

**معدل انتشار إنتاج الانزيم الممتد المجال بيتالاكتاميز
في الايشيرشيا كولي بين العاملين في مجال الرعاية
الصحية في مستشفى جامعة الفيوم**

بحث مقدمة من

الطيبه

سلفانا نا دي جابر

توطئة للحصول علي درجة الدكتوراه

في الميكروبولوجيا الطبية و المناعة

تحت إشراف

أ.د احمد اشرف وجдан

استاد الميكروبولوجيا الطبية و المناعة

كلية الطب- جامعة الفيوم

د.رشا حامد احمد بسيونى

استاد مساعد الميكروبولوجيا الطبية و المناعة

كلية الطب- جامعة الفيوم

جامعة الفيوم

2013

الملخص رساله الدكتوراه

معدل إنتشار إنتاج الأنزيم الممتد المجال بيتالاكتاميز في الايشيريشيا كولي بين العاملين في مجال الرعاية الصحية في مستشفى جامعة الفيوم

المقدمة:

الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBLs هي الانزيمات البلازميدية التي تحل الجيل الثالث من الكيفالوسبورن (مونوباكتمس (ازيترونام) ولكن ليس لها أي تأثير على كيفاميسنس (سيفوكسيتين، سيفوتينين) و الكاربابينيمز. وقد وجد أنها تثبت بحمض الكلافولانيك ، سالبكتام و تادوباكتم . وهذه هي الخاصية التي تساعدها على الكشف عنها في المعامل . ويمكن تصنيف الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBLs بوساطة البلازميد إلى ثلاثة أنواع رئيسية هي: TEM، SHV و M-CTX. هناك فئه أخرى من بيتالاكتاميز وهي AmpC، يمنح مقاومة للجيل الثالث من الكيفالوسبورينات و كيفاميسن. و لا تثبت بحمض الكلافولانيك. ويمكن أن تتولد عن طريق جينات الكروموموسومات أو البلازميد. ولقد زادت الميكروبات المنتجة للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBLs و AmpC في المستشفيات و المرافق المجتمعية ، ولذا فان الخيارات العلاجية المضادة للميكروبات لعلاج الالتهابات التي تسببها الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBLs و AmpC محدودة. يمكن للبكتيريا المعاوية من الأفراد الأصحاء في المستشفيات وفي المجتمع ان تمثل مستودعا للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBLs و جينات AmpC البلازميدية.

هدف العمل:

أجرينا دراسة لتحديد معدل انتشار الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز AmpC و ESBLs في الايشيريشيا كولي الموجودة في البرازبين العاملين في مجال الرعاية الصحية في مستشفى جامعة الفيوم بواسطة الطرق الميكروبولوجية التقليدية وعلى الأساس الجزيئي.

المرضى وطرق البحث:

وقد تم تجميع ٢٠٠ عينة من البراز من العاملين في مجال الرعاية الصحي وزرعت على مزارع ماكونكي في غضون ٤ ساعات من أخذ العينات ، ويتم تحضيرها هوائياً عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة

التعرف على الايشيريشياكولي:

- ظهور البكتيريا ، الفحص المجهرى لتحضير صبغة جرام ، والتقاعلات البيوكيميائية
- اختبار انتشار حساسية المضادات الحيوية: تم اختبار عزلات الايشيريشياكولي لإنتاج بيتالاكتاميز باستخدام ٩ مضادات حيوية ، مما ساعد في فحص ESBL و AmpC β - الذي تم إجراؤه بواسطة طريقة نشر قرص مضادات حيوية على مزارع مولر هنتون اجار.
- اختبار الحساسية لمضادات الميكروبات طرق فحص إنتاج ESBL بواسطة الايشيريشياكولي:

 - الفحص المظهرى لأنزيمات (ESBL) وإنزيمات AmpC

I. طريقة الأقراص المدمجة

II. اختبار الأقراص التاكيدى المزدوج (DSDT): (الكشف المؤكد المظهرى لـ - AmpC المخفي أو ESBL وكلاهما)

- تم تنفيذ تفاعل البلمرة المتعدد للبحث عن جينات ترميز بيتالاكتاميز التي تتنتمى إلى blaTEM و blaCTX-M group1 و blaSHV و CIT.

النتائج:

ووجد ان معدل انتشار الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL في الايشيريشيا كولي بين العاملين في مجال الرعاية الصحية هو ٢١٪ (٤٢/٤٠) ومعدل انتشار بيتالاكتاميز AmpC ١٪ (٢٠٠/٢) و ٢٪ (٤/٢٠٠) تحمل مجتمعة للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL و AmpC.

معدل انتشار الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL من الايشيريشيا كولي الموجودة في البراز بين العاملين في مجال الرعاية الصحية من عناير مختلفة كان على النحو التالي: ١٪ (١/٤٦) في عناير الطب الباطنى و وحدة العناية المركزية، تليها ٥٪ (٣٩/٦) في اقسام العمليات، ٥٪ (٥/٢٧) من عيادات المرضى الخارجية ، ٤٪ (٤٠/٩) من الجراحة، ٦٪ (٣/٢٢) من قسم الأطفال ، ٨٪ (٢/١٧) في قسم النساء و التوليد و ١٪ (١/٩) في المعمل، وقد تم الكشف عن AmpC البلازميدي من اللايشيريشيا كولي في غرف العمليات . في حين تم الكشف عن الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL و AmpC البلازميدي مجتمعة من عناير الطب الباطنى و وحدات العناية المركزية.

وكانت جميع العزلات ٢٠٠ ، قد استجابت للإمبينيم. وأيضا للأميكاسين. العزلات أظهرت مقاومة أعلى للسيفatzيديم .

وقد تم الكشف المظاهري عن الانزيمات بواسطة قرص اختبار الانتشار و أظهر ٢٩.٥ % مقاومة لواحد أو أكثر من الجيل الثالث للسيفالوسبورينات . وبين الجيل الثالث للسيفالوسبورينات المستخدمة في الفحص وجد ان سفتازيدم لديه خصوصية جيدة (١٠٠٪)، افتقر سيفوتاكسيم للحساسية (٥٢.٣٪).

كشف اختبار الكشف المظاهري للAmpC البلازميدي عن طريق مقاومة سيفوكسيتين عن ٨٪ إيجابي للAmpC البلازميدي مع حساسية ١٠٠٪، و دقة ٨٣٪ مقارنة مع تفاعل البلمرة المتسلسل.

اختبار الأفراد التاكيدى للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL كشف عن ٦٢.٧٪ ينتجون للا نزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL مع حساسية ٨٦٪، وارتفاع قيمة تنبوئية إيجابية بنسبة ١٠٠٪ و دقة ٩٠٪ مقارنة مع تفاعل البلمرة المتسلسل.

كشف اختبار الأفراد التاكيدى (DSDT) للكشف عن AmpC البلازميدي و الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL وللـAmpC البلازميدي مجتمعة عن ٢٢.٧٪ من الايشيريشيا كولاي ينتجون AmpC البلازميدي و ٢.١٨٪ للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL ولـAmpC البلازميدي مجتمعة و كذلك ٥٩.١٪ كانت عزلات سلبية مع حساسية ١٠٠٪ و دقة ٨٦٪ مقارنة مع تفاعل البلمرة المتسلسل.

وقد كشف التحليل الجزيئي ان انتشار الجينات كان على النحو التالي : ١٩٪ كانت جينات الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL ، ومن بين هذه العزلات ، وكانت ٩٤.١٪ جين SHV، ١٨.٤٪ TEMجين و ٥.٣٪ CTX-M جين . ٧.٩٪ لديه نوعين من جينات الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL . كان ١٪ من العزلات تنتج جينات AmpC البلازميدي ، بينما ٢٪ من العزلات الجينات تنتج الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز ESBL

وللـAmpC البلازميدي مجتمعة. وجد أن جينات SHV هي المهيمنة بين سلالات الـAmpC البلازميدي كولاي المقاومة للمضادات الحيوية بين العاملين في مجال الرعاية الصحية.

توصيات:

- ونوصي بالكشف عن الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز AmpC و ESBL البلازميدي باختبار الكشف التاكيدي DS-DT (باستخدام حمض البورونيك وحمض الكلافولانيك) حيث انه بسيط و أي مختبر علم الأحياء الدقيقة تستطيع ان تفعل ذلك جنبا إلى جنب مع اختبار الحساسية للمضادات الحيوية الروتينية (الكشف المظاهري عن الانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز AmpC و ESBL البلازميدي).

- هناك مشكلة وبائية تهدد بنشر الكائنات المنتجة للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز AmpC و ESBL البلازميدي- للمرضى في المستشفيات و الأشخاص الأصحاء في المجتمع. هذا يتطلب اتخاذ تدابير مكافحة العدوى السليمة بما في ذلك تحسين النظافة و الكشف المنتظم للعزلات المنتجة للانزيمات الممتدة المجال بيتالاكتاميز AmpC و ESBL البلازميدي.