای کلی فرم راگرفته‌وبرای جداکـــردن سالمونلاها ازمدفوع بکارمیآیند :

۱-۳- شاخصهای آنتی ژنیک :

درحالیکه سالمونلاها را عمدتا " توسط خصوصیات بیوشیمیائی جستجو میکنندسوشهای این گروه را بواسطه آنالیزآنتی ژنیک ازیکدیگرجدا مینمایند به مانندسایراعضای آنتروباکتریاسه سالمونلاها حاوی سه آنتی ژن پیکره O آنتی ژن تاژه‌ای ( H ) وآنتی ژن کپسولی Vi میباشند .

آنتی ژن پیکره O - این گروه ازآنتی ژنها ازجنس فسفولیپید ، پروتئین ، پلی ساکاریدمیباشندوخاصیت آنتی ژنیک مجموعه مربوط به پلی ساکاریدآن است دربرابر حرارت مقاوم وچندساعت حرارت یکعددرجه را تحمل میکند بوسیله الکل نیزخراب نمیشود ولذا میتوان ازهریک ازاین دوعامل برای جداکردن آنتی ژنهای گروه O استفاده‌کرد تاکنون حدود ۶۰ نوع آنتی ژنO شناخته‌شده که به‌حروف رومی نمایش داده میشوند واکثرا " سالمونلاها بیش ازیک آنتی ژنO دارندآنتی ژنO هرسالمونلا اختصاصی وثابت است وبه‌همین جهت مبنای طبقه‌بندی سالمونلاها را دردرجه اول برآن بنانهاده‌اند وبراین مبنا حدود ۴۰ نوع سالمونلاوجوددارد .

آنتی ژنهای گروه H - این آنتی ژنها مخصوص تارهای لرزان سالمونلاهاوتنها درانواع متحرک وجوددارندازجنس پروتئین است ودرحرارت بیش از ۶۰ درجه ، اسیدوالکل بسرعت خراب میشود درمقابل فرمالین مقاومتد بنابراین میتوان با اضافه کردن فرمالین به‌سوسپانسیون سالمونلا این آنتی ژن را بدست آورد .

قدرت آنتی ژنیک این گروه به‌مراتب ازگروه O بیشتراست آنتی‌ژنهای H دونوع‌هستندبعضی‌مخصوص یک یا چندنوع سالمونلا میباشند (آنتی ژنهای تیپ یا فاز I ) که‌با الفبای کوچک لاتین نشان داده میشودبعضی دیگرمیان چندین نوع سالمونلامشترک ( آنتی ژن گروه‌یا فاز II ) وبا اعدادنمایش

داده میشوند .

آنتی ژنهای گروه Vi بعضی از انواع سالمونلاها غیر از آنتی ژن O یک آنتی ژن سطحی اضافی دارند که چون گمان میرود با ویرولانس میکروب ، ارتباط داشته باشد به آن آنتی ژن Vi گویند ظاهرا "بصورت پوشش روی آنتی ژن O را فرا گرفته و مانع آگلوتیناسیون میکروب توسط آنتی کر میشود این آنتی ژن ساختمانی شبیه به آنتی ژن O دارد ولی در برابر حرارت اسیدها وفنل ناپایدارتر است درحرارت ۶۰ درجه سانتیگراد در مدت یکساعت تجزیه میگردد اینگونه سالمونلاها وقتی تازه کشت شده باشند دارای این آنتی ژن هستند وبوسیله سرم ضد O آگلوتیناسیون پیدا نمیکنند ولی آنتی کر ضد Vi سبب آگلوتیناسیون آنها میشود تقسیم‌بندی کوفمان وایت در مورد سالمونلاها براساس تست های آگلوتیناسیون صورت میگیرد .

۱-۴- تغییرات آنتی ژنیک :

ساختمان آنتی ژنیک سالمونلاها ثابت نیست ودستخوش تغییراتی است که مهمترین آنها به این قرار است :

تغییر O ← H : در این تغییر با سیل تارهای لرزان خود را از دست داده وبیحرکت میشود ودرنتیجه آنتی ژنهای مربوط به آنها (آنتی ژن H ) نیز از بین میروند .

تغییر R ← S : سالمونلا در اثر کشت های مکرر روی محیط غذائی آنتی ژن O خود را از دست میدهند وکلنی های صاف ومرطوب و ( smooth ) آنها خشک وخشن Rough میشوند بهترین راه برای جلوگیری از تغییر R ← S سالمونلاها آنست که آنها را لیوفیلیزه کنند یا روی محیط تخم‌مرغی کاشته ودریخچال نگاهداری نمایند .

تغییر W ـــ V : در این دگرگونی یک بخش یا تمامی آنتی ژن Vi ازبین میرود و ازقدرت بیماریزائی آن برای موش سفیدکاسته میشود اگر درسالمونلا تیفی بخشی ازآن ازبین برود باسیل با هردونوع آنتی کرضد O و Vi آگلوتینه میشود ( اشکال VW )واگرتماما " ازبین برود باسیل ازابتداء باهمان آنتی کر O آگلوتینه میگردد .

دربررسیهای اپیدمیولوژیک سالمونلاها را میتوان بهواسطه لیزشان با باکتریوفاژها شناسائی نمود به این روش فاژتایپینگ گویندعلت این لیزشدن فعال گشتن وسپتورمیکروب کهدریافت کنندهفاژ است میباشد .

## ۲ـ طبقهبندی :

### ۲ـ۱ـ طبقهبندی کافمن ووایت ( Kauffman white )

کافمن ووایت سالمونلاها را براساس ساختمان آنتی ژن پیکره O وآنتی ژن تاژهای H بهگروهها وسروتایپهای مختلف تقسیم نمودهاند . اساس تقسیم بندی سالمونلاها بهگروههای مختلف فاکتورهای آنتی ژنی O میباشد کهازیک گروه بهگروه دیگر تفاوت دارد مثلا" فاکتورهای آنتی ژنی گروه A (2,12) وفاکتورهای آنتی ژنی گروه B (4,5,12) میباشند بدین ترتیب سالمونلاها از A تا z واز z تا گروه 67 گروهبندی شدهاند .

درطبقهبندی کافمن ووایت بعضی ازگروهها نیزبه زیرگروههای دیگر تقسیم میشوند . مثلا" گروه D بهسهزیرگروه $D_1$ (بافرمول آنتی ژنی O 9,12 ) و $D_2$ (بافرمول آنتی ژنی O 9,46 )و $D_3$ ( بافرمول آنتی ژنی O 9,12,27 ) تقسیم میشوند . اساس تقسیم بندی سالمونلاها بهسروتایپها نیزآنتی ژنهای فازیک وفازدوتاژهای H میباشد . مثلا"