

## التشخيص بالبيولوجيا الجزيئية الحديثة للأمراض المعدية (I)



دكتور/ ناجي الحاج

أستاذ البيولوجيا الجزيئية والأحياء الدقيقة الطبية المساعد- كلية الطب- صنعاء

سفير جمعية الميكروبيولوجي الأمريكية في اليمن

أصبحت التقنيات الحديثة المستخدمة في تشخيص مسببات الأمراض والتي تعتمد علي تقنية البيولوجيا الجزيئية تحتل مركز الصدارة والاهتمام في كثير من مختبرات البلدان المتقدمة. إن الثورة الكبيرة التي أحدثتها ظهور هذه التقنيات في تقييم المرضى الذين يعانون من الأمراض المعدية المفترضة وطرق التشخيص الجزيئي تعتمد بشكل أساسي علي تضخيم المواد الجينية المحددة لـ (DNA) وهذا ما يجعل هذه التقنية ذات حساسية وخصوصية عالية و بالإمكان الكشف عن المسببات الممرضة في وقت أسرع مقارنة بالفحوصات التقليدية إضافة إلي ذلك استخدام طرق التشخيص الجزيئي لتحديد الفروق الجينية وتوصيف مسببات الأمراض ونوعية الجينات المقاومة للأدوية.

ولان هذه التكنولوجيا رغم حداثها والثورة التي أحدثتها في الخدمات الطبية والتشخيصية فهي لا تقتصر علي دول بعينها بل تحتاج إلي عقول تدرك أهميتها وضرورة مواكبة هذه التقنية وإدخالها في بلد مثل اليمنونلن أكون مبالغاً إذا ذكرت في هذا المقال أنني بعد حصولي علي درجة الدكتوراه من مملكة ماليزيا وما تلي ذلك من عمل كزميل أبحاث ما بعد الدكتوراه في أبحاث البيولوجيا الجزيئية وتقنية النانوتكنولوجي لأكثر من عامين ونصف فلقد هممت كيف سأتمكن من تطبيق ما تعلمت في اليمن ولم أكن أتوقع دخول أجهزة هذه التقنيات وتطبيقها في اليمن.

وفي الجزء الأول من هذا المقال سأحاول تسليط الضوء علي استخدام البيولوجيا الجزيئية في تشخيص مسببات الأمراض الجرثومية والفيروسية واستخدام هذه التقنيات الحديثة في الطب الجنائي والأمراض الوراثية وتشخيصها حيث انه جرت العادة في تتبع مسببات الأمراض فيروسية أو بكتيرية علي الاعتماد علي الأوساط الغذائية لنمو هذه الجراثيم أو في مزارع خلوية لبعض الفيروسات أو باستخدام طرق الكشف المناعي وما يصاحب ذلك من عقبات كالتأخر في إصدار النتائج وتكلفة المواد وتحضيرها أو عدم مطابقتها وما يصاحب ذلك من مصادر التلوث المتنوعة والمخاطر التي يتعرض لها العاملون في المختبر.

من هنا كانت ثورة التكنولوجيا والتي بدأت بعد اكتشاف الجهاز المساعد علي تضخيم الحامض النووي (DNA) والمسمى Polymerase Chain Reaction علي يد العالم الكيمائي Kary Mullis منتصف الثمانينات والحائز علي جائزة نوبل 1993م لهذا الاكتشاف.

أضف إلى ذلك طرق تحديد التسلسل النيكلوتيدي Nucleotides Sequencing والذي أدى إلى إحداث تغيير كبير بالطرق المخبرية التقليدية المتبعة في تشخيص الأمراض وما لهذه الطرق من المقدرة على تحديث الوسائل التي يتم بموجبها إجراء الاختبارات التشخيصية والتنميطية والبائية في المختبر الجرثومي لتحقيق درجة عالية من الدقة والعناية بالمرضى سواء في عيادات المجتمع أو في المستشفيات.

ومما لاشك فيه أن البيولوجيا الجزيئية وتطورها السريع مع تنوعها قد مثل جانب سلبي في عدم مقدرة كثير من المختبرات في الدول النامية من اقتناء هذه التكنولوجيا نظراً للكلفة الباهظة مما جعل استخدامها ينحصر في المختبرات الكبيرة والمرجعية المتخصصة.

أولاً: استخدام البيولوجيا الجزيئية في التشخيص الجرثومي.

### 1- السرعة والدقة في التشخيص.

في حالات مثل التهاب السحايا نجد أن استخدام الطرق المتعارف عليها في المختبر تأخذ وقت وقد تستغرق عدة أيام مما يؤدي إلى إعطاء المرضى مضادات حيوية بشكل اعتباطي حتي تظهر نتائج الزرع ومن هنا تبرز أهمية التشخيص السريع والدقيق لمثل هذه الحالات لتلاشى العواقب الوخيمة والتي قد تؤدي بحياة المريض ما لم يتم صرف العلاج المناسب.

ولذلك فإن طرق التشخيص الجزيئي مثل Polymerase Chain Reaction والتي تمكنا من الحصول علي نتائج في نفس اليوم والتي تحدد هوية المسبب ورفع التقرير الصحيح للأطباء للبدء بالعلاج الصحيح. كما أن هناك طرق تشخيص جزيئي بإمكانها الكشف عن الأنماط المختلفة لمسببات الالتهاب السحائي وتسمى Polymerase Chain Reaction Multiplex.

أولاً: استخدام البيولوجيا الجزيئية في التشخيص الجرثومي.

### 1- السرعة والدقة في التشخيص.

في حالات مثل التهاب السحايا نجد أن استخدام الطرق المتعارف عليها في المختبر تأخذ وقت وقد تستغرق عدة أيام مما يؤدي إلى إعطاء المرضى مضادات حيوية بشكل اعتباطي حتي تظهر نتائج الزرع ومن هنا تبرز أهمية التشخيص السريع والدقيق لمثل هذه الحالات لتلاشى العواقب الوخيمة والتي قد تؤدي بحياة المريض ما لم يتم صرف العلاج المناسب.

ولذلك فإن طرق التشخيص الجزيئي مثل Polymerase Chain Reaction والتي تمكنا من الحصول علي نتائج في نفس اليوم محددة هوية المسبب ورفع التقرير الصحيح للأطباء للبدء بالعلاج الصحيح علماً ان هناك طرق تشخيص جزيئي بإمكانها الكشف عن الأنماط المختلفة لمسببات الالتهاب السحائي وتسمى Polymerase Chain Reaction Multiplex.

- تشخيص المسببات الجرثومية التي لا تنمو في المختبر أو أنها بطئ النمو.

إن طرق البيولوجيا الجزيئية قد ساهمت في التخفيف من استخدام التطرق التقليدية المعتمدة على زراعة الجراثيم والتي قد تحتاج من عدة أيام إلى عدة أسابيع أو قد تفشل في تكثير وتنمية الجراثيم مثل عصيات او *Mycobacterium tuberculosis* او *Neisseria gonorrhoea* او *Bordetella pertussis* او *Chlamydia trachomatis* والتي يمكن الكشف عنها بواسطة التشخيص الجزيئي للأحماض النووية .

وكذلك ساهمت هذه الطرق الحديثة في الكشف عن كثير من مسببات الأمراض المتنقلة جنسيا نظرا للدقة والحساسية العالية مقارنة بالفحوصات التقليدية خاصة إذا ما علمنا أن العينات المطلوب تشخيصها بالطرق

الحديثة اقل إخراجا ويكتفي في بعض الحالات بعينات سهلة مثل البول أو مسحات مهبلية بإمكان المرأة القيام بجمعها بنفسها.

ومن هنا فان حساسية ونوعية طرق التشخيص الجزيئي المطبقة على عينات البول مازالت دون مثيلاتها التقليدية المطبقة على عينات المسحات من عنق الرحم حيث ثبت أن المسحات المهبلية أعطت أفضلية لطرق التشخيص الجزيئي بحساسية ونوعية عالية تفوق نتائج الزرع لعينات عنق الرحم.

### 3-تشخيص نوعية المقاومة للمضادات الحيوية.

لقد أصبح انتشار الجراثيم المقاومة للأدوية تمثل هاجسا كبيرا لكثير من الدول وخاصة ما يتعلق بانتشار هذه الميكروبات في المواقع الصحية مثل المستشفيات والمستوصفات فأصبح المريض يدخل المستشفى للعلاج من ألم ويخرج مصابا بألم اشد فتكا وقد يتعرض بعض أقارب المرضى والحالات التي تعاني من اختلال مناعي لمثل هذا النوع من الإصابات القاتلة.

إلا أن كشف النمط الجزيئي الخاص بالمقاومة الجرثومية للمضادات الحيوية يلعب دوراً حيوي ومهم في تحري سلالات المسببات المرضية التي قد تتطور عندها صفة مقاومة المضادات الحيوية مثل:

*Vancomycin Resistant (Methicillin Resistant Saphylococcus aureus) (MRSA)* او *Enterococci (VRE)* كما أن تفريق سلالات الـ *MRSA* عن باقي العقنوديات الذهبية يتم بالكشف عن المورثة *mecA* المسؤولة عن صفة المقاومة *Methicillin* مثل ذلك أيضا ما ظهر عن بعض المسببات المرضية القولونية *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* المنتجة للإنزيمات المؤثرة بشكل قوي وواسع الطيف في حلقة  $\beta$ -lactamases للمضادات الحيوية من زمري *Cephalosporins* , *Pencillin* او *Extended spectrum*  $\beta$ -lactamases وهذه الجراثيم تشكل خطرا ويمكن أن تنتشر بشكل سريع في المراكز الطبية مسببة مشاكل للأشخاص المصابين بالتهابات الجروح والحروق، التهابات مجاري بولية. إن الكشف عن هذه السلالات في المختبر يتطلب وجود تقنيات البيولوجيا الجزيئية حيث أن اختبارات التحسس على المضادات غالبا ما تفشل في الكشف عنها حيث يتم الكشف الجزيئي عن هذه السلالات عبر الكشف عن *Point Mutation* ضمن الموقع الفعال من المورثة المنتجة لـ ( $\beta$ -lactamase).

لقد أدى ظهور سلالات من عصيات *Mycobacterium tuberculosis* المقاومة للعديد من المضادات الحيوية تحديداً (*rifampicin and isoniazid*) يعد مشكلة خطيرة في بعض دول العالم مثل دول أوروبا الشرقية. إن الطرق التقليدية للكشف عن مقاومة هذه السلالات من عصيات مرض السل تتطلب فترة زرع طويلة وتأخر في التشخيص حتى عدة أسابيع مما يزيد من مخاطر انتقال هذه السلالات إلى المجتمع ولذلك تتوفر حالياً تقنية *Multiplex Polymerase Chain Reaction* للمورثتين *hsp65*, *rpoB* مما يسهل التحري عن معظم السلالات المقاومة للمضادات في نفس اليوم.

( يتبع في الجزء الثاني إن شاء الله )

## References

- 1- Harald Kessler(2010).Molecular diagnostics of infectious diseases. Walter de Gruyter GmbH & Co. KG, Berlin/New York.
- 2- Millar BC, XuJ(2006). and Moore JE. Molecular diagnostics of medically important bacterial infections. Current Issues on Molecular Biology, 9: 21–40.

- 3- Nagi. A. AL-Haj, Mariana. N.Shamsudin, A.R. Raha and ZamberiSekawi. 2007. Simultaneously Detection of *EnteropathogenicE.coli* and Shiga toxin-producing *E. coli* by Polymerase Chain Reaction. Journal of Applied Science 7 (17).2531-2534.
- 4- Nagi A. AL-Haj, E. Amghalia, Mariana N. Shamsudin, Rasedee Abdullah, RahmahMohamedand ZamberiSekawi. 2009. Novel Molecular Analysis for Characterization of Staphylococcal Cassette Chromosome in a Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Isolated from Malaysian Hospital. Research Journal of Biological Sciences. (8): 943-947.
- 5- Nagi. A. AL-Haj, Lai .L. Suang,Mariana. N.Shamsudin, Rasedee Abdullah, Rahmah .Mohamed and Zamberi Sekawi.2009. Polymerase Chain Reaction and Cloning of *Burkholderiapseudomallei* Putative Genes. Research Journal of Medical Sciences 3 (3): 104-110.
- 6- Nagi. AL-Haj, N.S. Mariana, A.R. Raha and Z. Ishak 2008. Detection of diarrheagenic*Escherichia coli* isolated using molecular approaches. Research Journal of Microbiology 3(5) 359-367.
- 7- Speers DJ (2006).Clinical applications of molecular biology for infectious diseases. Clinical Biochemistry Review, 27: 39-51.