المقارنة بين طرق التنميط المظهرية و الوراثية المختلفة للكشف عن إنزيمات Metallo β-Lactamase في بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية

اعداد

انعام خالد ادريس

اشراف

د.أحمد محمود الهجن

د. هاني زكريا عصفور

المستخلص

منذ اكتشاف المضادات الحيوية في القرن العشرين، عملت على خفض تهديد الأمراض جوهريا. حيث أدت إلى خفض نسبة الوفيات بسبب الأمراض التي كانت غير قابلة للعلاج قبل اكتشاف المضادات الحيوية. أما الآن فقد أصبحت مقاومة المضادات الحيوية مشكلة صحية عامة حول العالم تتزايد باستمرار، و أحد أجزاء هذه المشكلة هو أن البكتيريا المسببة للأمراض مرنة جدا و قد طورت عدة طرق لمقاومة المضادات الحيوية. في الوقت الحاضر حوالي 70% من البكتيريا التي تسبب الإصابات في المستشفيات مقاومة على الأقل لإحدى المضادات الحيوية المستخدمة في العلاج بشكل عام. بعض البكتيريا مقاومة لكل المضادات الحيوية أو معظمها و يمكن معالجتها فقط بالمضادات شديدة السمية. و يمكن للبكتيريا تطوير مقاومتها للمضادات الحيوية من خلال التغييرات في مادتها الوراثية أو الحامض النووي. البكتيريا ذات كفاءة عالية جدا في تطوير مقاومتها ضد المضادات الحيوية و ذلك ليس فقط بسبب قدرتها على التضاعف بسرعة و إنما لأن لديها القدرة أيضا على نقل جيناتها بسهولة أثناء التضاعف. و من أمثلة تلك البكتيريا المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية بكتيريا السيدوموناس اريجينوزا و تعتبر هذه البكتيريا هي المسبب المرضي الرئيسي للإصابات المكتسبة في المستشفيات و هي ذات مقاومة متعددة لمضادات حلقة البيتالاكتام . هذه المقاومة لهذا النوع من المضادات الحيوية يظهر عن طريق الإنتاج المرتفع للإنزيم المسئول عن تكسير حلقة البيتا لاكتام. حتى الوقت الحاضر تم الكشف عن 21 نوع مختلف من هذه الإنزيمات و التي يتزايد إنتاجها و تكون سبب رئيسي في مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية حيث أنها تثبط عملها و تكسر حلقة البيتالاكتام. لذا فقد أجريت هذه الدراسة لمعرفة الطريقة الأفضل للكشف المبكر و الدقيق لهذه الإنزيمات بشكل روتيني في مختبرات الأحياء الدقيقة لتطبيق إجراءات السيطرة الكافية لمنع انتشارها خاصة في المستشفيات وقد صممت الدراسة باستخدام طرق التنميط المظهرية بواسطة اختبار EDTA و Etest، إضافة إلى تفاعل البلمرة المتسلسل كطريقة وراثية على 34 سلالة من بكتيريا

سيدوموناس اريجينوزا و التي أظهرت مقاومتها للمضادات الحيوية من بين 174 سلالة تم جمعها خلال عام من مستشفى الملك عبد العزيز و مركز الأورام بجدة و المقارنة بين هذه الطرق لمعرفة الطريقة الأسرع و الأدق في الكشف عن الإنزيمات . و قد أظهرت نتائج الدراسة أن أكبر نسبة إصابة بعدوى المستشفيات كانت في وحدة العناية المركزة بنسبة 25.3% و التي تم الحصول عليها من مسحات الجروح بنسبة 32.8%، كما أظهرت النتائج قدرة البكتيريا العالية و المتعددة لمقاومة المضادات الحيوية حيث كانت نسبة مقاومتها للمضاد الحيوي **Imipenem** بنسبة 23.5% و للمضاد الحيوي **Meropenem** بنسبة 22%، كما أظهرت نتائج الاختبارات الوراثية أن 6% من السلالات كان حاملا للجين المسئول عن إنتاج أحد أنواع هذه الإنزيمات **IMP-1**. و تعتبر طريقة التنميط المظهرية باستخدام أشرطة **Etest** الأكثر دقة في الكشف عن الانزيم حيث أنه يعتمد على حساب أقل تركيز مثبط للبكتيريا. أظهرت خلاصة هذه الدراسة أن نسبة انتشار عدوى المستشفيات بواسطة بكتيريا سيدوموناس اريجينوزا و التي تكتسب صفة المقاومة للمضادات الحيوية عالية بين مرضى وحدة العناية المركزة و عليه فإنه من اللازم عمل إجراءات الوقاية لمنع انتشار هذه العدوى و السيطرة عليها.

Comparison Between Different Phenotypic and Genotypic Methods for Detection Of Metallo β-Lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* that has Multi-drug Resistance to Antibiotics

By:

Enaam Khalid M. Idrees

Supervisor :

Dr. Ahmed Mahmoud Alhejin

Dr. Hani Zakaria Asfour

Abstract

Since their discovery during the 20th century, antimicrobial agents have substantially reduced the threat posed by infectious diseases, it has led to a dramatic drop in deaths from diseases that were previously widespread, untreatable, and frequently fatal. But now the Antibiotic resistance is a worldwide public health problem that continues to grow. One part of the problem is that bacteria and other microbes that cause infections are remarkably resilient and have developed several ways to resist antibiotics. Nowadays, about 70% of the bacteria that cause Health Care Associated Infections are resistant to at least one of the drugs most commonly used for treatment. Some organisms are resistant to all approved antibiotics and can only be treated with experimental and potentially toxic drugs. Infection-causing bacteria that were formerly susceptible to an antibiotic can develop resistance through changes in their genetic material, or deoxyribonucleic acid (DNA). Bacteria are particularly efficient at enhancing the effects of resistance, not only because of their ability to multiply very rapidly but also because they can transfer their resistance genes, which are passed on when the bacteria replicate. The *Pseudomonas aeruginosa* is the example of Multiple Drug resistance Bacteria and it is a significant opportunistic pathogen and a major cause of HAIs that have multi drug resistant for β-Lactam antibiotics. Resistant to antipseudomonal-β-Lactams may arise via hyperproduction of an IMP Metallo-β-Lactamase enzyme. At present, 21 IMP MBLs variants have been detected and it is increase producing. MBLs is a major cause of antibiotic resistance by hydrolyzing β-Lactam

antibiotics. This study was designed to evaluate the best method to rapid and accurate detection of IMP-1 as a routinely procedure in Microbiology laboratory to implement adequate infection control measures to prevent its spread specially at hospitals by using two phenotypic methods (EDTA, Etest) and PCR amplificition method as genotypic detection on 34 isolates of *P. aeruginosa* that were shown resistance to Imipenem and Meropenem from 174 isolates of *P. aeruginosa* that isolated from King Abdulaziz Hospital and Oncology Center, Jeddah during one year, and comparison between this methods to determine which the more rapid and accurate method to detection of MBLs. The results were shown that the intensive care unit was the most of the source of infection (25.3%), and the great majority according to the site of infection was obtained from wounds swab (32.8%), the results also were shown that *P. aeruginosa* was observed high rates of multi drug resistance where 23.5% were resistant to Imipenem and 22% were resistant to Meropenem, and 6% of isolates were contained IMP-1 gene. The Etest strip method was more accurate method to detection of MBL where it depends on determine the minimal inhibitory concentration. In conclusion, this study was shown that the prevalence of HAIS by *P. aeruginosa* that had multi drug resistant was high among patients who were admitted to the ICU. Accordingly, the spread of infection should be prevent by the implement adequate infection control measures.