كلية الصيدلة
قسم الميكروبيولوجيا والمناعة

"الفحص المظهري والتوصيف الجزيئي للعصويات سالبة الجرام المنتجة للكاربابينيميزس المعزولة من مرضى المستشفيات بالإسكندرية"

رسالة علمية مقدمة

ضمن متطلبات درجة الماجستير في
العلوم الصيدلية (الميكروبيولوجيا والمناعة)

مقدمة من

ياسمين أشرف أمين مرزوق محمد يونس

بكالوريوس في الصيدلة
كلية الصيدلة - جامعة فاروس- 2017

2025

Alexandria University
Faculty of Pharmacy
Department of Microbiology and Immunology

Phenotypic Screening and Molecular Characterization of Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli Isolated from Hospitalized Patients in Alexandria

A thesis submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science

In

Pharmaceutical Sciences

(Microbiology and Immunology)

Presented by

Yasmin Ashraf Amin Marzouk Mohamed Younis
B. Pharm. Sci. 2017
Faculty of Pharmacy, Pharos University

2025

الملخص العربي
والاستنتاجات والتوصيات

الملخص العربي والاستنتاجات والتوصيات

كان الهدف من هذه الدراسة هو جمع عزلات بكتيرية سالبة الجرام مقاومة للكاربابينيم من عينات سريرية مختلفة، والكشف عن النمط الظاهري للكاربابينيماز المُنتجة، وكذلك التوصيف الجيني لبعض الجينات المُشفرة للكاربابينيماز المُختارة. علاوة على ذلك، فقد تم دراسة معدل الانتشار والتعايش بين الجينات المختارة في العزلات السريرية التي تم اختبارها.

ولتحقيق هذه الأهداف فقد تم جمع مائة وعشرين عزلة من العصويات سالبة الجرام المقاومة للكاربابينم من عينات سريرية مختلفة من مستشفى مبرة العصافرة في الإسكندرية. وقد تم تعريف العزلات بناء على طرق التعريف التقليدية وكذلك بنظام Vitek 2. وقد كانت الكليبسيلا هي الأكثر انتشارا بين العزلات السريرية التي تم جمعها (81 من 120، 67.5%) تليها السودوموناس ايروجينوزا (20%)، والإشريشيا كولاي و الأسينيتوباكتر بومانياي (5.8% لكل منهما) بالإضافة إلى عزلة واحدة فقط من السيراتيا مارسيسنس.

وقد تم تحديد حساسية العزلات لإثنين وعشرين مضاد للميكروبات باستخدام اختبار انتشار القرص في الأجار. بالإضافة إلى ذلك، فقد تم تأكيد حساسية العزلات المختبرة لسبعة من العوامل المضادة للميكروبات التي تم اختبارها من خلال تحديد قيم أقل تركيز مثبط للبكتيريا باستخدام طريقة تخفيف الأجار بينما تم تحديد أقل تركيز مثبط للكولستين باستخدام تقنية التخفيف الدقيق للمرق. وقد لوحظت مستويات عالية من المقاومة في جميع العزلات السريرية التي تم اختبارها حيث كانت 100% منها متعددة المقاومة للمضادات الحيوية. من ناحية أخرى، أظهر الكولستين والتيجيسيكلين أدنى معدلات مقاومة تجاه العزلات المختبرة.

وقد تم إجراء الكشف عن النمط الظاهري للكاربابينيماز باستخدام Modified Hodge Test (MHT) و Combined Test Disc (CDT). وأظهرت إحدى وخمسون (42.5%) وسبع وخمسون (47.5%) عينة نتائج إيجابية لاختباري MHT وCDT على التوالي. كما أظهرت اثنتين وعشرون (18.3%) عينة نتائج إيجابية لكل من MHT وCDT.

ولقد تم اختيار جينات الكاربابينيماز الخمسة التي تم بحثها في هذه الدراسة بناء على انتشارها بين العصويات سالبة الجرام وتمثيلها للفئات الرئيسية الثلاث من الكاربابينيماز والتي تشمل الفئة أ كاربابينيماز (bla_{KPC}) ، الفئة ب ميتالوبيتالكتاميز (bla_{IMP} و bla_{NDM} و bla_{VIM}) والفئة د كاربابينيماز (bla_{OXA-48}). تم إجراء الكشف الجزيئي من خلال تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل. و بلغ معدل انتشار كل من bla_{OXA-48} و bla_{NDM} و bla_{VIM} و bla_{KPC} 85 % و 82.5 % و 42.5% و10.8 % على التوالي .لم يتم اكتشاف bla_{IMP} في أي من العزلات المختبرة بينما لم يتم العثورعلى أي من الجينات المدروسة في ثلاث عزلات.

وقد تم دراسة العلاقة بين أنواع العزلات التي تم اختبارها ومدى انتشار الجينات المشفرة للكاربابينيماز. ولوحظ ارتباطٌ معنوي بين الأنواع المختبرة ووجود bla_{NDM} و bla_{OXA-48}.

وكشفت الدراسة الحالية أن الجينات المشفرة للكاربابينيماز كانت موجودة في الكليبسيلا بنسبة 90.12%، حيث سجل الجمع بين bla_{OXA-48} و bla_{NDM} أعلى معدل انتشار (35.8 %)، وكان النمط الظاهري الأكثر شيوعا الذي تم اكتشافه لهذا النمط الجيني هو النتائج الإيجابية لكل من MHT و CDT. علاوة على ذلك فقد لوحظ التعايش بين ثلاثة جينات مشفرة للكاربابينيماز (bla_{NDM} و bla_{VIM} و bla_{OXA-48}) بنسبة 33.3 % من عزلات الكليبسيلا التي تم اختبارها.

من البيانات التي تم الحصول عليها خلال هذه الدراسة يمكن إستخلاص الاستنتاجات التالية:

- أصبح انتشار البكتيريا سالبة الجرام المقاومة للكاربابينم تحديا خطيرا في أماكن الرعاية الصحية المصرية المختلفة.
- يوفر الجمع بين MHT و CDT واختبار حساسية المضادات الحيوية طرق فحص مظهرية مقبولة للكشف الأولي عن العزلات المنتجة للكاربابينيماز ومع ذلك ينبغي تأكيده بالفحص الجيني.
- ثبت أن تحديد جينات الكاربابينيماز باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي أكثر حساسية ودقة.
- كان bla_{OXA-48} متبوعا بـ bla_{NDM} أعلى معدل انتشار بين العزلات المختبرة.
- أكدت الدراسة الحالية ارتفاع معدل التعايش بين bla_{NDM} و bla_{VIM} و bla_{OXA-48} في مصر بين البكتيريا سالبة الجرام المقاومة للكاربابينم مما يشكل تحديا علاجيا للأطباء بسبب خيارات العلاج المحدودة وإمكانية الانتشار عالميا عبر النقل الأفقي للجينات.

ومن النتائج السابقة تم اقتراح التوصيات التالية:

- اختبار الحساسية الدوري وتحديد آليات مقاومة الكاربابينيم لتقييم جوانب العدوى التي تسببها البكتيريا سالبة الجرام المقاومة للكاربابينم ولتوفير استراتيجيات أفضل لمكافحة هذه العدوى.
- ينبغي تطبيق ارشادات صارمة للإشراف على المضادات الحيوية وسياسات الوصفات الطبية للحد من مشكلة تطور مقاومة المضادات الحيوية بين العصويات سالبة الجرام.
- يجب اعتماد استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل أو مجموعة من طرق النمط الظاهري للكشف عن الجينات المشفرة للكاربابينيماز للكشف عن مقاومة الكاربابينيم بين عزلات العصويات سالبة الجرام.
- هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات الجينية لتحديد الجينات المشفرة للكاربابينيمازالأخرى بين العصويات سالبة الجرام المقاومة للكاربابينيم وتوضيح آليات انتقالها.