

۵۵۳۵

دانشگاه تهران

دانشکده بهداشت

پایان نامه:

برای دریافت درجه فوق لیسانس علوم بهداشتی (M.S.P.H)

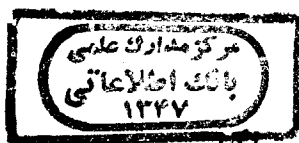
در رشته پاتوبیولوژی

موضوع:

بررسی خصوصیات بیوشیمیایی و نسبت مقاومت کلبسیلاهای

جد اشده از بخش اطفال بیمارستان لقمان الدوله اد هم در تهران

درسالهای ۶۰-۵۹



براهنمائی:

آقای دکتر رضا فرازگو

نگارش:

حمید رضا شاه حسین آزاد

سال تحصیلی ۶۰-۱۳۵۹

قديم به :

خانواده گراميم

۲۸۲

سپاس

نخست بیش از هر چیز بر خود لازم میدانم که از زحمات و مساعی
خانم دکتر مهاجر استاد ارجمند بیکه در راه دانش اندوزی این
ناچیز همگامی و همراهی فرموده‌اند و بیدریغ همه‌گونه کمک و
یاریم نموده‌اند از جان و دل سپاسگزاری نمایم .

تقدیم و تشکر از :

استاد ارجمند جناب آقای دکتر رضا قراگزلو که در تهیه این

رساله از راهنماییهای ارزنده ایشان برخوردار بودم .

تقديم به :

هیئت محترم قضات

با تشکرات فراوان از :

خانم قریشی ، خانم حکیمی و آقای ثابت زاده که همکاری فراوانی در

تهیه این رساله با اینجانب داشته اند .

بدینوسیله از خانم پروانه ادریسیان و همکارانش نیز که در این مدت

از نظر تهیه محیط کشت لازم صمیمانه با اینجانب همکاری نمودند ،

کمال تشکر را دارم .

فهرست مطالب

<u>صفحه</u>	<u>عنوان</u>
۱	مقدمه
۷	هدف
۸	مواد مورد استفاده و روش آزمایش
۲۰	نتایج
۳۵	بحث
۴۰	خلاصه
	منابع و مأخذ

مقدمه

در خلال دهه گذشته همزمان با توجه به اهمیت استافیلوکوکها در ایجاد عفونت های بیمارستانی باسیل های گرم منفی نیز در این زمینه مورد توجه قرار گرفتند . یکی از مشکلات عمده بیمارستانهای کوچک و بزرگ در سالهای اخیر اپیدمیهای حاصله توسط این میکروارگانیسمها میباشد . قابلیت این ارگانیسمها در ایجاد بیماری بعلت افزایش میزان بیماران مراجعه کننده به بیمارستان و کاسته شدن دفاع میزبان بعلت عملهای جراحی پیچیده و طولانی و مصرف داروهای متفاوتی رو به ازدیاد میباشد . در چند سال اخیر اشرفیاکلی و پروتئوس که از میکروبیهای موجود روده ای انسان و حیوان هستند عامل مولد عفونت مجاری ادراری در بیماران بیمارستان شناخته شده اند (۱) . امروزه کلبسیلا و پسودوموناس بعلت مقاومت در مقابل آنتی بیوتیکها بسیار مورد توجه قرار گرفته اند . مطالعات و بررسیهای زیادی در مورد شیوع عفونتهای بیمارستانی ایجاد شده توسط کلبسیلاها^۵ مقاوم به اکثر آنتی بیوتیکها توسط بعضی از محققین و پژوهشگران انجام گردیده است

این گروه از محققین معتقدند که استفاده زیاد و مداوم از آنتی بیوتیکها و رعایت نمودن بهداشت فردی و عمومی توسط پرسنل بیمارستان باعث استقرار این باکتریها در بخشها و گرفتاری بیماران میگردد. البته باید در نظر داشت که جدا نمودن کلبسیلا در یک نمونه مثلا خلط همیشه حائز اهمیت از نظر کلینکی نمیشد و در مورد ادرار تنها مواقعی اهمیت دارد که شمارش کلنی بیشتر از یکصد هزار باکتری در میلی لیتر ادرار باشد. در یک بررسی در این زمینه مشخص گردیده که جدا نمودن این ارگانیسما بجز در عفونتهایی که همراه با باکتری می هستند، تنها در کمتر از $\frac{1}{3}$ بیماران اهمیت کلینکی داشتند (۱).

با توجه به این حقیقت که بیماران بعلت بیماریهای گوناگون شدت ضعیف میشوند، تعیین میزان بیماری زائی این میکروارگانیسما مشکل است. اما در بعضی مواقع عفونتهای کلبسیلائی خطرناک و ممکن است کشنده باشند بطوریکه در گزارش Price و همکارانش (۲) نشان داده شده است که مننژیت ایجاد شده توسط کلبسیلا آئروژنز در بخش جراحی اعصاب باعث مرگ ۸ بیمار گردیده است.

بطور کلی کودکان نسبت به عفونتها حساستر بوده و همچنین درصد مرگ و میر در میان آنها در اثر ابتلاء به عفونتها بیشتر است. در گزارش Hable و همکارانش (۳)

(۵) ۱۰ نوزاد در بخش مراقبتهای شدید به سپتی سمی با کلبسیلا پنومونی تایپ

۳۳ د چار گردیده و تمامی آنها فوت نموده اند .

در یک سری آزمایشاتی که Adler و همکارانش (۶) در سال ۱۹۷۰ در یک پرورشگاه بعمل آورده‌اند، کلبسیلا پنومونی تایپ ۲ و ۱۱ مقاوم به کانامایسین عامل بیشتر عفونتها در پرورشگاه بوده است . اما در مورد نحوه انتشار و منبع این باکتریها در عفونتهای بیمارستانی اطلاعات زیادی وجود ندارد، همچنین بررسی اپیدمیولوژیکی عفونتهای کلبسیلا بعلت متفاوت بودن سوشها و پراکندگی آنها و عدم وجود روشهای عمومیت یافته در تمام آزمایشگاهها جهت تعیین انواع این باکتریها خالی از اشکال نیست .

فاژ تایپینگ یکی از بهترین روشهای است که توانسته اند بمنشاء عفونتهای بیمارستانی که بوسیله استافیلوککهای کواگولاز مثبت بوجود میآید آشنائی کامل بدست آورند . ولی هنوز این روش در مورد ارگانیسهای گرم منفی مانند کلبسیلا متد اول نشده است .

سرولژی و تست تورم کپسولی (Quellung Reaction) کلبسیلاها روشهای هستند که برای تایپینگ کلبسیلاها بکار میروند ولی بعلت زیاد بودن تعداد آنتی سرمها و اشکال در تهیه آنها این روشها تنها در چند آزمایشگاه اختصاصی و تحقیقاتی مورد استفاده قرار میگیرند (۱) .

مطالعه خصوصیات بیوشیمیائی و مقاومت سوشهای کلبسیلا نسبت به آنتی-

بیوتیکها بعلت وجود مواد و وسائل مربوطه امکان پذیر میباشد .

با در نظر گرفتن مطالب فوق نویسنده این رساله علاقمند گردید تا حد

امکان خصوصیات بیوشیمیائی کلبسیلاهای جد ا شده از بخش اطفال بیمارستان

لقمان الدوله و مقاومت آنها را نسبت به آنتی بیوتیکها مورد مطالعه قرار دهد .

سورفولوژی و رنگ آمیزی

کلبسیلاها باکتریهای هشتند میلهای شکل به اندازه 0.5 تا 1.5 میکرون

گرم منفی که بدون اسپور، بی حرکت و دارای کپسول پلی ساکارید که غالباً ۲ یا ۳

برابر اندازه خود باسیل است، میباشد. این کپسول در محیطهایی که دارای

ساکارز هستند، خیلی بهتر دیده میشود مانند محیط Worful-ferguson. اکثر

کلبسیلاها دارای کپسول هستند و کمتر اتفاق میافتد که واریانتهای بدون کپسول

پیدا شود (۷). در گسترش نازک باآسانی دکلریزه شده ولی در گسترشهای

ضخیمی که از خلط یا مواد آلوده تهیه شده باشند، در اثر بی رنگ شدن با الکل

گرم مثبت دیده میشوند .

خصوصیات گشت

از مشخصات کلبسیلا کلنیهای بزرگ موکوئید بوده و در محیطهای اند و آگار معمولاً کلنیهای صورتی رنگ دارند که وسط کلنی بنفش رنگ دیده میشود ، برعکس اشرفیالکی که تمام کلنیها با یک جلای فلزی روی اند و آگار ظاهر میگردد . اگر یک آنس خشک با دقت به یک کلنی تماس داده شود ، در اکثر کلنیها یک رشته نازک از مواد چسبنده که چندین میلی متر طول آن خواهد بود ، از کلنی اصلی کشیده خواهد شد که این خود روشی برای شناخت این کلنیها میباشد . چسبندگی این کلنیها بخاطر ایجاد مایع چسبناک خارج سلولی است (۸) .

خصوصیات بیوشیمیایی

کلبسیلاها عموماً دارای آنزیم کاتالاز بوده که بوسیله آن H_2O_2 ایجاد شده در اثر واکنشهای تنفسی را که برای آنها سمی است به آب و اکسیژن تبدیل مینمایند . فاقد آنزیم اکسیداز میباشد یعنی قادر نیستند ماده‌ای بنام هیدروکلرود و تترامتیل پارا فنیلین دی آمین را اکسیده نمایند (از این ماده برای جستجوی آنزیم فوق در باکتریها استفاده مینمایند) .

این میکروارگانیسمها همیشه گلوکز را با تولید گاز تخمیر میکنند ، از سیترات

بعنوان منبع کربن استفاده نموده و قادر به تجزیه تریپتوفان و در نتیجه تولید اندول نمیباشند . هیچگاه تولید هیدروژن سولفورنموده و محیط اوره را به کندی هیدرولیز مینمایند (۹) .

خصوصیات آنتی ژنتیکی

مطالعات آنتی ژنتیکی بوسیله Julianelle و Edwards انجام و بوسیله کافمن در سال ۱۹۴۹ تجدید نظر شد و در پیشنهاد جدیدش طبقه بندی آنتی ژنتیکی بوضوح تفسیر گردید . در این تفسیر ۳ آنتی ژن اصلی در گروه کلبسیلا شناخته گردید . آنتی ژن کپسولی (K) ، آنتی ژن سوماتیک (O) که در تمام اشکال Smooth وجود دارد و آنتی ژن (R) Rough ، آنتی ژن R در تمام انواع O سوماتیک وجود داشته ولی در طبقه بندی مورد استفاده قرار نمیگیرند (۸) . در سال ۱۹۶۶ Failand ، Steinhauer ، Eickhoff با استفاده از ۳۰۶ سوش کلبسیلا پنومونیه ۷۲ آنتی سرم کپسولی تهیه نمودند که با استفاده از آنها میتوان تایپهای مختلف کلبسیلا را به روش سرولوژی و تورم کپسولی مشخص نمود (۸) .

مقدمه

- ۱- بررسی خصوصیات بیوشیمیائی کلبسیلاهای بدست آمده از بخش اطفال بیمارستان لقمان الدوله توسط مطالعات بیوشیمیائی کامل .
- ۲- تعیین مقاومت سوشهای بدست آمده با د و روش کرسی و بائر و کالنیدل .
- ۳- تعیین الگوی مقاومت در سوشهای بدست آمده با هر د و روش .
- ۴- نشان دادن آلودگی محیط و پرسنل بخش اطفال بیمارستان لقمان الدوله به کلبسیلاهای مقاوم به اکثر آنتی بیوتیکها .

مواد مورد استفاده و روش آزمایش :

الف - محیط‌های کشت اولیه و سایر مواد مورد استفاده :

- | | |
|----------------------|---------------------|
| | ۱- ژلوز ساده |
| (Pepton water) | ۲- آب پپتونه |
| (Tripton) | ۳- تریپتون |
| (Endo agar) | ۴- آند و آگار |
| (MacConkey agar) | ۵- مکانکی آگار |
| (Trypticase broth) | ۶- تریپتیکز برات |
| (Muller Hinton agar) | ۷- مولر هینتون آگار |
| | ۸- سرم فیزیولوژی |
| (Nutrient agar) | ۹- آگار مغذی |

ب - محیط‌های افتراقی عبارتند از :

- | | |
|----------------------------------|--------------------------|
| (Triple sugar Iron agar) T.S.I. | ۱- تربیل شوگر ایرون آگار |
| (Semisolid Indol agar) S.I.M. | ۲- سمی سولاید اندول آگار |
| (Urea) | ۳- اوره |
| (Citrate Simmons) | ۴- سیمون سترات |