جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

تحديد جينات *CTX-M-1* و *CTX-M-3* في العزلات الضارية ذات المقاومة المتعددة لبكتريا الزائفة الزنجارية

رسالة

مقدمة إلى مجلس كلية العلوم – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

زينب محمد حميد

بكالوريوس علوم حياة – كلية العلوم

جامعة ديالى ٢٠١٣

إشراف

أ.م.د. هادي رحمن رشيد الطائي

١٤٣٨هـ **٢٠١٧ م**

المقدمة Introduction

تعدُّ جرثومة الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* من الأنواع الجرثومية الممرضة الإنتهازية والخطيرة على الصحة العامة للبشر ، إذ تُعتبر من المسببات الشائعة المسؤولة عن الكثير من الأخماج عند المرضى الراقدين في المستشفيات وبدرجة أقل عند مراجعي العيادات الخارجية (Paterson,2006) . تسبب هذه الجراثيم أخماج خطيرة في المضائف المصابة بالكبت المناعي وتسبب الأخماج المصاحبة لعملية نقل الأعضاء (Mittal *et al*.,2009;Chen, 2014) ، وهي إحدى مسببات تجرثم الدم Bacteremia و ذات الرئة ، وتسبب أخماج الأُذن، وأخماج القناة البولية وأخماج الجلد ، فضلاً عن كونها العامل الرئيسي المسبب للإصابات المكتسبة في المستشفيات لاسيما ردهات الحروق (Salimi *et al*.,2010;Todar,2012).

تمتلك جرثومة الزائفة الزنجارية عدداً كبيراً من عوامل الضراوة التي تجعلها مسؤولة عن العديد من الإصابات في البشر، منها تكوين الأغشية الحيوية وإنتاج السموم والإنزيمات التي تسبب تلف واسع النطاق في الأنسجة وبالتالي الوصول الى المجرى الدموي ، مسبباً إنتشار هذه الجراثيم في انسجة الجسم (Cotar *et al*.,2010; Karatuna and Yagci,2010; Mohammad,2013).

تمثل الزائفة الزنجارية *P.aeruginosa* ظاهرة من المقاومة لمضادات الحياة ، إذ تعود صعوبة معالجة الإصابات التي تسببها الى تأصل المقاومة الدوائية في هذا النوع من الجراثيم، ، إذ تمتلك مقاومة طبيعية منها تغيير نفوذية الجدار الخارجي (Breidenstein *et al*.,2011)، وإمتلاكها عدة مجاميع من أنظمة الدفق (Morita *et al*.,2012) . كما تنتج جراثيم الزائفة الزنجارية العديد من الإنزيمات المسؤولة عن تحلل العديد من مضادات الحياة وخصوصاً مضادات مجموعة البيتالاكتام كإنزيمات البيتالاكتاميز المعدنية Metallo β-Lctamases(MβLs) وإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف Extended Spectrum Beta -Lactamases(ESβLs) وإنزيمات الصف الجزيئي لامبلر Ampler Molecular Class (AMPC) (Gellatly and Hancock,2013;Park *et al*.,2014) ، إذ إنَّ التعَّرض المستمر والعشوائي لمضادات البيتالاكتام على الخلية الجرثومية وفي المقابل إنتاجها المستمر لإنزيمات البيتالاكتاميز β-lactamases أدى الى حدوث العديد من الطفرات في المورثات المشفرة لإنتاجها مما سبب في ظهور جينات مقاومة مشفرة لإنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف التي تمنح صفة المقاومة للخلية الجرثومية تجاه الكثير من مجاميع مضادات البيتالاكتام كالبنسلينات،السيفالوسبورينات (للعديد من اجيالها) ومضادات الكاربابينيم

(Strateva&Yordanov,2009; Rezai *et al*.,2014). إذ تمتلك جرثومة الزائفة الزنجارية القدرة على إنتاج العديد من انواع إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف ESβLs والتي تعود لعائلة TEMs وSHVs و PERs و VEBs و GESs و IBCs والتي تعد مسؤولة عن تحلل مضادات حياة مختلفة (Libisch *et al*.,2008).

وقد تمَّ إكتشاف عائلة CTX-M التابعة لأنماط إنزيمات ESβLs ، إذ تمَّ عزل انزيم *bla* $_{\text{CTX-M-1}}$ من جرثومة الزائفة الزنجارية المعزولة من المرضى الراقدين في مستشفى الكاظمية التعليمي في مدينة بغداد والمصابين بإلتهابات الأُذن الوسطى عام 2013 ، وتمَّ عزل الجين *bla* $_{\text{CTX-M-1}}$ من بلازميدات الجرثومة (Aude *et al*., 2013) .

يُعدُّ تشخيص جرثومة الزائفة الزنجارية بإستعمال الجين 16s rDNA ادق من الإختبارات التقليدية المستعملة مختبرياً ، إذ أنّ الجين 16s rDNA يعطي تشخيصاً على مستوى النوع وله تتابع ثابت لكل نوع من الانواع الجرثومية لذلك له دور مهم جداً في التشخيص الجزيئي (Hussien *et al*.,2012; Altaai *et al*.,2014).

اخيراً يمكن القول إنّ جراثيم الزائفة الزنجارية ذات الإنتاج المتعدد لإنزيمات البيتالاكتاميز وخصوصاً إنزيمات ESβLs قد تسبب فشل علاجي كبير في حال عدم الكشف المبكر عن هذا النوع الجرثومي المنتج لإنزيمات المقاومة للمضادات ، وبالتالي فإنّ الكشف المبكر عن الأخماج التي تسببها هذه السلالات الجرثومية ضروري جداً من اجل المعالجة المناسبة ، ولتقليل إنتشار السلالات المقاومة منها فضلاً عن خفض عدد الوفيات لمرضى المستشفيات . (Altun *et al*.,2013).

أهداف البحث:

نظراً لأهمية الدراسات الخاصة بتحديد أنواع جرثومة الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* المقاومة لمضادات البيتالاكتام والمسببة لأخماج سريرية مختلفة بين الراقدين وغير الراقدين في مدينة بعقوبة جاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على ما يلي :

1. التحري عن افضل طريقة لتشخيص العزلات الجرثومية .
2. الكشف عن مقاومة العزلات المحلية لبعض مضادات البيتالاكتام ، وتحديد التركيز المثبط الادنى (MIC) لبعض هذه المضادات.
3. دراسة المحتوى من عوامل الضراوة في عزلات الزائفة الزنجارية .
4. دراسة إنتشار جينات مقاومة مضادات الحياة .