بسم الله الرحمن الرحیم

دانشگاه لرستان

دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه: ۹۳/۱

پایان‌نامه کارشناسی ارشد دامپزشکی

گرایش باکتری شناسی

عنوان:

ردیابی فنوتیپی و مولکولی ژن مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در جدایه‌های *اشریشیا کولای* از نمونه‌های ادراری شهرستان خرم‌آباد

استاد راهنما :

دکتر احسان رشیدیان

استاد مشاور:

نعمت شمس

نگارش:

بهمن دوستی

شهریور ۱۳۹۳

بسمه تعالی

مدیریت تحصیلات تکمیلی

صورتجلسه ارزشیابی پایان نامه کارشناسی ارشد

جلسه دفاع از پایان نامه ی کارشناسی ارشد آقای **بهمن دوستی**

تحت عنوان :" ردیابی فتوتیپی و مولکولی مولد بتالاکتاماز های وسیع الطیف TEMدر جدایه های اشرشیاکلی از نمونه های ادراری شهرستان خرم آباد "

در تاریخ بیست و نهم شهریور ماه یک هزار و سیصد و نود و سه (۹۳/۶/۲۹) در دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان ارائه گردید و هیئت داوران بر اساس کیفیت پایان نامه ، استماع دفاعیه و نحوه ی پاسخ به سوالات ، پایان نامه ایشان را برای دریافت درجه ی کارشناسی ارشد در رشته باکتری شناسی معادل با واحد با نمره ی (به حروف) نوزده و شانزده صدم (به عدد) ۱۹/۱۶ و با درجه ی عالی مورد تأیید قرار داد .

هیأت داوران	مرتبه علمی	امضاء
۱ – استاد راهنما : دکتر احسان رشیدیان	استادیار	
۲ – استاد مشاور : دکتر نعمت شمس	استادیار	
۳- استاد داور : دکتر امین جایدری	استادیار	
۴ – استاد ناظر و نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده دامپزشکی : دکتر پیمان اسدیان	استادیار	

دکتر احسان رشیدیان
مدیر گروه علوم آزمایشگاهی

دکتر علی سوخته زاری
رئیس دانشکده دامپزشکی

دکتر بهمن غضنفری
مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه

(نسخه ی مربوط به پژوهشگاه علوم و فناوری اطلاعات ایران)

گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: ردیابی فنوتیپی و مولکولی ژن مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در جدایه‌های *اشریشیا کولای* از نمونه‌های ادراری شهرستان خرم‌آباد

اینجانب بهمن دوستی دانشجوی دوره‌ی کارشناسی ارشد رشته باکتری شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان به شماره دانشجویی ۹۱۵۰۰٤۱۰۱۵ تحت راهنمایی دکتر احسان رشیدیان و مشاوره دکتر نعمت شمس گواهی می‌دهم که:

۱ – تحقیقات ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تأیید می نمایم.

۲– در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آنها را در منابع ذکر نموده ام.

۳– تاکنون مطالب درج شده در این پایان نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یاامتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.

٤– در تدوین متن پایان نامه شیوه نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده ام.

۵– کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر به دانشگاه لرستان تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه لرستان (Lorestan University) به چاپ خواهد رسید.

٦– حقوق معنوی تمام افرادی که در تدوین پایان نامه تاثیرگذار بوده اند(اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.

۷– در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آنها، کلیه‌ی ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور و موازین اخلاق پژوهش مصوب وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.

در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هرگونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهدهی اینجانب بوده و دانشگاه لرستان، هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضییع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه لرستان در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه‌ی خسارات وارده خواهم بود.

تاریخ

نام و نام خانوادگی و امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه لرستان تعلق داشته و بدون اخذ اجازه‌ی کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایاننامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

تقدیم به:

دست های پدرم

کسی که برای اولین بار هم ،هنر فکر کردن را و هم فن انسان بودن را به من آموخت. طعم مناعت، استواری، ایمان و استقلال دل را

چشم های مهربان مادر صبور و فداکارم

دریای بی کران فداکاری و عشق که وجودم برایش همه رنج بود و وجودش برایم همه مهر. خاک پایش را مراتاجی است هدیه ای از بهشت برین.

سپاس به پیشگاه حضرت دوست که هر چه هست از اوست.

از استاد گرانقدر جناب آقای دکتر احسان رشیدیان که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی از هیچ کمکی بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند، کمال تشکر و قدردانی را دارم.

مراتب سپاس قدردانی خود را از جناب آقای دکتر نعمت شمس که زحمت مشاوره این پایان نامه را متقبل شدند ابراز می دارم و از خداوند بلند مرتبه برای ایشان سلامتی آرزومندم.

با تقدیر و تشکر از زحمات و همکاری صمیمانه ی:

کارشناس عالی قدر آقای سید محمد نایب آقایی و پرسنل خوب و مهربان دانشکده که همواره بنده را مورد لطف و محبت خویش قرار دادند.

و با سپاس از:

مسئولین آزمایشگاههای شهرستان خرم آباد که در تامین جدایه های کلسیکی مورد استفاده در این تحقیق ما را یاری کردند.

فهرست

عنوان **صفحه**

چکیده..... ۱

فصل اول: مقدمه و هدف..... ۳

۱-۱- مقدمه..... ٤

۱-۲- اهداف تحقیق..... ۷

۱-۳- فرضیات تحقیق..... ۷

فصل دوم: مروری بر منابع..... ۸

۲-۱- انتروباکتریاسه..... ۹

۲-۱-۱- *اشریشیا کولای*..... ۱۰

۲-۲- عفونت دستگاه ادراری..... ۱٤

۲-۳- فاکتورهای ویرولانس سویه‌های اوروپاتوژنیک *اشریشیا کولای*..... ۱۵

۲-۳-۱- ادهسین‌ها..... ۱٦

۲-۳-۲- فلاژل..... ۱۷

۲-۳-۳- پلی ساکاریدهای خارج سلولی..... ۱۸

۲-۳-٤- توکسین‌ها..... ۱۹

۲-٤- عوامل ضد میکروبی..... ۱۹

۲-۵- آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام..... ۲۱

۲-۵-۱- مکانیسم عمل آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام..... ۲۳

۲-٦- مقاومت ضد میکروبی..... ۲۵

۲-٦-۱- انواع مقاومت ضد میکروبی..... ۲۵

۲-٦-۲- ژنتیک مقاومت..... ۲٦

۲-٦-۲-۱- پلاسمیدها..... ۲۷

۲-٦-۲-۲- باکتریوفاژها..... ۲۸

۲-٦-۲-۳- ترانسپوزون‌ها..... ۲۸

فهرست

۲-۶-۲-٤- اینتگرون‌ها..... ۲۹
۲-۷- اشکال مختلف انتقال مقاومت..... ۳۰
۲-۷-۱- کونژوگاسیون..... ۳۰
۲-۷-۲- ترانسفورماسیون..... ۳۰
۲-۷-۳- ترانس‌داکشن..... ۳۰
۲-۸- مکانیسم مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام..... ۳۱
۲-۸-۱- اصلاح پروتئین های اتصال یابنده به پنی سیلین (PBPs) ۳۱
۲-۸-۲- مقاومت بر اساس نفوذ پذیری..... ۳۲
۲-۸-۳- پمپ‌های انتشار به خارج(Efflux pump)..... ۳۳
۲-۸-٤- تولید آنزیم..... ۳٤
۲-۹- کلاس‌بندی بتالاکتامازها..... ۳٦
۲-۹-۱- بتالاکتامازهای وسیع الطیف(ESBL)..... ۳۹
۲-۹-۱-۱- بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع TEM *(Ambler class A, Bush class 2be)*..... ٤۰
۲-۹-۱-۲- بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع SHV (*Ambler class A, Bush class 2be*)..... ٤۱
۲-۹-۱-۳- بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع CTX-M (*Ambler class A, Bush class 2be*).. ٤۲
۲-۹-۱-٤- بتالاکتاماز وسیع الطیف نوع OXA *(Ambler class D, Bush class 2d)*..... ٤۳
۲-۹-۱-۵- دیگر بتالاکتامازهای وسیع الطیف..... ٤٤
۲-۹-۲- بتالاکتامازهای کلاس Ambler C..... ٤٤
۲-۹-۲-۱- کدگذاری کروموزمی بتالاکتامازهای کلاس Ambler C..... ٤۵
۲-۹-۲-۲- کد گذاری پلاسمیدی بتالاکتامازهای کلاس Ambler C..... ٤٦
۲-۹-۳- کلاس B متالوبتالاکتامازها..... ٤۷
۲-۹-٤- کلاس A کرباپنم‌ها..... ٤۸
۲-۱۰- بتالاکتامازهای وسیع الطیف در دامپزشکی..... ٤۸
۲-۱۱- روش‌های تشخیص بتالاکتامازهای وسیع الطیف..... ۵۰
۲-۱۱-۱- تست‌های فنوتیپی و تکنیک‌های میکروبیولوژی..... ۵۰

فهرست

۲-۱۱-۱-۱- تست‌های غربالگری..... ۵۱

۲-۱۱-۱-۱-۱- روش Broth Microdilution (BMD) ۵۱

۲-۱۱-۱-۱-۱- روش انتشار دیسک..... ۵۲

۲-۱۱-۱-۲-تست‌های تاییدی..... ۵۳

۲-۱۱-۲- تست‌های ژنوتیپی یا روش‌های تشخیص مولکولی..... ۵۳

فصل سوم: مواد و روش‌کار..... ۵۵

۳-۱- وسایل و مواد مصرفی ۵۶

۳-۱-۱- مواد مصرفی در تست‌های بیوشیمیایی و تست آنتی بیوگرام..... ۵۶

۳-۱-۱-۱- محیط‌های کشت مصرف شده..... ۵۷

۳-۱-۲- مواد مصرفی در استخراج DNA، PCR و الکتروفورز..... ۵۸

۳-۱-۳- وسایل و دستگاه‌های ۵۹

۳-۲- طرز تهیه بافرها و محلول‌ها مورد استفاده و مواد تشکیل دهنده آن‌ها..... ۵۹

۳-۲-۱- بافر PBS..... ۵۹

۳-۲-۲- محلول بافر TBE 10X..... ۶۰

۳-۲-۳- محلول TBE 1X..... ۶۰

۳-۲-٤- محلول TE ۶۰

۳-۲-۵- محلول سرم فیزیولوژی..... ۶۱

۳-۲-٦- کدورت استاندارد نیم مک فارلند..... ۶۱

۳-۳- روش کار..... ۶۲

۳-۳-۱- جمع آوری و شناسایی اولیه *اشریشیا کولای*..... ۶۲

۳-۳-۲- تایید تشخیص با انجام آزمون های بیوشیمیایی تکمیلی..... ۶۲

۳-۳-۳- ذخیره سازی جدایه‌های در TSB ۶۲

۳-۳-٤- شناسایی جدایه‌های مولد ESBL..... ۶۲

۳-۳-٤-۱- انجام تست غربالگری اولیه با روش انتشار دیسک بر اساس استاندارد CLS..۶۳

فهرست

۳-۳-٤-۲- انجام تست تایید فنوتیپی با روش ترکیبی دودیسک بر اساس استاندارد CLSI..٦٤

۳-۳-٤-۳- مراحل انجام تست آنتی بیوگرام.....٦٤

۳-۳-۵- آزمایشات مولکولی جهت شناسایی ژن های TEM و SHV.....٦۵

۳-۳-۵-۱- استخراج DNA.....٦۵

۳-۳-۵-۲- آزمایش PCR برای تشخیص ژن های TEM و SHV.....٦٦

۳-۳-۵-۳- الکتروفورز محصولات PCR.....٦۸

۳-۳-۵-۳-۱- تهیه ژل آگاروز ۱٪ ٦۸

فصل چهارم: نتایج.....۷۰

٤-۱- نتیجه آزمایشات بیوشیمیایی و تشخیص *اشریشیا کولای* ۷۱

٤-۲- نتیجه تست غربالگری اولیه و تست تایید فنوتیپی جهت شناسایی جدایه‌های ESBL مثبت...۷۲

٤-۳-نتیجه آزمایش PCR جهت شناسایی ژن های bla_{TEM} و bla_{SHV} در بین جدایه‌های ESBL مثبت.....۷٤

فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری.....۷۷

۵-۱- بحث و نتیجه گیری.....۷۸

۵-۲- پیشنهادات.....۸٦

منابع.....۸۷

خلاصه انگلیسی..... ۱۰۹

عنوان انگلیسی.....۱۱۰

فهرست تصاویر

تصاویر **صفحه**

تصویر۲-۱- ساختمان آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام..... ۲۳

تصویر۲-۲- طرح طبقه بندی عملکردی و مولکولی بتالاکتامازها..... ۳۷

تصویر۲-۳- ساختار سوم بتالاکتاماز کلاس A، TEM..... ٤۱

تصویر٤-۱- نمونه بتالاکتاماز مثبت..... ۷٤

تصویر٤-۲- نمونه بتالاکتاماز منفی..... ۷٤

تصویر٤-۳ - نتایج الکتروفورز محصولات PCR ژن های TEM و SHV..... ۷۵

فهرست جداول

جداول **صفحه**

جدول۲-۱- مکانیسم‌های فعالیت عوامل ضد میکروبی..... ۲۰

جدول۲-۲- انواع آنتی بیوتیک های بتالاکتام..... ۲۲

جدول۲-۳- طبقه بندی بتالاکتامازها..... ۳۸

جدول۲-٤- معیار های غربالگری CLSI در آزمایش انتشار دیسک و MIC..... ۵۲

جدول۳-۱- دیسک‌های آنتی بیوتیک مصرف شده در تست آنتی بیوگرام..... ۵۷

جدول۳-۲- سویه‌های کنترل مثبت و منفی مورد استفاده در تست آنتی بیوگرام و PCR ۵۹

جدول۳-۳- پرایمر های مورد استفاده برای شناسایی ژن های بتالاکتاماز TEM-1 و SHV-1..... ٦٦

جدول ۳-٤- ترکیبات کیت [Master Mix (2X)] برای یک واکنش PCR..... ٦٧

جدول۳-۵- مقدار مواد واکنش دهنده برای انجام یک واکنش در داخل میکروتیوب PCR ٦٧

جدول۳-٦- سیکل حرارتی جهت تکثیر ژن های TEM و SHV ٦٨

فهرست نمودار

نمودار **صفحه**

نمودار٤-١- درصد جدایه‌های جداسازی شده از نظر تفکیک جنس و سن.....٧١

نمودار٤-٢- نتایج تست تایید فنوتیپی جدایه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون ترکیب دو دیسک.....٧٣

نمودار٤-٣ - درصد جدایه‌های بتالاکتاماز مثبت بر اساس سن و جنس.....٧٣

نمودار٤-٤ - درصد ژن‌های TEM دخیل در مقاومت به آنتی بیوتیک‌های بتالاکتام.....٧٥

نمودار٤-٥ - توزیع پراکندگی ژن TEM بر اساس سن و جنس.....٧٦

چکیده:

نام خانوادگی: دوستی	نام: بهمن	شماره دانشجویی: ۹۱۵۰۰٤۱۰۱۵
عنوان پایان نامه: ردیابی فنوتیپی و مولکولی ژن مولد بتالاکتاماز وسیع الطیف TEM در جدایه‌های *اشریشیا کولای* از نمونه‌های ادراری شهرستان خرم‌آباد		
استاد راهنما: دکتر احسان رشیدیان	استاد مشاور: دکتر نعمت شمس	
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: باکتری شناسی	گرایش: دامپزشکی
دانشگاه لرستان	دانشکده دامپزشکی	گروه: باکتری شناسی
تاریخ دانش آموختگی: ۹۳/٦/۲۹	تعداد صفحات: ۱۲۳	
کلمات کلیدی: بتالاکتامازهای وسیع الطیف، PCR، *اشریشیا کولای*، مقاومت میکروبی، TEM، SHV		

هدف: امروزه انتشار سویه‌های بیماری‌زای *اشریشیا کولای* حاوی بتالاکتامازهای وسیع الطیف (ESBLs) به عنوان یکی از نگرانی‌های عمده‌ی بهداشتی در سطح دنیا مطرح است. احتمالا عمده‌ترین علت تکوین و گسترش بتالاکتامازهای وسیع الطیف، استفاده‌ی بیش از حد یا نادرست از سفالوسپورین‌های وسیع الطیف است. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی میزان فراوانی و شیوع بتالاکتامازهای نوع TEM در سویه‌های *اشریشیا کولای* مولد عفونت‌های ادراری در شهرستان خرم‌آباد بود.

روش‌ها: یکصد جدایه *اشریشیا کولای* از بیماران مبتلا به عفونت‌های ادراری-تناسلی، از ۱۲ آزمایشگاه بالینی مختلف در شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری گردید. اصالت جدایه‌ها با انجام آزمایشات بیوشیمیایی مورد تایید قرار گرفت. آزمون‌های حساسیت میکروبی با استفاده از روش انتشار دیسک (کیربای-بائر) و بر اساس راهنمای تایید شده توسط موسسه‌ی استاندارد بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) انجام گرفت. سویه‌های ESBL مثبت با روش‌های غربال‌گری اولیه و متعاقبا دیسک ترکیبی و با استفاده از دیسک‌های حاوی سفتازیدیم(30µg)، سفتازیدیم-کلاولانیک اسید(30/10µg)، سفوتاکسیم (30µg) و سفوتاکسیم-کلاولانیک اسید(30/10µg)، مشخص گردیدند. در ادامه تمامی نمونه‌های مثبت با روش PCR از نظر حضور ژن‌های TEM و SHV مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: ۳۱ نمونه (۳۱٪) از مجموع ۱۰۰ نمونه‌ی *اشریشیا کولای* با توجه به نتایج آزمون‌های دیسک

ترکیبی، ESBL مثبت تشخیص داده شدند. تجزیه و تحلیل نمونه‌ها با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی نشان داد که ۱۸ جدایه (۵۸/۰۶٪) حاوی ژن‌های بتالاکتامازی رمزگذاری شده برای TEM بوده، در حالی که هیچ کدام از جدایه‌ها دارای ژن SHV نمی‌باشند.

بحث: تحقیق اخیر میزان شیوع نسبتا بالای ژن‌های مقاومت نسبت به سفالوسپورین‌های نسل سوم در بین جدایه‌های *اشریشیا کولای* را نشان داده که حاکی از چالش در درمان موفقیت‌آمیز با آنتی‌بیوتیک-های رایج است. بدیهی است که استفاده بیش از حد، اشتباه و یا نادرست از عوامل ضد میکروبی در عفونت‌های انسان و نیز بخش کشاورزی، در گذشته و حال، انسان را برای مدت زمان طولانی متاثر خواهد نمود. برای تعیین میزان شیوع، منشاء، مکانیزم گسترش و روش انتقال عوامل موثر در بروز مقاومت در بتالاکتامازهای وسیع الطیف و یا ارگانیزم‌های مولد بتالاکتامازهای وسیع الطیف تحقیقات بیشتری مورد نیاز است. این امر منجر به درک بهتر و نهایتا سهولت در تدوین استانداردهای دقیق در امر بهداشت عمومی و اتخاذ راهبردهای درمانی بهبود یافته با عوامل ضد میکروبی به منظور ریشه کنی یا حداقل کند نمودن روند گسترش عوامل موثر در بروز مقاومت در بتالاکتامازهای وسیع الطیف و تولید کننده‌های ESBL خواهد شد.

فصل اول

مقدمه و هدف

۱-۱- مقدمه

مقاومت نسبت به آنتی بیوتیک‌ها در میان باکتری‌های پاتوژن موضوعی است که امروزه به عنوان یک مشکل در سراسر جهان مورد توجه قرار گرفته است. باکتری‌ها با استفاده از استراتژی‌های مختلف از اثرات زیان بار آنتی‌بیوتیک‌ها مصون می‌مانند. یکی از مهمترین این مکانیسم‌ها، که در باکتری‌های گرم منفی علیه آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام به کارگرفته می‌شود، تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز است (۱۲۹). این آنزیم‌ها از طریق هیدرولیز هسته مرکزی در آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام باعث غیر فعال شدن آنها می‌شوند. پیدایش آنتی‌بیوتیک‌های جدید از قبیل سفالوسپورین‌های وسیع الطیف نظیر، آزترئونام‌ها و استفاده رایج از آنها در درمان بیماریهای عفونی باکتریال منجر به بروز گروه جدیدی از این آنزیم‌ها به نام بتالاکتامازهای وسیع الطیف[۱] (ESBLs) شده است (۱۹٦). اعضای خانواده انتروباکتریاسه بتالاکتامازهایی را تولید می کنند که توسط ژن‌های پلاسمیدی کد می‌شوند. یکی از این اعضا *اشریشیا کولای* است که قادر به تولید آنزیم‌های بتالاکتاماز وسیع الطیف می‌باشد (۱۷٦). مقاومت باکتری‌های خانواده انتروباکتریاسه به عوامل ضد میکروبی مختلف به علت مکانیسم‌های مقاومت ذاتی و اکتسابی بسیار متغیر است. مقاومت اکتسابی در نتیجه مواجهه با عوامل ضد میکروبی حاصل می‌گردد و این خانواده که جزء مهم ترین باکتری‌های بیماری‌زا به شمار می روند، عموماً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم هستند (۷۷). بتالاکتامازهای وسیع الطیف گروهی از آنزیم‌ها هستند که نخستین بار در اواسط دهه ۱۹۸۰ در غرب اروپا از باکتری کلبسیلا جداسازی شدند (۱٤۷) و سپس در دیگر گونه‌های مختلف خانواده انتروباکتریاسه یافت شدند. ژن‌های تولیدکننده این آنزیم‌ها به نام‌های

۱. Extended spectrum β- lactamases (ESBLs)

bla_{SHV} ، bla_{TEM} و bla_{CTX-M} از جمله ژن‌هایی هستند که قادر به تخریب سفالوسپورین‌های با طیف اثر وسیع مانند سفوتاکسیم، سفتریاکسون و سفتازیدیم می‌باشند. در واقع بروز جهش‌های نقطه‌ای در توالی اسید آمینه‌ای بتالاکتامازهای اولیه نظیر TEM-2، TEM-1و SHV-1 باعث اشتقاق و پیدایش آنزیم‌هایی جدید و وسیع الطیف گردیده است (۱۸٤، ۱۲۸). اما گونه‌ای که بیشترین شیوع را از این نظر دارا می‌باشد باکتری *اشریشیا کولای* است (۷٦). این باکتری متعارف ترین عامل ایجاد کننده‌ی عفونت در بین باکتری‌های گرم منفی بوده و به عنوان یک پاتوژن فرصت طلب اغلب عفونت‌هایی در کلیه، مثانه، ریه و مننژ ایجاد می‌کند. هر کدام از این عفونت‌ها می‌توانند منجر به سپتی سمی شده و برای زندگی مخاطره آمیز باشند. همچنین *اشریشیا کولای* یکی از پاتوژن‌های اصلی عفونت‌های بیمارستانی[۱] (NI) محسوب می‌شود (۱٦۳، ۱۱۳) و بی شک یکی از شایع‌ترین علل عفونت مجاری ادراری[۲](UTI) در هر دو جنس و تقریباً در تمام سنین می‌باشد (۱۳۱). این میکروارگانیسم ۷۰-۳۰ درصد موارد عفونت‌های ادراری را ایجاد می کند (٦۸). عفونت ادراری شایع ترین عفونت باکتریایی در زمان بارداری است که در ۸ درصد از زنان باردار دیده می شود (٦۲). تقریباً ۳ تا ۵ درصد دختران و ۱ درصد پسران در دوران کودکی دچار عفونت ادراری می‌شوند (۹۹، ۸۹). عفونت ادراری در شیرخواران و کودکان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار بوده، زیرا در این گروه سنی عدم تشخیص و درمان موثر می‌تواند باعث آسیب بافتی و ایجاد اسکار و اختلال کارکرد کلیه شود (۱۲۲). عفونت ادراری عامل مهمی در ایجاد اسکار و تخریب پیشرونده ساختمان کلیه ها، نارسایی مزمن کلیه، سوء رشد، سنگ‌های ادراری و هیپرتانسیون در کودکان در نظرگرفته می‌شود (۲۱۰، ۱۰۹، ۸۹). درمان نادرست

۱. Nosocomial infection (NI)
۲. Urinary tract infection (UTI)

عفونت ادراری می تواند منجر به بروز عوارض خطرناکی مانند اختلالات دستگاه ادراری، فشارخون، اورمی، زایمان زودرس و حتی سقط شود (۸). درمان سریع عفونت ادراری قبل از آماده شدن جواب کشت و آنتی‌بیوگرام (که معمولاً ٤٨ تا ٧٢ ساعت به طول می‌انجامد)، نقش بسیار مهمی در پیشگیری از ایجاد اسکار در کلیه‌ها و عوارض مربوط خواهد داشت (۱۱۰ ،۸۹). بعلت استفاده گسترده از عوامل ضد باکتریایی وسیع الطیف از قبیل آنتی بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام با طیف وسیع، مشکل ظهور مقاومت های دارویی در چند دهه اخیر، به شدت رو به وخامت است و تا زمانیکه تجویز بی رویه‌ی آنتی بیوتیک‌ها بدین صورت ادامه داشته باشد، این مشکل یعنی شیوع ژنوتیپ ESBLs در میان سویه‌ها امری عادی تلقی می‌شود (۵۷). در هر کشوری متناسب با نوع و نحوه ی مصرف آنتی بیوتیک‌ها تفاوت زیادی در حساسیت و مقاومت باکتری های مسبب عفونت ادراری به آنتی بیوتیک‌ها وجود دارد. مصرف آنتی بیوتیک‌ها در کشور ما بر اساس برنامه درمانی کشورهای دیگر و آنچه در منابع علمی و یا گزارشات خارجی منتشر شده، ممکن است نتیجه مطلوبی نداشته باشد (۱۱۰). باکتری های تولیدکننده بتالاکتامازهای وسیع الطیف یک مشکل بزرگ در سراسردنیا هستند زیرا الگوی مقاومت دارویی گسترده‌ای از خود نشان می‌دهند و باعث افزایش مرگ و میر بیماران بستری در بیمارستان می‌شوند (۵۵). متأسفانه در حال حاضر، مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بسیاری از کشورها به عنوان یک مشکل بزرگ مطرح است. با توجه به مقاومت روزافزون باکتری‌ها از جمله *اشریشیا کولای* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های شایع، تفاوت بین سویه‌ای ناشی از پراکندگی در مناطق جغرافیایی گوناگون و نیز توصیه‌های ارائه شده در درمان تجربی، انجام مطالعاتی در مورد تعیین الگوی مقاومت در زمان‌ها و مناطق مختلف جغرافیایی، امری ضروری و انکار ناپذیراست تا بدین ترتیب شیوع باکتری‌های تولید

کننده ESBL و ژن‌های دخیل در ایجاد مقاومت در هر ناحیه‌ای مشخص گردد و این امر می‌تواند زمینه‌ساز اتخاذ تدابیر مناسب برای درمان عفونت‌های ناشی از این ارگانیسم‌های مقاوم باشد.

۱-۲- اهداف تحقیق

بررسی حضور ژن مقاومت TEM مولد آنزیم بتالاکتاماز در جدایه‌های *اشریشیا کولای* نمونه‌های ادراری شهرستان خرم آباد.

۱-۳- فرضیات تحقیق

ژن مقاومت TEM مولد آنزیم بتالاکتاماز در جدایه‌های *اشریشیا کولای* نمونه‌های ادراری شهرستان خرم آباد وجود ندارد.