الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي
جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الطب المخبري

دراسة نسبة انتشار جرثومة الأمعائية (الأنتروباكتر) لدى المرضى المقيمين في مشفى المواساة و حساسيتها للصادات

Study of prevalence of enterobacter in resident patients in Al- Muasaa hospital and its susceptibility to antibiotics

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا (الماجستير)
في الطب المخبري

بإشراف
المدرّس الدكتور
أحمد السحّار

برئاسة
الأستاذة الدكتورة
رويدة أبو سمرة

إعداد طالبة الدراسات العليا
د. فرح رضوان القدّاح

2017 م - 1439 هـ

الفهرس

العنوان	رقم الصفحة
القسم النظري	1
مقدمة	2
لمحة تاريخية	3
التصنيف	4
شكل العامل الممرض	5
الصفات الكيميائية الحيوية للانتروباكتر	8
الوبائيات	10
الآلية الإمراضية	13
مصدر العدوى	14
عوامل الخطورة	15
التظاهرات السريرية	16
التشخيص	18
المعالجة	20
الوقاية	24
المقاومة الدوائية	25
القسم العملي	30
هدف الدراسة	31
الطرائق و المواد	31
مكان و زمان الدراسة	31
مجموعة الدراسة	31
حجم العينة المدروسة	31
المواد المستخدمة و شرح الكيت	31
استمارة الدراسة	40
طريقة العمل	41
نتائج الدراسة	42
مناقشة النتائج	54
الدراسات المقارنة	58
التوصيات والمقترحات	61
المراجع	62

الدراسة النظرية

مقدمة

تصنف عائلة الامعائيات كعائلة كبيرة من العصيات سلبية الغرام تتواجد في القولون عند الإنسان وبعض الحيوانات، كثير منها كجزء من النبيت الجرثومي الطبيعي وهي الجزء الأكبر من الجراثيم اللاهوائية المخيرة في الأمعاء الغليظة.

وبالرغم من جمع أعضاء عائلة الامعائيات معاً من الناحية التصنيفية إلا أن تلك الجراثيم تسبب جملة من الأمراض بآليات إمراضية مختلفة.

ومنها جرثومة الانتروباكتر (الامعائية) التي بالإضافة إلى وجودها في الأمعاء الغليظة فإنها في الوقت نفسه تعتبر من الجراثيم الانتهازية لقدرتها على إحداث أخماج مشفوية متعددة لدى الإنسان خاصة في حال التعرض لإجراءات راضة.[1]

ولذلك، و نظرا لمقاومتها المتزايدة للصادات كان هذا البحث لتحري نسبة انتشارها في مشفى المواساة الجامعي و حساسيتها للصادات.

أولاً- لمحة تاريخية: [2]

كان أول وصف للانتروباكتر كعضية مستقلة عام 1960 من قبل Hormaeche and Edwards.

سابقاً حتى نهاية القرن التاسع عشر عزلت عصية lactis aerogenes من قبل Escherich من الحليب، ثم سميت Aerobacter aerogenes من قبل Beijerinck.

و حتى عام 1955 لم يكن تمييز هذه العضية عن Klebsiella pneumoniae واضحاً، و أغلب العلماء كانوا يعتبرونها إما غير متحركة أو تضم سلالات متحركة و أخرى غير متحركة.

وهذا ما قاد Edwards and Fife عام (1955) لاعتبار أن سلالات Aerobacter aerogenes هي في الحقيقة من سلالات الكلبسيلا.

أما بكتيريا الـ Cloacae فقد وصفت من قبل Jordan عام 1890.

ومع الوقت تطور تصنيف الانتروباكتر حتى قام Hormaeche and Edwards عام 1960 بوصف عضية جديدة سميت Enterobacter كبديل للـ Aerobacter ، وقد تضمنت حينها الـ Cloacae و Aerogenes.

ولاحقاً أصبحت عدة أنواع أخرى تنضوي تحت جنس الانتروباكتر.

ثانياً- التصنيف:

يتضمن جنس الانتروباكتر ما يزيد عن 12 نوع حيث تتضمن [2]:

- Cloacae
- Aerogenes
- Gergoviae
- Sakazakii
- Intermedium
- Amnigenus
- Cancerogenus
- Asburiae
- Nimipressuralis
- Dissolvens
- Agglomerans: pantoea تصنف حديثاً ضمن جنس
- Hormaechei

ويدخل في التصنيف أيضا: Enterobacter cloacae complex
الذي يضم: [3]

- Cloacae
- Asburiae
- Hormaechei
- Kobei
- Ludwigii
- Nimipressuralis

ثالثاً- شكل العامل الممرض:

- ❖ عصية سلبية الغرام.
- ❖ أبعادها: 1-0.6 × 3.0-1.2 ميكرومتر.
- ❖ متحركة
- ❖ درجة الحرارة المثلى لنموها هي 30^oC ومع ذلك أغلب الحالات تنمو جيداً بدرجة 37^oC. [4]
- ❖ تشترك مع باقي أفراد عائلة الامعائيات بالصفات التالية: [1]
  - ➢ لا هوائية مخيرة
  - ➢ جميعها تخمر الغلوكوز
  - ➢ سلبية الأوكسيداز
  - ➢ ترجع النترات إلى نتريت كجزء من عملية توليد الطاقة
- ❖ على آغار الحديد ثلاثي السكر (TSI) تتميز بالصفات التالية: [1]
  - ➢ H_2S سلبي
  - ➢ تنتج غاز بشكل فقاعات
  - ➢ القعر والسطح تفاعلهما حمضي

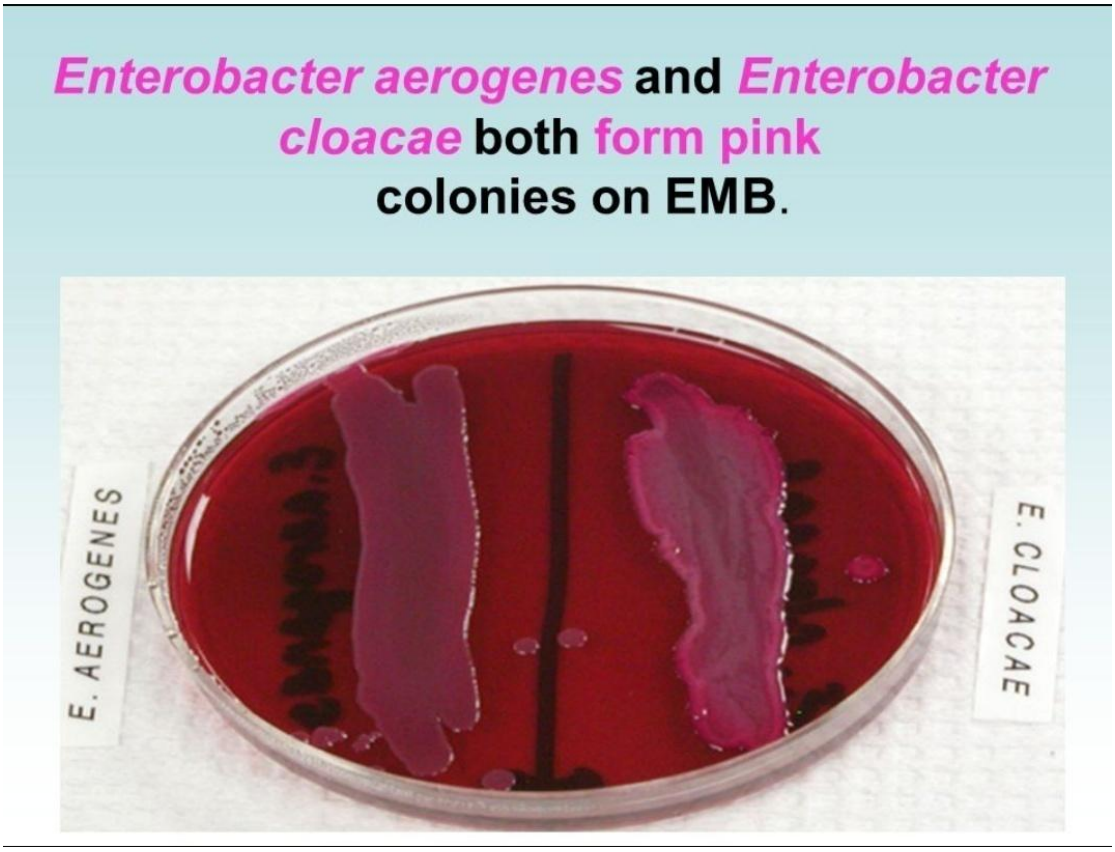
- ❖ على الآغار المغذي [2]: مستعمرات دائرية بقطر 2-3 mm مسطحة مع حواف غير منتظمة.

E.sakazakii تعطي مستعمرات بلون أصفر واضح بدرجة حرارة 25^oC أو أصفر شاحب بدرجة 37^oC و بقطر 1-3 mm ، ناعمة ، مخاطية أو جافة. كذلك E.agglomerans قد تنتج صباغاً أصفر.

- ❖ على الآغار المدمى (Blood Agar): مستعمرات رمادية كبيرة، جافة أو مخاطية [5].

- ❖ على آغارماكونكي وآغار EMB: مستعمرات زهرية مخمرة للاكتوز [1] [5] .

مستعمرات الانتروباكتر على الآغار المدمى



الانتروباكتر على آغار الـ EMB

صورة تبين الفرق بين مستعمرات الانتروباكتر و الكلبسيلا و الاشرشياكولي على آغار الـ EMB

رابعاً- الصفات الكيميائية الحيوية للانتروباكتر:

تفيد الاختبارات الكيميائية الحيوية كثيراً في تمييز الانتروباكتر عن باقي أفراد عائلة الامعائيات.

❖ الصفات الكيميائية الحيوية للانتروباكتر cloacae: [6]

الاختبار	النتيجة
Indole	-
Methyl red	-
voges – proskauer	+
citrate	+
H_2S (TSI)	-
Phenylalanine deaminase	-
Lysine decarboxylase	-
Arginine dihydrolase	+
Ornithine decarboxylase	+

❖ الصفات الكيميائية الحيوية لـ E. cloacae من مرجع آخر: [7]

الاختبار	النتيجة
الكاتالاز	+
تخمير الغلوكوز	+
Beta galactosidase	+
V.P	+
سيترات	+
تنتج غاز من الغلوكوز	+
L-Arabinose	+
Cellobiose	+
Maltose	+
D-mannitol	+
D-mannose	+
Melibiose	+
Raffinose	+
L-Rhamnose	+
D-Sorbitol	+
Sucrose	+
Trehalose	+
D-xylose	+
Arginine dihydrolase	+
Ornithine decarboxylase	+

❖ الفرق في الصفات الكيميائية الحيوية بين الانتروباكتر Aerogenes و Cloacae: [2]

الاختبار	Aerogenes	Cloacae
Ornithine decarboxylase	+	+
Arginine dihydrolase	-	+
Lysine decarboxylase	+	-

خامساً- الوبائيات:

تنتمي جرثومة الانتروباكتر إلى عائلة الامعائيات Enterobacteriaceae.
تتواجد في الماء والتربة، ولكن نوعيها Cloacae وaerogenes يمكن أن يكونا من مكونات الفلورا المعوية عند الإنسان والحيوان كما يتواجدان في مياه الصرف الصحي.[4]

وقد ربطت عدواها مع الاستشفاء وخاصة الإجراءات الراضة كالقثاطر الوريدية وتنبيب الرغامى وتداولات السبيل البولي.[1]

وهي جرثومة انتهازية من النادر أن تسبب أخماجاً لدى الأصحاء ولكن أنواعها يمكن أن تسبب أيضاً عدة أخماج مكتسبة في المجتمع تتضمن أخماج السبيل البولي، أخماج الجلد والنسج الرخوة وأخماج الجروح [8].

قد تنتقل عبر الأيدي في وحدات العناية بحديثي الولادة، حيث أنها كما الكلبسيلا تستطيع العيش على الأيدي [4].

وهي أشيع انتشاراً بين الذكور وكبار السن والمواليد الجدد [8].

ويُذكر أن نوعيها: cloacae وaerogenes من بين الأنواع الأخرى هما الأكثر عزلاً في الجوف الفموي بالنسبة لأطباء الأسنان كأخماج عابرة. [9]

وإن نوعها E. Sakazakii الذي يصنف حديثاً Cronobacter sakazakii يشكل خطورة حقيقية على صحة الولدان خاصة قبل تمام الحمل أوناقصي وزن الولادة أو الأصغر من 28 يوم، حيث يسبب التهاب السحايا وتنخر الكولون وتجرثم

الدم. وينتقل بشكل مهم عبر حليب الأطفال المجفف Powdered infant formula (PIF). وقد تم تسجيل تقارير قليلة عن أخماج E.sakazakii لدى البالغين وهي عادة غير مهددة للحياة لديهم.[8] [10]

و يذكر أنه في فرنسا منذ عام 2010 اعتبرت E. aerogenes في المرتبة الخامسة بين الأمعائيات والمرتبة السابعة بين سلبيات الغرام المسؤولة عن الأخماج المشفوية، ولكن عادت هذه النسبة للانخفاض قليلاً بعد فترة. [11]

وإن مراجعة للأدب الطبي في دراسة John JF Jr et al كشفت أن E. Cloacae أصبحت بارزة في أقسام الحروق ولكنها أيضاً سببت أخماجاً هامة في مرضى أقسام غير الحروق طبعاً. [12]

وفي دراسة أميركية تم جمع 24179 عينة زرع دم في إحدى المشافي بين عامي 1995-2002 وكانت الانتروباكتر هي المسبب الثاني من بين سلبيات الغرام بعد الزوائف للإصابة بتجرثم الدم.

وذكرت هذه الدراسة أن الانتروباكتر تشكل 4.7% من أسباب تجرثم الدم في العناية المشددة و3.1% في الأجنحة الأخرى. [8]

إن الإصابة بذات الرئة المكتسبة في المجتمع أو المشفوية بسبب الانتروباكتر نادرة، فهي أقل من الكلبسيلا وتشكل (5-11)%من بين كل ذات الرئة المسببة بسلبيات الغرام.على الرغم من أن بعض الدراسات أعطت قيماً أعلى من ذلك [13].

إنتان الدم بالانتروباكتر كان الخمج المشفوي الأكثر شيوعاً بين المواليد الجدد في تركيا في مشفى Ondokuz Mayis university hospital in Samsun بين عامي 1988-1992 [14].

وعند الأطفال أظهرت دراسة أجريت بين عامي 2010-2013 في مشفى First affiliated hospital of xinjiang medical university في الصين أن الخمج المشفوي بالانتروباكتر يزداد خلال أشهر معينة من السنة وهي 5، 6، 7 كل سنة. [15]

وفي دراسة في الولايات المتحدة جمعت 75000 عينة من سلبيات الغرام من العناية المشددة بين عامي 1993-2004 كانت أنواع الانتروباكتر تشكل 13.5% [8].

وفي دراسة شبكة سلامة دور الرعاية الصحية الوطنية (NHSN)National Healthcare safety network بين عامي 2006-2007 وجد أن أنواع الانتروباكتر شكلت ثامن أشيع سبب للأخماج المرتبطة بدور الرعاية الصحية، و5% من جميع أنواع الأخماج، والسبب الرابع الأشيع بين سلبيات الغرام. [8]

ومن بين الأخماج المشفوية تشكل 11.2% من أسباب ذات الرئة في العناية المشددة ICUs [8].

أما في العنايات المشددة الخاصة بالأطفال فهي تشكل: [8]

- 9.8% من ذات الرئة
- 6.8% من تجرثم الدم
- 9.5% من أخماج السبيل البولي

وفي دراسة خمج الدم بالانتروباكتر E. bacteremia لدى 30 مريض في مشفى أطفال ميشيغن بين سبتمبر 1989 ونوفمبر 1992 كانت 56% من الحالات مشفوية، والانتروباكتر شكلت 14% من هذه الحالات المشفوية وكانت العضية سلبية الغرام الأشيع المسببة لمثل هذا الخمج.

وكانت E.cloacae هي الأكثر عزلاً بنسبة 72%، وكان 97% من المرضى لديهم عوامل خطورة كامنة مثل القثاطر الوريدية المركزية. [16]

ومن الجدير بالذكر أن عملية زرع الأعضاء خاصة في الجوف البريتواني يزيد احتمالية الإصابة بأخماج عائلة الامعائيات.

وفي دراسة: أخماج الدم بعد زرع نقي العظام شكلت الانتروباكتر والستروباكتر والسيراتيا 6.8% بينما كانت E. Coli 12.8%من كل اخماج الدم الجرثومية وتليها الكلبسيلا 6.8%.

حيث 30%من الحالات كانت عائدة لعائلة الامعائيات.

وإن معدل الوفيات عند حدوث خمج الدم بعد زرع نقي العظم بالإصابة بالانتروباكتر والسيتروباكتر والسيراتيا كان 25% بينما كان بالـ E.Coli أو الكلبسيلا 3%. [17]

سادساً- الآلية الإمراضية للانتروباكتر:

كما أشير سابقا فإن الانتروباكتر جراثيم انتهازية أكثر ما تصيب الأجسام المضعفة والواهنة.

المعلومات قليلة عن عوامل الفوعة لكن يفترض أنها تلتصق على السطوح المخاطية بوساطة الخمل fimbriae [4].

يشكل الذيفان الداخلي عاملاً هاماً جداً في الآلية الإمراضية لتجرثم الدم [5].

والذيفان الداخلي Endotoxin هو ما يعرف من بين أجزاء الجدار الخلوي للجراثيم سلبية الغرام بـ Lipopolysaccharide :(LPS) والذي يتألف من الشحم A ومن عديد السكريد اللبي ومن سلسلة عديد السكريد o النوعية.

ويعد الشحم A المسؤول عن سمية الذيفان الداخلي حيث يحرض على إفراز السيتوكينات التي تحدد الأعراض السريرية الناجمة عن هذا الذيفان وذلك من خلال ارتباطه سوياً والبروتينات الرابطة لـ (LPS) مع الـ CD_{14} (أحد مستقبلات البالعات الكبيرة).

وهناك تأثيرات أخرى للذيفان الداخلي مباشرة وغير مباشرة تشمل تحريض إنتاج العدلات وتكدس وتنكس الصفيحات الدموية والتخثر المنتشر داخل الأوعية وهبوط الضغط الدموي وغيرها.

كما يمكن لـ (LPS) أن يفعّل الطريق البديل للمتممة ، كما يمكن أن يؤدي تحرر كميات كبيرة من الذيفان الداخلي إلى الصدمة السمية septic shock.

والتعقيم بالموصدة لا يخرب أو يعطل الذيفان الداخلي للجراثيم سلبية الغرام حتى لو أدى إلى قتل تلك الجراثيم بكاملها ويتم التخلص منه غالباً بالترشيح filtration. [1]

وقد تحدثت إحدى المقالات عن عوامل الفوعة في الـ E. Cloacae: [18]

حيث تمت الدراسة على 54 سلالة جرثومية من E.Cloacae التي يذكر أنها تشكل جزءاً من فلورا الأمعاء لدى 40-80% من الأشخاص وذلك من عينات مختلفة وكان 19 منها من براز متطوعين أسوياء.

Serum resistance: وهي قابلية السلالة الجرثومية للنمو في جميعة مصلية غير مستنفذة المتممة كما في غياب المتممة والذي يتحقق بالتسخين.

وقد وجدت هذه الخاصية في أغلب السلالات في هذه الدراسة، وهي صفة مشتركة بين العديد من الجراثيم سلبية الغرام التي تغزو وتعيش في الدم.

كما أن سلالات E.Cloacae المدروسة قادرة على إنتاج aerobactin وهو siderophore (حامل للحديد).

والدراسات حول ذلك غير متوفرة بشكل جيد ولكن تقترح إحداها Der Vartanian et al أن إنتاج الـ aerobactin يؤثر في مدى تغيير البكتيريا مكانها من السبيل المعوي أو في تضاعفها في الأنسجة بعد تغيير مكانها أو كليهما.

ولذلك فإن إفرازه يمكن أن يكون خطوة هامة في مرحلة حياة البكتريا الانتهازية التي تستعمر الأمعاء حيث تخترق الطبقة المخاطية عبر الخلايا الظهارية ثم تنتشر بين الأعضاء.

وقد أظهرت هذه الدراسة قدرة سلالات E.cloacae باستثناء واحدة على إنتاج mannose-sensitive hemagglutinin بينما تم تسجيل إنتاج mannose-resistant hemagglutinin في سلالة واحدة عزلت من البول.

كما أظهرت هذه الدراسة قابلية الـ E.cloacae للالتصاق adhere والغزو invade للخلايا حقيقية النوى eucaryotic cells.

وإن الـ 54 سلالة في هذه الدراسة كانت غير قادرة على إنتاج hemolysine أو cytotoxin.

وتنتهي هذه الدراسة بالقول بأن الـ E.cloacae بعد أن تخرج من السبيل المعوي فإنها قد تكون لديها المقاومة المصلية وتكون قادرة على خلب الحديد لتعيش وتنتشر عبر الجسم.

سابعاً- مصدر العدوى: [5]

مصدر العدوى متنوع فقد يكون المرض:

1. من منشأ داخلي:
من الجلد أو السبيل المعدي المعوي أو السبيل البولي المستعمرة من قبل هذه الجرثومة.

2. من منشأ خارجي:
- ❖ أيدي الطاقم الطبي
- ❖ المحاليل الوريدية
- ❖ منتجات الدم

ثامناً- عوامل الخطورة للإصابة بأخماج الانتروباكتر: [5]، [8]

- ❖ الاستشفاء لأكثر من أسبوعين خاصة في وحدات العناية المشددة
- ❖ العلاج بالصادات خلال 30 يوم السابقة
- ❖ التدابير الغازية خلال 72 ساعة السابقة.
- ❖ وجود قثطرة وريدية مركزية.
- ❖ الإصابة المشفوية بالسلالات المعندة على الصادات من الانتروباكتر تأتي بعد علاج بالسيفالوسبورينات واسعة الطيف أو الأمينوغليكوزيدات والإقامة في العناية المشددة.
- ❖ الخباثات المرافقة
- ❖ الأمراض الكبدية الصفراوية
- ❖ القرحات خاصة في السبيل الهضمي العلوي
- ❖ ضعف المناعة.
- ❖ التهوية الاصطناعية
- ❖ الحروق
- ❖ السكري.
- ❖ إجراءات غازية جراحية وغير جراحية.

تاسعاً- التظاهرات السريرية:

لا يشاهد صورة سريرية خاصة بأخماج الانتروباكتر تميزها عن الأخماج الجرثومية الحادة الأخرى.

فالأخماج التي تسببها متنوعة جداً وتشمل [5]، [8]:

- ❖ تجرثم الدم
- ❖ أخماج السبيل التنفسي السفلي
- ❖ أخماج الجلد والأنسجة الرخوة
- ❖ أخماج السبيل البولي
- ❖ التهاب الشغاف
- ❖ أخماج داخل البطن
- ❖ التهاب نقي العظم
- ❖ التهاب مفاصل
- ❖ أخماج الجملة العصبية المركزية
- ❖ أخماج العين

ونذكرمن هذه الأخماج: [8]

1. تجرثم الدم:

قد يكون مصدر تجرثم الدم أي عضو مصاب، خط وريدي مركزي، القثاطر الشريانية.

ويحدث تجرثم الدم بالانتروباكتر بشكل خاص لدى المرضى الذين لديهم أمراض كامنة وتلقوا علاجاً بمضاد حيوي قبل حدوث تجرثم الدم لديهم. [19]

يظهرالفحص الفيزيائي موجودات تتماشى مع متلازمة الاستجابة الالتهابية الجهازية Systemic Inflamatory Response Syndrome(SIRS).

حيث يتجاوز معدل ضربات القلب 90 /دقيقة والتنفس أكثر من 20/دقيقة والحرارة أكثر من 38^oC أو أقل من 36^oC، والحمى تحدث عند أكثر من 80% من الأطفال والبالغين.

كما يحدث انخفاض الضغط والصدمة في حوالي ثلث الحالات.

و تتضمن الصدمة السمية: التخثر المنتشر داخل الأوعية، يرقان، متلازمة العسرة التنفسية الحادة واختلاطات أخرى لفشل الأعضاء.

و قد سجلت حالات من الزرقة عند الأطفال.

2. أخماج السبيل التنفسي السفلي:

تتشابه مع تلك التي تسببها العقديات الرئوية أو جراثيم أخرى.
قد تكون لاعرضية أو ذات رئة حيث أنواع الانتروباكتر تعد سبب هام لذات الرئة المرتبطة بالتهوية الاصطناعية وأيضاً بعد زرع الرئة ومصدرها من المتطوع.
وقد تسبب أيضا التهاب الرغامى والقصبات، خراجات رئوية.
قد يظهر الفحص السريري:

- ❖ حمى أو انخفاض حرارة الجسم.
- ❖ خفقان
- ❖ تسرع التنفس
- ❖ زرقة.

3. أخماج السبيل البولي:

لا يمكن تمييزها عن تلك التي تسببها سلبيات الغرام الأخرى. وتشمل:

- ❖ التهاب حويضة وكلية مع أو بدون تجرثم دم.
- ❖ التهاب البروستات.
- ❖ التهاب المثانة.

وهي كما ذكر سابقاً أخماج مشفوية غالباً، تترافق مع استخدام القثاطر البولية، علاج سابق بالصادات.

4. أخماج الجملة العصبية المركزية:

كما ذكر سابقاً فإن نوعها sakazakii يسبب حالات خطيرة من التهاب السحايا لدى حديثي الولادة خاصة.كما نشرت إحدى الدراسات عام 1993 مراجعة لـ493 حالة لالتهاب السحايا الجرثومي الحاد لدى مرضى بعمر 16 سنة أو أكبر وقد سجلت 5 حالات مشفوية لالتهاب السحايا بالانتروباكتر وحالة واحدة مكتسبة في المجتمع من بين حالات التهاب السحايا المسببة بالعصيات سلبية الغرام.

5. أخماج الجلد و النسج الرخوة:
و هي غالباً مكتسبة في المشافي

6. الأخماج العينية:
تشكل نسبة قليلة من الأخماج العينية بعد الرضوض أو بعد الجراحة ولكنها من أكثرها خطورة.

7. أخماج العظام والمفاصل:
- ❖ التهاب مفاصل
- ❖ التهاب نقي العظم

عاشراً- التشخيص: [1][2][4][8]

نظراً لاختلاف وتنوع الأخماج التي تسببها الانتروباكتر وكونها غير نوعية لها فإن هناك فحوص أساسية تجرى كما في أية حالة مرضية حسب المكان المصاب بالخمج:

- ❖ CBC
- ❖ عيار الكرياتينين
- ❖ تقييم الشوارد
- ❖ تحليل سوائل الجسم حسب مكان الخمج مثل تحليل السائل البريتواني أو تحليل السائل الدماغي الشوكي.
- ❖ تحليل البول

إضافة إلى أنه حسب مكان الخمج فقد نحتاج إلى دراسة شعاعية مثل صورة الصدر أو CT أو MRI في حالات معينة مثل إصابة الجملة العصبية المركزية أو الإصابة داخل البطن.

أما الطريقة الأساسية لتشخيص أخماج الانتروباكتر هي الدراسة الجرثومية والتي تتضمن:

تلوين غرام للعينة والذي يفيد في التوجيه إلى أن العامل المسبب هو عامل جرثومي وهو أحد العصيات سلبية الغرام وبالتالي قد يوجه مبدئياً نحو العلاج ريثما تظهر نتيجة الزرع والتحسس.

والاختبار الأهم للتشخيص هو الزرع [8].

وتزرع العينات السريرية المختلفة كما في باقي عائلة الامعائيات ، حيث تزرع على وسط منم عام كالآغار المدمى وعلى وسط تفريقي ناخب مثل EMB أو ماكونكي.

ويتوقع أن تظهر نتيجة الزرع خلال 24 ساعة أو أقل.

أما في حال الاشتباه مع جراثيم أخرى وعدم القدرة على تحديد هوية الجرثوم في العينة عندها نلجأ إلى الاختبارات الكيميائية الحيوية[1] التي ومن خلال دراسة الصفات الكيميائية الحيوية المختلفة للجرثوم نستطيع أن نحدد هوية الجرثوم المسؤول فنميز الانتروباكتر عن باقي أفراد عائلة الامعائيات والجراثيم سلبية الغرام الأخرى.

حتى أن بعض أنواع الانتروباكتر قد تختلف فيما بينها في بعض هذه الصفات.

وقد تم وضع الجداول التي توضح الصفات الكيميائية الحيوية للانتروباكترسابقاً في هذه الدراسة.

وإن حوالي 81% من سلالات E.aerogenes محاطة بمحفظة رقيقة ترتبط من الناحية المستضدية بمستضدات الكلبسيلا المحفظية وبالتالي يمكن استخدام المصول المضادة K للكلبسيلا في تنميط سلالات E.aerogenes.

وE.cloacae تمتلك 53 (O antigens) و56 (H antigens) تم تمييزها عبر اختبارات التراص ولكن لم يتم تسجيل أبحاث وبائية تستخدم هذا التنميط المصلي.[2]

وقد ذكر استخدام تقنيات PCR بشكل خاص لأهداف وبائية.[4]

أحد عشر- المعالجة: [8]

مع بعض الاستثناءات، الأصناف الأساسية للصادات المستخدمة في تدبير أخماج الانتروباكتر تتضمن:

- ❖ البيتالاكتام
- ❖ الكاربابنيمات
- ❖ الفلوروكينولونات
- ❖ الأمينوغليكوزيدات
- ❖ TMP-SMZ / TMP-SMX: Trimethoprim-sulfamethoxazole

ولأنها مقاومة لعدة أصناف أو من الممكن أن تتطور مقاومة خلال فترة العلاج فإن اختيار العلاج الدوائي المناسب هو أمر معقد.

وغالباً ما يكون من الضروري استشارة أخصائي بالأمراض الخمجية والأحياء الدقيقة أو أخصائيون آخرون حسب موضع الخمج: قلبية، رئوية، جراحون....

- ➢ **صادات Beta-lactams:**

مع استثناءات نادرة، فإن الانتروباكتر cloacae وaerogenes وأغلب الأنواع الأخرى مقاومة للبنسلينات ضيقة الطيف مثل ampicillin,amoxicillin وأيضاً للجيل الأول والثاني من السيفالوسبورينات مثل cefuroxime وcefazolin.

كما أنها مقاومة أيضاً عادة لـ cephamycins مثل cefoxitin.
المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل 3 والبنسلينات واسعة الطيف مثل piperacillin,azlocillin, ticarcillin تتفاوت ولكنها قد تتطور وتظهر خلال المعالجة.

وقد كانت المقاومة على سيفالوسبورينات الجيل 3 أعلى لدى المرضى الذين تلقوها خلال الشهر السابق [16].

وقد أظهر تقرير من 8 مشافٍ في الولايات المتحدة [20] المعدلات التالية لمقاومة ceftazidime لدى E.cloacae :

كانت المقاومة 12% بين العينات المعزولة من المجتمع و26% بين عينات المشافي.

و يذكر أن فعالية السيفالوسبورينات من الجيل الرابع (cefepime) مبشرة بالنجاح ومقبولة.

وفعالية carbapenems ممتازة.

وعلى أية حال فقد تم تسجيل مقاومة أيضاً على هذين النوعين من الصادات.

وإن carbapenems من بين أدوية البيتالاكتام هي أكثر من يعتمد عليها لعلاج أخماج الانتروباكتر الشديدة وسيفالوسبورينات الجيل الرابع هي خيار ثان لاحق.

حيث أن cefepime [21]: هو سيفالوسبورين جديد بطيف مضاد جرثومي أوسع و أسرع في الدخول إلى العديد من العصيات سلبية الغرام ومقاوم للتعطيل بالعديد من beta-lactamases.

فقد أدخل في هذه الدراسة 16 مريض بـ 17 حالة خمج بأنواع الانتروباكتر.

كلها كانت حساسة لـ cefepime وكانت تتضمن: ذات رئة، أخماج السبيل البولي، خمج داخل البطن، تجرثم الدم. حيث جميعها استجابت لـ cefepime وريدياً.

وفي هذه الدراسة كان cefepime مستخدماً بنجاح في تدبير حالات خمجية مزمنة كانت استجابت بشكل ضعيف للعلاج المتكرر بـ: ciprofloxacin, aminoglycosides, imipenem.

وقد تم القضاء على الجراثيم في 15 موقع من أصل 17 موقع في هذه الدراسة.

- **صادات Aminoglycosides:**

مقاومتها شائعة نسبياً وتختلف بشكل واسع بين المراكز.

وكما في باقي أفراد عائلة الامعائيات فإن المقاومة هذه تنتج عن إنتاج أنزيمات تثبط فعالية هذه الصادات aminoglycoside – inactivating enzymes.

- **صادات Quinolones:**

مقاومة الفلوروكينولونات نادرة نسبياً ولكنها يمكن أن تكون مرتفعة في بعض أنحاء العالم.

وتذكر إحدى الدراسات أن دور الفلوروكينولونات في العلاج التجريبي للأخماج المشفوية يصبح محدوداً بسبب ازدياد معدلات المقاومة [22].

- **صاد TMP- SMZ:**

مقاومته شائعة أكثر .

فعاليته المضادة للجراثيم تتضمن عصيات السبيل البولي الشائعة، وحساسية الانتروباكتر بشكل عام جيدة لكنها تختلف بين المراكز.

- **صادات Colistin and Polymyxin B:**

تستخدم لعلاج الأخماج الشديدة التي تسببها العضيات ذات المقاومة الدوائية المتعددة، أحياناً كعلاج وحيد أو بالمشاركة مع صادات أخرى.

المقاومة على colistin أثبتت في عزلات قليلة من الانتروباكتر جمعت من مرضى العناية المشددة ICU.

Polymyxin B لم يكن فعالاً ضد أنواع الانتروباكتر كما كان ضد باقي أفراد عائلة الامعائيات.

- **و يعد Tigecycline** من الخيارات العلاجية الجديدة و هو موافق عليه من قبل إدارة الغذاء و الدواء الأمريكية (FDA) لأخماج داخل البطن المختلطة أو أخماج الجلد و النسج الرخوة، و على الرغم من انه غير مشار له في أخماج الدم و ذات الرئة بالانتروباكتر إلا أنه لديه فعالية ممتازة في الزجاج ضد هذه العصيات سلبية الغرام.

و في دراسة للعصيات سلبية الغرام متعددة المقاومة الدوائية حافظ Tigecycline على MIC (التركيز المثبط الأصغري) منخفض ضد كل العضيات.

ولكن في المقابل، في دراسة لـ 89 عزلة لعائلة الامعائيات غير الحساسة للكاربابينيم في الصين أظهرت أن Polymyxin B كان فعالاً أكثر من Tigecycline.

بالنسبة لتدبير التهاب السحايا بالانتروباكتر فهو مختلف عليه. حيث إحدى الدراسات[23] والتي نشرت عام (1993) تذكرأنه شكل غير شائع لالتهاب السحايا ولكن علاجه يطرح معضلة بسبب تطور المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث خلال تلقي المريض للعلاج. وأنه خلال السنوات الأخيرة يستخدم TMP-SMZ كعلاج لهذا الخمج حيث تمت مراجعة 13 حالة لالتهاب السحايا بالانتروباكتر والتي تمت معالجتها بعدة أنواع من الصادات و 33 حالة من التاريخ الطبي فكانت النتيجة أن تطور المقاومة لعناصر البيتالاكتام ربما تكون أعلى من تلك التي ترى في تجرثم الدم. وكل المرضى الذين تلقوا (TMP-SMZ) قد شفيوا بالمقارنة مع 70% من الذين تلقوا علاجاً بالبيتالاكتام، وبذلك يبدو أن (TMP-SMZ) بديل مقبول للسيفالوسبورينات في علاج التهاب السحايا بالانتروباكتر.

وفي دراسة أخرى[24] نشرت عام (2005) و التي تقول انه شكل نادر لالتهاب السحايا لدى البالغين ، استخدم في العلاج السيفالوسبورينات من الجيل الثالث والأمينوغليكوزيدات وريدياً وداخل القراب (intrathecal)،

(TMP-SMX)، Piperacillin، سيبروفلوكساسين وصادات أخرى متنوعة: كان العلاج بـ (TMP-SMX) مترافقاً مع معدل عام عال للشفاء أو التحسن السريري بينما السيفالوسبورينات من الجيل الثالث كانت أقل فعالية وبذلك فإن (TMP-SMX) قد يقدم نتائج مرضية.

وكانت نسبة الشفاء أو التحسن بين المرضى 47 بالمئة ونسبة الوفيات 21 بالمئة من أصل 19 مريض لديهم رضوض عصبية أو جراحات عصبية.وكانت E.cloacae الأكثر عزلاً وتليها E.aerogenes ثم E.agglomerans .

وقد تمت هذه الدراسة بشكل راجع حيث تمت مراجعة حالات التهاب السحايا بالانتروباكتر خلال فترة 12 سنة.

ويذكر مرجع آخر في طب الأطفال[25] أن meropenem ربما يكون الخيار الأمثل لعلاج التهاب السحايا بالانتروباكتر وبعض الخبراء قد يستخدمون meropenem مع أحد الأمينوغليكوزيدات.

ونظراً لخطورة التهاب السحايا بالانتروباكتر واختلاف الآراء حول العلاج نشير في دراستنا إلى ضرورة إجراء دراسات حديثة وبشكل مستمر حول العلاج الأفضل.

بالنسبة لعلاج E.sakazakii تحديداً[10] فهي حساسة للتتراسيكلينات والأمينوغليكوزيدات والعديد من عناصر البيتالاكتام والكلورامفينيكول ومضادات الفولات والكينولونات.وقد استخدم في علاجها تقليدياً ampicillin-gentamicin أوampicillin-chloramphenicol وقد ظهرت مقاومة للأمبيسلين بسبب إنتاج B-Lactamases.

وإن أنواع الانتروباكتر تعرف بقدرتها على تعطيل البنسلينات والسيفالوسبورينات واسعة الطيف من خلال إنتاج أنزيمات B-Lactamases وهو ما يبدو أنه يزداد في عزلات E.sakazakii أيضاً وبناء على هذا يجب التفكير باستخدام الكاربابنيمات أوالسيفالوسبورينات الجديدة بالمشاركة مع دواء آخر كأحد الأمينوغليكوزيدات. وإن استخدام التريميتوبريم -سلفاميثوكسازول قد يكون مفيداً.

وأخيراً تجدر الإشارة إلى أنه أحياناً قد نضطر للجراحة كجزء من علاج أخماج الانتروباكتر لتنضير التجمعات القيحية وتفجير الخراجات في حال تشكلها [8].

اثنا عشر- الوقاية: [8]

- عند حدوث فاشيات مشفوية بأخماج الانتروباكتر فإن العزل موصى به و يجب تطبيقه. كذلك يجب اتخاذ إجراءات العزل الاحتياطية عند عزل عضية متعددة المقاومة الدوائية.
- غسيل الأيدي أو استخدام الكحول أو أنواع الجيل المطهر للأيدي من قبل عاملي الرعاية الصحية بين الاتصالات بالمرضى يمنع انتقال هذه البكتريا أو البكتريا المشفوية الأخرى خاصة في وحدات العناية المشددة.
- تطبيق الصادات السابق هو عامل هام للاستعمار و الأخماج الثانوية بهذه العضية ولذلك يوصي الأخصائيون بتجنب تطبيق الصادات غير الضروري أو الاستخدام المطول غير الضروري.

المقاومة الدوائية

المقاومة الدوائية للمضادات الحيوية واحدة من أكبر التهديدات للصحة العالمية، وهي قد تصيب أي شخص في أي عمر وأي بلد.

وهي تحدث بشكل طبيعي، ولكن سوء استخدام الصادات عند الإنسان والحيوان يسرع حدوث هذه المقاومة.

وأعداد متزايدة من الأخماج مثل ذات الرئة والتدرن يصبح علاجها أصعب مع تدني فعالية الصادات المستخدمة في العلاج.

المقاومة الدوائية تؤدي إلى استشفاء أطول، تكاليف طبية أكبر، ومعدل وفيات أعلى [26].

وهناك معايير معينة تستخدم في اختبار الحساسية للصادات لتحديد فعالية صاد معين تجاه الجرثوم المدروس: [1]

- التركيز المثبط الأصغري Minimal inhibitory concentration (MIC) هو أدنى تركيز يثبط النمو أي يمنع النمو المرئي للجرثوم.
- التركيز القاتل للجراثيم الأصغري Minimal bactericidal concentration (MBC) التركيز الأدنى من الصاد القادر على قتل الجرثوم المسبب وليس تثبيط نموه فقط.

آليات المقاومة للمضادات الحيوية: [1]

تنتج معظم المقاومة الدوائية عن تغيير وراثي في الكائن وتوجد تغيرات غير جينية.

توجد أربعة آليات رئيسية:

1. تنتج الجراثيم أنزيمات تعطل الأدوية مثل البيتالاكتاماز التي تعطل البنسلينات والسيفالوسبورينات بقطع حلقة البيتالاكتام في الدواء.
2. تنشئ الجراثيم أهدافاً معدلة ليس للأدوية تأثير عليها.
3. تغير الجراثيم نفوذيتها بحيث لا يتحقق تركيز فعال للصاد داخل الخلية.

4. تصدّر الجراثيم الأدوية خارجاً بشكل فاعل مستخدمة مضخة المقاومة الدوائية المتعددة multidrug resistance pump (MDR) أو مضخة التدفق Efflux.

الأساس الوراثي للمقاومة الدوائية: [1]

1. المقاومة المتواسطة بالصبغي: تنتج عن طفرة في المورثة إما التي ترمز لهدف الدواء أو للجهاز الناقل في الغشاء والذي ينظم التقاط الدواء.
2. المقاومة المتواسطة بالبلازميد: هي جزيئات DNA حلقية خارج صبغية تحمل جينات للعديد من الأنزيمات التي تستطيع تفكيك العديد من الصادات وتعديل جهاز النقل الغشائي.
3. المقاومة المتواسطة بالنيقول Transposon: هي جينات تنتقل ضمن أو بين قطع أكبر من الـ DNA مثل الصبغي الجرثومي أو البلازميدات.

الأساس غير الوراثي للمقاومة الدوائية: [1]

1. الجراثيم يمكن أن تعزل ضمن تجويف الخراج الذي لا يستطيع الدواء اختراقه.
2. قد تكون الجراثيم في حالة الراحة وليس النمو فتكون غير حساسة لمثبطات جدار الخلية.
3. في ظروف معينة يمكن أن تفقد الكائنات التي تقتل بشكل طبيعي بالبنسلين جدارها الخلوي وتبقى حية غير حساسة للأدوية المؤثرة على جدار الخلية.
4. وجود الأجسام الأجنبية يجعل المعالجة أكثر صعوبة مثل القثاطر والصفائح المعدنية.
5. تناول الدواء الخطأ، فشل الدواء في الوصول إلى المكان المناسب من الجسم أو عدم التزام المريض بتناول الدواء.

وطبعاً يشكل سوء استخدام الصادات سبباً هاماً للمقاومة الدوائية:

- ❖ وصف صادات متعددة حين يكفي واحد.
- ❖ وصف أشواط طويلة للعلاج بشكل غير ضروري.
- ❖ وصف الصادات في العداوى المحددة لذاتها.
- ❖ بيع الصادات بدون وصفة طبية.

مقاومة الانتروباكتر للصادات:

إن إفراز البيتالاكتاماز من عائلة الامعائيات هي الآلية الأهم في مقاومتها لأدوية البيتالاكتام [27].

يوجد نوعان من البيتالاكتاماز يمكن أن يسبب المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث:

1. Chromosomally mediated beta-lactamases: أي البيتالاكتاماز الصبغية وهذه لا يمكن تثبيطها بالـ clavulanic acid.
2. Plasmid-mediated beta-lactamases: أي البيتالاكتاماز المرتبطة بالبلازميد و هذه يمكن تثبيطها بالـ clavulanic acid.

وهي أهم سريرياً حيث أنها يمكن أن تنتقل بين الأنواع المختلفة لعائلة الأمعائيات وتسمى (ESBLs): Extended-spectrum beta-lactamases وهي تستطيع أن تسبب مقاومة ضد أدوية البيتالاكتام عدا carbapenems وcephamycins.

كما أن أنواع الانتروباكتر تنتج كميات قليلة من AmpC beta– lactamases التي لا يتم تثبيطها بمثبطات البيتالاكتاماز و تسبب مقاومة جوهرية لـ :
سيفالوسبورينات الجيل الاول، ampicillin , co – amoxiclav و هي غالباً صبغية في معظم أنواع الانتروباكتر و مقاومة تقريباً للبنسلينات و السيفالوسبورينات و مثبطات البيتالاكتاماز وaztreonam و حساسة لـ cefepime و carbapenems [28].

وإن المقاومة الحديثة المقلقة في عائلة الامعائيات ومنها الانتروباكتر هي إفراز الكاربابينيماز المرتبطة بالبلازميد

plasmid-mediated carbapenemases حيث تستطيع بها تعطيل صادات مثل الايميبنيم [17].

وقد تأثرت أنواع الانتروباكتر حول العالم [8] بـ (NDM-1)

New Delhi Metallo – beta – lactamase التي تقاوم بها صادات مثل carbapenems.

وإن دراسة تضمنت 97 عزلة للانتروباكتر من مناطق جغرافية متنوعة والتي كان منها ما هو حساس ومنها ما هو مقاوم للكاربابنيم تشير إلى أن أنواع الانتروباكتر وخاصة منها ما هو منتج للكاربابينيماز تشكل سبب هام سريرياً للأخماج المشفوية. وإن المتوافر حول مقاومة هذه العضية للكاربابنيم هو شيء قليل ومحدود. [29]

حيث أن مقاومة carbapenems نادرة لكن تم تسجيلها [8].

وتشير التقارير إلى أنه بين أنواع الانتروباكتر فإن E. aerogenes كانت الحامل الأكبر لـ ESBLs [8].

أما بالنسبة لتوزع المقاومة بين أقسام المشافي وبين أفراد عائلة الامعائيات، فقد أظهرت دراسة على 207 عزلة من: كلبسيلا، انتروباكتر، سيراتيا في مختبر الجراثيم في Annab Ibn Rochd Hospital في 2009 في المغرب، كاسا بلانكا. [30] ، نتيجة السلالات المنتجة للبيتالاكتاماز (ESBLs)/ Expanded spectrum beta lactamase producing KES كانت على الشكل التالي:

65 من أصل 207 عزلة كانت منتجة لـ (ESBLs) توزعت كما يلي:

- ❖ 17.4% كلبسيلا
- ❖ 7.2% انتروباكتر
- ❖ 6.8% سيراتيا

وتظهر تقارير مقاومتها للصادات من سيفالوسبورينات الجيل الثالث: [8]

- ❖ 25.3% في ICUs.
- ❖ 22.3% مرضى المشافي في الشعب غير العناية.
- ❖ 10.1% المرضى غير الملازمين للفراش.
- ❖ 36.2% في ICUs الأطفال.

وإن معدلات المقاومة الدوائية المرتفعة في ICUs الولدان نسبت إلى الاستخدام الروتيني للسيفالوسبورينات واسعة الطيف [14].

كما أظهرت دراسة على 129 مريض بالغ أن الاستخدام الحكيم لسيفالوسبورينات الجيل الثالث يمكن أن يقلل من ظهور أنواع الانتروباكتر المشفوية المقاومة والذي بدوره يمكن أن يقلل معدل الوفيات بتجرثم الدم بالانتروباكتر.

وأنه عند عزل الانتروباكتر من الدم فإنه قد يكون من التعقل تجنب سيفالوسبورينات الجيل الثالث في العلاج بغض النظر عن اختبار التحسس في الزجاج [31].

الدراسة العملية

هدف الدراسة:

1. تحري نسبة انتشار جرثومة الامعائية (الانتروباكتر) في مشفى المواساة لدى المرضى المقيمين في المشفى فقط.
2. دراسة حساسية ذراري الانتروباكتر المعزولة للصادات.

الطرائق والمواد:

- **مكان وزمان الدراسة:**

أجريت الدراسة في مختبر الجراثيم في مشفى المواساة الجامعي في دمشق ابتداءً من 1/11/ 2016 ولمدة عام كامل.

- **مجموعة الدراسة:**

جميع المرضى المقيمين في مختلف أجنحة المشفى أي باستثناء مرضى العيادات.

- **حجم العينة المدروسة:**

833 عينة جرثومية شملت 374 عينة عقيمة و459 عينة إيجابية الزرع الجرثومي.

- **المواد المستخدمة:**

❖ أطباق بتري .
❖ آغار مدمى (Blood Agar).
❖ آغار EMB (Eosin – Methylene blue Agar)
❖ آغار مولرهنتون (Muller Hinton Agar)
❖ أقراص التحسس للصادات والتي كانت متوافرة في المشفى.
❖ الأدوات اللازمة للعمل المخبري والتي كانت متوافرة في مختبر الجراثيم في المشفى (غانة الزرع – مصباح اللهب – حاضنة بدرجة 37 درجة مئوية).
❖ اختبار API الذي هو عبارة عن مجموعة اختبارات كيميائية حيوية لتحديد هوية الجرثوم المعزول.

و في ما يلي شرح مفصل للكيت:

اختبار API 20 E من شركة BioMerieux:

وهو نظام تحديد هوية موحد لجراثيم عائلة الامعائيات والجراثيم غير شديدة الحساسية الأخرى من العصيات سلبية الغرام بحيث يستخدم 21 من الاختبارات الكيميائية الحيوية المصغرة وقاعدة بيانات.

المبدأ:

يتكون شريط اختبار API 20 E من 20 أنبوب دقيق تحتوي ركائز مجففة.
هذه الاختبارات يتم تلقيحها بمعلق جرثومي يعيد تشكيل الوسط.
خلال الحضن ينتج الاستقلاب تغيرات في الألوان إما أن تكون عفوية أو تظهر بإضافة الكواشف.
وتتم قراءة التفاعلات بناء على جداول معينة تحدد الإيجابية و السلبية وتحديد هوية الجرثوم يتم بالرجوع إلى Analytical Profile Index أو باستخدام

.Identification Software

الكواشف المضافة لبعض التفاعلات تتضمن:

- TDA
- JAMES
- VP1 +VP2
- NIT1 +NIT2
- Zn reagent
- Oxidase

وأحيانا قد نحتاج كواشف إضافية: API OF Medium لتحديد الاستقلاب بالأكسدة أو التخمر.

بالإضافة إلى إضافة Mineral Oil لبعض الأنابيب.

العينات المستخدمة:

API 20 E لا يستخدم عينات طبية مباشرة.

حيث أنه كي يتم تحديد هوية العضيات الدقيقة يجب أن يتم أولاً عزلها على وسط زرع لعائلة الامعائيات و العصيات سلبية الغرام الأخرى غير شديدة الحساسية حسب تقنيات جرثومية معيارية.

تحضير شريط API :

يتم تحضير صندوق الحضن بتوزيع حوالي 5 ml من الماء المقطر وذلك لخلق جو رطب.

ثم نضع شريط الاختبار في صندوق الحضن.

ملاحظة: API 20 E يستخدم فقط مع أفراد عائلة الامعائيات والعصيات سلبية الغرام غير شديدة الحساسية الأخرى، بينما العضيات شديدة الحساسية التي لها متطلبات تغذوية خاصة و تتطلب محاذير تعامل معينة ومناسبة مثل Brucella and Francisella ليست متضمنة في قاعدة بيانات API 20 E.

تحضير الطعم الجرثومي Inoculum:

نفتح عبوة API Nacl 0.85 % Medium ,5 ml أو API Suspension Medium ,5 ml أو نستخدم أي أنبوب يحوي 5 ml من محلول السالين العقيم أو ماء مقطر عقيم.

نأخذ مستعمرة معزولة بشكل جيد من الطبق ويجب استخدام مزارع فتية عمرها 18-24 ساعة.

وبحذر نستحلب حتى نحضر معلق جرثومي متجانس وهذا المعلق يجب استخدامه فورا" بعد تحضيره.

ملاحظة: معظم الضمات أليفة للملح ،فإذا كانت إحدى الضمات مشتبهة يتم تعليق البكتريا في API Nacl 0.85% Medium.

تطعيم شريط الاختبار:

يتم توزيع المعلق الجرثومي في أنابيب شريط الاختبار

ولتجنب تشكل فقاعات الهواء في قاعدة الأنبوب نميل الشريط قليلا نحو الأمام ونضع رأس الأداة التي نوزع بها المعلق مقابل حافة المنطقة المدورة أو القمع cupule.

للحجرات التي تحوي الاختبارات CIT , VP , GEL نملأ كلا من الأنبوب والمنطقة المدورة أو القمع cupule ، أما للتفاعلات الباقية نملأ فقط الأنبوب بدون النهاية المدورة.

وللتفاعلات: ADH , LDC, ODC , H2S , URE بعد وضع المعلق الجرثومي يجب خلق جو لاهوائي وذلك بتغطية الحجرة بـ Mineral Oil.
نغلق صندوق الحضن ونحضن بدرجة 36 +/-2 C لمدة 18-24 ساعة.

قراءة شريط الاختبار:

بعد فترة الحضن نقرأ الشريط بالعودة لجدول خاص لقراءة النتائج Reading Table.

إذا كان : 3 أو أكثر من الاختبارات (- GLU + or) إيجابية نقوم بقراءة الشريط بتسجيل نتيجة التفاعلات العفوية على ورقة النتائج ثم نجري الاختبارات التي تحتاج إضافة الكواشف.

اختبار TDA: نضيف قطرة من كاشف TDA ، اللون البني المحمر يعني تفاعلاً إيجابياً.

اختبار IND: نضيف قطرة من كاشف JAMES ، اللون الوردي الذي يظهر في كامل الـ cupule يعني تفاعلاً إيجابياً.

اختبار VP: نضيف قطرة من كل من كاشفي VP1 وVP2 وننتظر على الأقل لمدة 10 دقائق ، اللون الوردي أو الأحمر يعني تفاعلا إيجابيا.
إذا ظهر لون وردي قليلا إلى حد ما بعد 10 دقائق يجب اعتبار الاختبار سلبيا.
ملاحظة: اختبار إنتاج الاندول يجب أن يجرى أخيرا لأن هذا الاختبار يصدر منتجات غازية تتداخل مع أداء باقي التفاعلات في الشريط.وغطاء صندوق الحضن يجب ألا يعاد بعد إضافة الكاشف.

أما إذا كان: عدد الاختبارات الإيجابية بما فيها اختبار الـ GLU قبل إضافة الكواشف أقل من 3 نعيد حضن الشريط لمدة 24 ساعة +/- 2 ساعة بدون إضافة أي من الكواشف بعدها نتمم الاختبارات التي تحتاج كواشف.

- كي نتمم تحديد هوية الجرثوم قد يكون من الضروري إجراء اختبارات إضافية تكميلية.

تحديد هوية الجرثوم :

هذا يتطلب بروفايل رقمي numerical profile

كيفية الحصول على البروفايل الرقمي:

على ورقة تسجيل النتائج الاختبارات مقسمة إلى مجموعات مكونة من 3 اختبارات ولكل من هذه الاختبارات تحدد قيمة 1 أو 2 أو 4.

وبإضافة هذه القيم في كل مجموعة إلى بعضها حسب الاختبارات الايجابية ينتج 7 أرقام :7-digit profile number للاختبارات الـ 20 في شريط الاختبار.

- تفاعل الأوكسيداز يشكل الاختبار الـ 21 ويأخذ القيمة (4) إذا كان إيجابياً.

تحديد هوية العامل الممرض:

هذا يتحقق باستخدام قاعدة البيانات (v 4.1)

إما باستخدام Analytical Profile Index

أو باستخدام apiweb identification software بإدخال الأرقام السبعة الناتجة.

- في بعض الحالات، الأرقام السبعة غير كافية للتمييز وتكون الاختبارات الإضافية التالية مطلوبة:

1. إرجاع النترات إلى نتريت (No2) و غاز (N2):
   نضيف قطرة من كل من كاشف NIT1 و NIT2 إلى أنبوب GLU وننتظر لمدة 5-2 دقائق، اللون الأحمر يعني اختبار ايجابي (NO2).
   الاختبار السلبي (أصفر) قد يكون بسبب الإرجاع إلى نتروجين بدليل ظهور فقاعات غازية أحياناً. وعندها: نضيف 3-2 mg من كاشف Zn الى أنبوب GLU.
   وبعد 5 دقائق إذا بقي لون الأنبوب أصفر فهذا يعني اختبار إيجابي (N2) ، أما إذا انقلب اللون إلى برتقالي – أحمر فهذا اختبار سلبي يعني أن النترات التي مازالت في الأنبوب قد تم إرجاعها بفعل الزنك.
   هذا التفاعل مفيد عند فحص عصيات سلبية الغرام إيجابية الأوكسيداز.
   ملاحظة: لنفس السبب المذكور في اختبار الاندول فإن اختبار إرجاع النترات يجب إجراؤه أخيراً.

2. اختبار الحركية (MOB): باستخدام أمبولة من API M Medium.
3. النمو على آغار ماكونكي (McC).
4. أكسدة الغلوكوز (OF-O): باستخدام أمبولة من API OF Medium.
5. اختبار تخمير الغلوكوز (OF-F): باستخدام أمبولة من API OF Medium.

هذه الاختبارات الإضافية تساعد في تشكيل 9 – digit profile على ورقة تسجيل النتائج ثم لتحديد هوية العضية يستخدم identification software.

- إن نظام API 20 E يستخدم لتحديد هوية الامعائيات والعصيات سلبية الغرام غير شديدة الحساسية المتضمنة في قاعدة البيانات.

لا يمكن استخدامه لتحديد هوية أية عضيات أخرى أو لاستبعاد وجودها.

يستخدم للتشخيص في الزجاج IN VITRO.

- قد تحدث تناقضات رغم التقيد بالطرق وذلك بسبب المبادئ المختلفة للتفاعلات المستخدمة في تقنية API بالإضافة إلى اختلاف في الركائز أيضاً يسبب اختلافات.
- في حالات نادرة: تفاعلات الغلوكوز لعضيات مثل الكلبسيلا أو proteus قد تتراجع من الايجابية إلى السلبية ، وفي هكذا مثال يظهر لون اخضر مزرق bluish-green color. وهذا التفاعل يسجل على انه تفاعل سلبي.

وهكذا حوادث مشار لها بالنسبة المئوية في جدول تحديد هوية العضيات.

- إذا تم تحديد السالمونيلا أو الشيغيلا يجب أن تجرى اختبارات تحديد هوية مصلية لتأكيد هوية الجرثوم.
- العصيات سلبية الغرام غير المخمرة المعزولة من مرضى لديهم تليف كيسي قد تؤدي إلى مواصفات كيميائية حيوية غير نموذجية والتي قد تؤثر على تحديد هوية العضية.
- حصراً مزارع نقية لعضية وحيدة يجب أن يتم استخدامها.

جدول(1):جدول قراءة التفاعلات READING TABLE

TEST	REACTIONS-ENZYMES	RESULTS	
		NEGATIVE	POSITIVE
ONPG	B-galactosidase(Ortho Nitrophenyl-BD-Galactopyranosidase)	بلا لون	أصفر (1)
ADH	Arginine DiHydrolase	أصفر	أحمر – برتقالي (2)
LDC	Lysine DeCarboxylase	أصفر	أحمر – برتقالي (2)
ODC	Ornithine DeCarboxylase	أصفر	أحمر – برتقالي (2)
CIT	CITrate utilization	أخضر شاحب – أصفر	أخضر- أزرق – أزرق(3)
H2S	H2S production	بلا لون – رمادي	راسب أسود – خط رفيع
URE	UREase	أصفر	أحمر – برتقالي (2)
TDA	Tryptophane DeAminase	TDA – immediate	
		أصفر	بني محمر
IND	INDole production	JAMES – immediate	
		بلا لون – أخضر شاحب – أصفر	زهري
VP	acetoin production (Voges Proskauer)	VP1 + VP2 / 10 min	
		بلا لون – زهري شاحب	زهري – أحمر (5)
GEL	GELatinase	لا يوجد انتشار	انتشار صباغ أسود
GLU	Fermentation – oxidation (GLUcose) (4)	أزرق – أخضر ازرق	أصفر – أصفر رمادي
MAN	Fermentation – oxidation (MANnitol) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
INO	Fermentation – oxidation (INOsitol) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
SOR	Fermentation – oxidation (SORbitol) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
RHA	Fermentation – oxidation (RHAmnose) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
SAC	Fermentation – oxidation (SACharose) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
MEL	Fermentation – oxidation (MELibiose) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
AMY	Fermentation – oxidation (AMYgdalin) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
ARA	Fermentation – oxidation (ARAbinose) (4)	أزرق – أخضر أزرق	أصفر
OX	Cytochrom OXidase	يتم الرجوع إلى إرشادات اختبار الأوكسيداز	

1. لون أصفر شاحب جداً أيضاً يجب اعتباره إيجابياً.
2. لون برتقالي بعد حضن لمدة 36-48 ساعة يجب اعتباره سلبياً.
3. القراءة تكون في القسم الدائري أو القمع cupule (هوائي).
4. التخمر يبدأ في القسم الأسفل من الأنابيب.
   الأكسدة تبدأ في القمع cupule.
5. لون زهري قليلا إلى حد ما بعد 10 دقائق يجب اعتباره سلبياً.

- الكميات المذكورة قد يتم تعديلها بالاعتماد على العيار الحجمي للمواد الأولية المستخدمة.
- تحتوي أقماع محددة cupules منتجات من منشأ حيواني ، خصوصاً الببتون peptones.

جدول (2): الاختبارات التكميلية:

TEST	ACTIVE INGREDIENTS	REACTIONS-ENZYMES	RESULTS	
			NEGATIVE	POSITIVE
Nitrate reduction / GLU tube	Potassium nitrate	NO2 production	Nit1 + Nit2 / 2-5 min	
			أصفر	أحمر
		Reduction to N2 gas	Zn /5 min	
			أحمر – برتقالي	أصفر
MOB	API M Medium or microscope	Motility	غير متحرك	متحرك
McC	MacConkey medium	Growth	غياب النمو	نمو
OF-F	glucose (API OF Medium)	Fermentation : under mineral oil	أخضر	أصفر
OF-O		oxidation : exposed to the air	أخضر	أصفر

صورة توضح نتيجة شريط اختبار الـ API و التي تشير إلى أن الجرثومة المعزولة هي الانتروباكتر

استمارة الدراسة للعينات إيجابية الانتروباكتر:

الاسم: ..... العمر: ..... الجنس: .....

الشعبة التي يعالج فيها المريض: .....

التشخيص عند القبول: .....

مصدر العينة: .....

تناول صادات خلال 30 يوم السابقة: .....

نوع الصادات المتناولة: .....

حالات مرضية مرافقة:

ضعف المناعة: ..... خباثات: ..... قرحات هضمية ومكانها: .....

أمراض كبدية صفراوية: ..... حروق: ..... سكري: .....

إجراءات غازية خلال 72 ساعة السابقة:

قثاطر بولية: ..... قثاطر وريدية: ..... محاليل إماهة وريدية: .....

أجهزة التنفس الاصطناعي: ..... تداخلات جراحية: .....

❖ **طريقة العمل:**

تم استقبال كافة العينات التي تصل إلى مختبر الجراثيم في مشفى المواساة من المرضى المقيمين في المشفى ومعاملتها حسب الأصول حيث:

تزرع العينات على طبقي بتري أحدهما آغار مدمى والآخر آغار EMB.

ثم تحضن لمدة 24 ساعة في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مئوية.

وبعد انقضاء فترة الحضن تتم قراءة المزارع الجرثومية لتحديد هوية الجرثوم بناء على الصفات الشكلية للمستعمرة الجرثومية والتي أشير لها مسبقاً فيما يتعلق بالانتروباكتر.

أما بالنسبة للمزارع التي لم نتمكن من تحديد هوية الجرثوم فيها، فقد لجأنا إلى إجراء اختبار API لتحديد هوية الجرثوم والذي أشير سابقاً بشكل مفصل لكيفية إجرائه.

ثم نقوم بإجراء اختبار الحساسية للصادات وذلك وفقاً لطريقة كيربي باور (طريقة الانتشار القرصي) والتي تعتمد على مبدأ معرفة قطر منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول قرص دائري من الورق النشاف المشرب بالصاد.

- طريقة إجراء اختبار التحسس بطريقة كيربي باور (الانتشار القرصي): [32] [33]
  طريقة سهلة التطبيق، معتمدة، سريعة.

فعالية الصاد تعتمد على حجم منطقة تثبيط النمو التي تحيط بقرص تم تشريبه بتركيز معين من الصاد.

وتختلف منطقة التثبيط حسب: قابلية انتشار الصاد ونوع الوسط وعوامل أخرى.

الوسط الموصى باستخدامه في هذه الطريقة هو آغار مولر هنتون.

و من شروطها أن يكون PH الوسط بين 7.2 و 7.4 و أن تكون ثخانة الوسط في طبق البتري 4 mm.

يحضر المعلق الجرثومي بأخذ مستعمرات جرثومية معزولة جيداً وتوضع في مرق Physiologic Saline (0.85 %) أو حتى نحقق عكارة تقدر بـ 0.5 Mcfarland، ويجب استخدام هذا المعلق الجرثومي خلال 15 دقيقة من تحضيره.

يتم تلقيح وسط مولر هنتون بالمعلق الجرثومي بماسحة قطنية ويجب الانتباه إلى عصر المرق الزائد من الماسحة على أطراف الأنبوب.

وعملية التلقيح تتم بثلاثة اتجاهات ومن ثم إجراء مسحة نهائية على إطار الآغار بالماسحة القطنية.

ننتظر 3-5 دقائق (وليس أكثر من 15 دقيقة) حتى يجف سطح الآغار قبل تطبيق الأقراص والذي إما أن يكون بشكل يدوي بملقط عقيم مع الضغط لتثبيت القرص أو بشكل آلي.

بعد ذلك يحضن الطبق بعد قلبه لمدة 16- 18 ساعة أو أطول في حالات معينة.

وبعد ذلك نقيس منطقة تثبيط النمو حول القرص بمسطرة مدرجة ومقارنتها مع جداول معيارية ترفق مع الصادات من قبل الشركة المصنعة.

وتكون نتيجة اختبار الحساسية للصاد:

- حساس sensitive (s)
- مقاوم للصاد Resistant (R)
- متوسط الحساسية Intermediate (I)

❖ **نتائج الدراسة:**

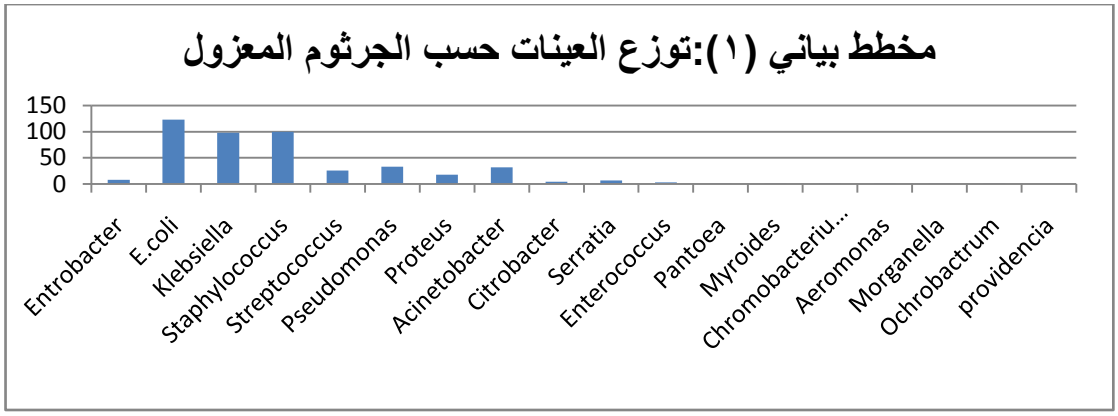
في دراستنا كان عدد العينات التي تم استقبالها في المختبر خلال فترة جمع العينات بما فيها العينات العقيمة (833) عينة. وكان عدد الزروع الجرثومية الإيجابية 459 عينة. وعدد العينات العقيمة 374 عينة.

جدول (3): النسبة المئوية للعينات الإيجابية و العقيمة

	العدد	النسبة المئوية
العينات الإيجابية	459	%55.1
العينات العقيمة	374	%44.9
الإجمالي	833	%100

جدول(4) مع مخطط بياني(1): توزع العينات حسب الجرثوم المعزول:

نوع الجرثوم المعزول	العدد	النسبة المئوية	
		من إجمالي العينات	من العينات الإيجابية
Enterobacter	8	0.96	1.74
E.coli	123	14.77	26.8
Klebsiella	98	11.76	21.35
Staphylococcus	100	12	21.79
Streptococcus	26	3.12	5.66
Pseudomonas	33	3.96	7.19
Proteus	18	2.16	3.92
Acinetobacter	32	3.84	6.97
Citrobacter	4	0.48	0.87
Serratia	7	0.84	1.52
Enterococcus	3	0.36	0.65
Pantoea	1	0.12	0.22
Myroides	1	0.12	0.22
Chromobacterium	1	0.12	0.22
Aeromonas	1	0.12	0.22
Morganella	1	0.12	0.22
Ochrobactrum	1	0.12	0.22
Providencia	1	0.12	0.22
الإجمالي	459	55.1	100

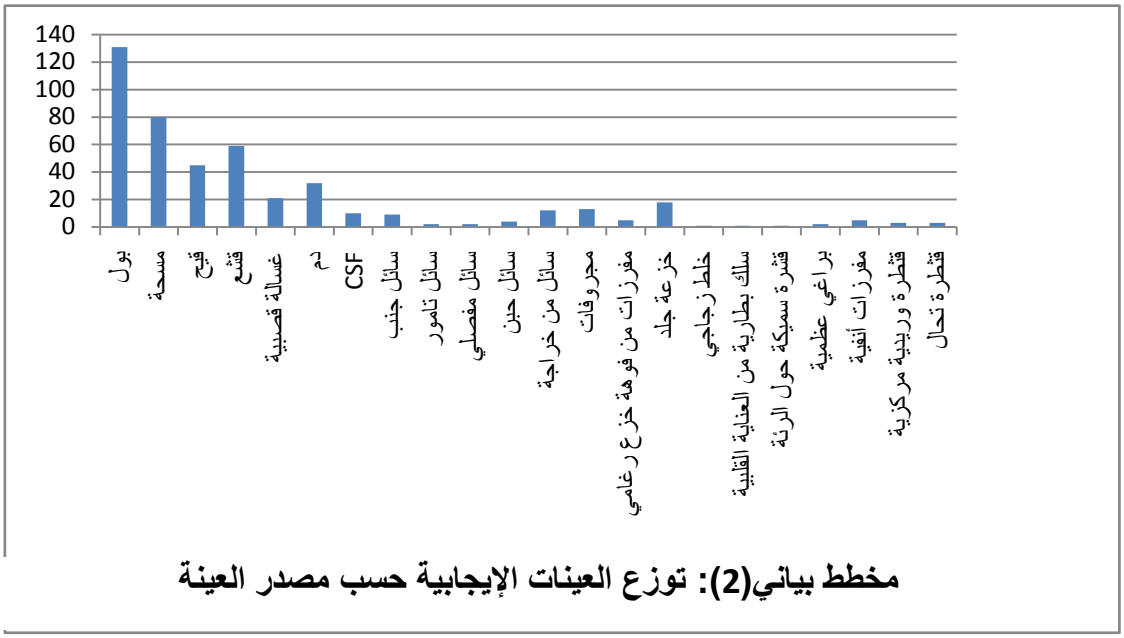


جدول(5): توزع العينات العقيمة حسب مصدر العينة :

مصدر العينة العقيمة	العدد	النسبة المئوية	
		من العينات الكلية	من العينات العقيمة
بول	170	20.41	45.45
سائل حبن	12	1.44	3.21
سائل جنب	26	3.12	6.95
سائل تامور	5	0.60	1.34
سائل من خراجة	3	0.36	0.80
سائل كيسة مائية	2	0.24	0.53
سائل مفصلي	15	1.80	4.01
مسحة	4	0.48	1.07
قشع	23	2.76	6.15
دم	85	10.20	22.73
CSF	18	2.16	4.81
غسالة قصبية	5	0.60	1.34
مجروفات	3	0.36	0.80
قيح	1	0.12	0.27
خزعة جلد	1	0.12	0.27
صفيحة عظمية	1	0.12	0.27
الإجمالي	374	44.9	100

جدول(6)مع مخطط بياني(2): توزع العينات الايجابية حسب مصدر العينة:

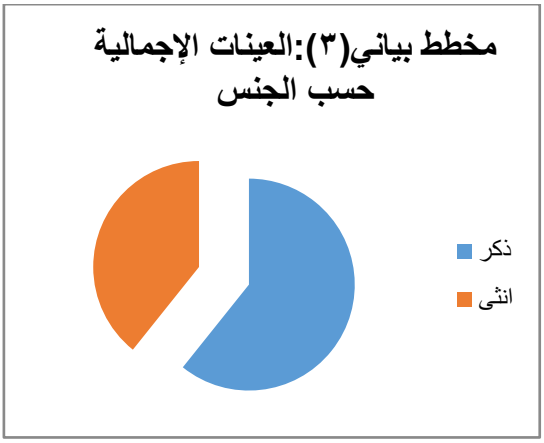
مصدر العينة الإيجابية	العدد	النسبة المئوية	
		من العدد الكلي للعينات	من العينات الإيجابية
بول	131	15.73	28.54
مسحة	80	9.60	17.43
قيح	45	5.40	9.80
قشع	59	7.08	12.85
غسالة قصبية	21	2.52	4.58
دم	32	3.84	6.97
CSF	10	1.20	2.18
سائل جنب	9	1.08	1.96
سائل تامور	2	0.24	0.44
سائل مفصلي	2	0.24	0.44
سائل حبن	4	0.48	0.87
سائل من خراجة	12	1.44	2.61
مجروفات	13	1.56	2.83
مفرزات من فوهة خزع رغامي	5	0.60	1.09
خزعة جلد	18	2.16	3.92
خلط زجاجي	1	0.12	0.22
سلك بطارية من العناية القلبية	1	0.12	0.22
قشرة سميكة حول الرئة	1	0.12	0.22
براغي عظمية	2	0.24	0.44
مفرزات أنفية	5	0.60	1.09
قثطرة وريدية مركزية	3	0.36	0.65
قثطرة تحال	3	0.36	0.65
الإجمالي	459	55.1	100



مخطط بياني(2): توزع العينات الإيجابية حسب مصدر العينة

جدول(7)مع مخطط بياني(3): توزع العينات الإجمالية حسب الجنس:

الجنس	العدد الكلي	النسبة المئوية
ذكور	506	60.74
إناث	327	39.26
الإجمالي	833	100



جدول(8): توزع العينات الإيجابية حسب الجنس:

الجنس	العدد من العينات الإيجابية	النسبة المئوية	
		من العدد الكلي	من العدد الإيجابي
ذكور	287	34.45	62.5
إناث	172	20.65	37.5
الإجمالي	459	55.1	100

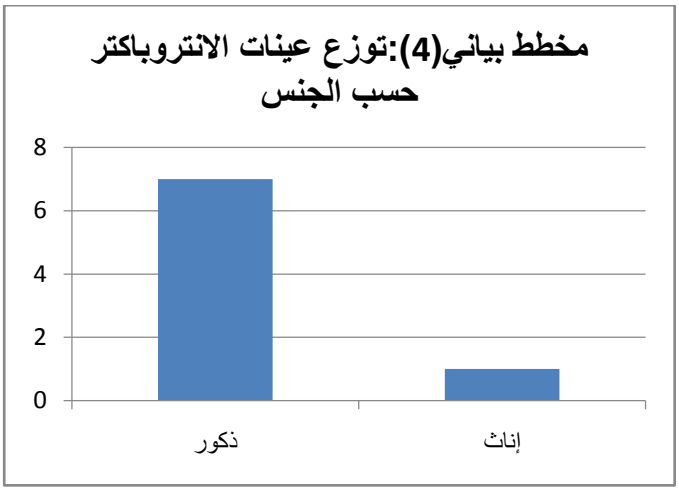
جدول(9): توزع العينات العقيمة حسب الجنس:

الجنس	العدد من العقيمين	النسبة المئوية	
		من العدد الكلي	من العقيمين
ذكور	219	26.29	58.56
إناث	155	18.61	41.44
الإجمالي	374	44.9	100

توزع عينات الانتروباكتر والتي كان عددها في دراستنا 8 عينات:

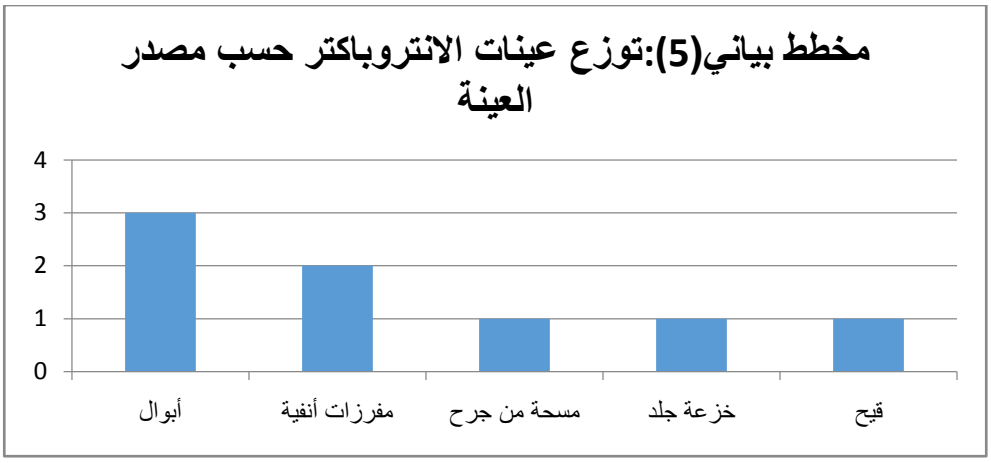
1- **جدول(10) ومخطط بياني(4): التوزع حسب الجنس:**

الجنس	العدد	النسبة المئوية		
		من عينات الانتروباكتر	من العينات الإيجابية	من العينات الكلية
ذكور	7	87.5	1.52	0.84
إناث	1	12.5	0.22	0.12
الإجمالي	8	100	1.74	0.96



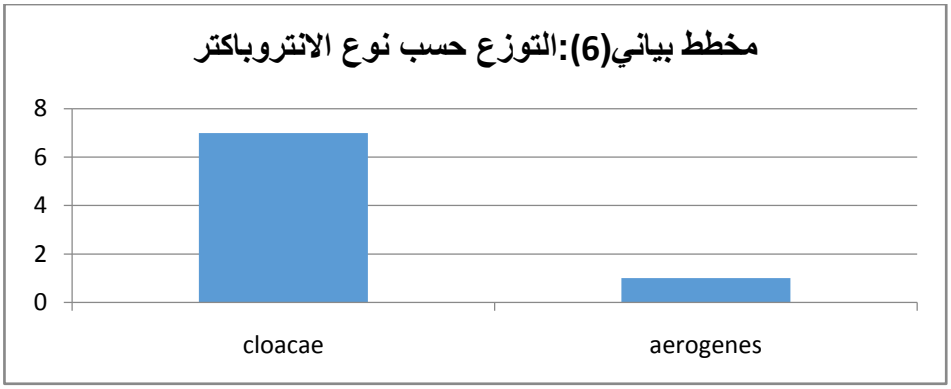
2- جدول(11) ومخطط بياني(5): التوزع حسب مصدر العينة:

العينة	العدد	النسبة المئوية			النسبة المئوية	
		من عينات الـ ENT	من مصدر العينة الإيجابي	من مصدر العينة الإجمالي	من العينات الإيجابية	من العينات الكلية
أبوال	3	37.5	2.29	1	0.65	0.36
مفرزات أنفية	2	25	40	40	0.43	0.24
مسحة من جرح	1	12.5	1.25	1.2	0.22	0.12
خزعة جلد	1	12.5	5.56	5.26	0.22	0.12
قيح	1	12.5	2.22	2.17	0.22	0.12



3- جدول(12) ومخطط بياني(6): التوزع حسب نوع الانتروباكتر:

نوع الانتروباكتر	العدد	النسبة المئوية
Cloacae	7	87.5
Aerogenes	1	12.5
الإجمالي	8	100



4- جدول(13): التوزع حسب الجناح الذي يقيم فيه المريض:

الشعبة	العدد	النسبة المئوية
الأذنية	1	12.5
العناية العصبية	1	12.5
الإسعاف الخامس	2	25
الكلية	1	12.5
الحروق والتجميل	2	25
الإنتانية	1	12.5
الإجمالي	8	100

5- جدول(14): التوزع حسب العمر لعينات الانتروباكتر:

الفئة العمرية	0-10سنوات	50-60 سنة	60-70 سنة	أكثر من 70 سنة
العدد	2	3	2	1
النسبة المئوية	%25	%37.5	%25	%12.5

كان 6 من أصل العينات الثمانية فوق سن الـ 50، وكان المتوسط الحسابي لأعمارهم 60 سنة.وكان 2 من أصل العينات الثمانية لأطفال ذكور بعمر سنة وشهرين و7 سنوات.

جدول(15): يوضح البيانات المتعلقة بالمرضى الثمانية إيجابيي الانتروباكتر

الجنس	العمر (سنة)	الشعبة	التشخيص عند القبول	مصدر العينة	تناول صادات خلال 30 يوم السابقة	مدة الإقامة في المشفى	أمراض مرافقة	إجراءات غازية	نوع الانتروباكتر
ذكر	64	داخلية / كلية	قصور كلوي سابق / التهاب حويضة وكلية حالياً	بول	سفترياكسون / ليفوفلوكساسين	>10 أيام	سكري II	قثطرة بولية إماهة وريدية غسيل كلية قبل القبول	Cloacae
ذكر	61	إسعاف خامس	حادث وعائي دماغي / شلل شقي أيسر مع قصة ترفع حروري غير مقيس وأسر بولي حاد قبل 3 أيام من دخوله المشفى	بول	لا يوجد	> 48 ساعة	سكري II	قثطرة بولية إماهة وريدية	Cloacae
ذكر	53	انتانية	حمى نقص عدلات مع ناسور جيبي أنفي أيسر	مفرزات أنفية	سفترياكسون / أميكاسين / فانكوميسين / أميبنيم	>15 يوم	AML m2	إماهة وريدية	Cloacae
ذكر	77	عناية عصبية	نقص سكر الدم مع شك إنتان بولي	بول	لا يوجد	20 ساعة	سكري	قثطرة بولية بشكل دائم خارج المشفى	Cloacae
ذكر	51	أذنية	بولييات أنفية وربو	مفرزات أنفية	كلاريترميسين	10 أيام	سكري I	قثطرة وريدية جراحة جيوب تنظيرية	Cloacae
أنثى	55	إسعاف العظمية	التهاب نسيج خلوي	مسحة من جرح	سفترياكسون / كليندااميسين	>10 أيام	سكري II عضة جرذ قبل شهر	قثطرة وريدية تنضير وضماد للجرح	Cloacae
ذكر	7	التجميل	هيماتوم متعضٍ بعد حادثة سقوط منذ1 سنة	قيح من هيماتوم متعض في الفخذ	لا يوجد	3 أيام	لا يوجد	جراحة لاستئصال الهيماتوم	Aerogenes
ذكر	سنة و شهران	جراحة الحروق	حرق 13% درجة II	خزعة من جلد البطن	فانكوميسين / جنتاميسين / سيفتازيديم	9 أيام	حرق	قثطرة بولية إماهة وريدية ضماد	Cloacae

جدول(16): توزع المرضى حسب مدة الإقامة في المشفى

20 ساعة	>48 ساعة	3 أيام	9 أيام	10 أيام	>10أيام	>15 يوم
1	1	1	1	1	2	1

جدول(17): الصادات المتناولة من قبل المرضى الثمانية قبل إجراء التحليل

سفترياكسون (سيفالوسبورين جيل 3)	سيفتازيديم (سيفالوسبورين جيل 3)	أمينوغليكوزيدات (أميكاسين- جنتاميسين)	ليفوفلوكساسين (فلوروكينولون)
3 مرضى	مريض واحد	مريضان	مريض واحد

جدول(18): الحساسية للصادات للعينات إيجابية الانتروباكتر وعددها 8:

Antibiotic	S		I		R	
	العدد من 8	النسبة	العدد من 8	النسبة	العدد من 8	النسبة
Ampicillin – Sulbactam	2	25%	-	-	6	75%
Cefepime	4	50%	-	-	4	50%
Ceftriaxone	2	25%	-	-	6	75%
Cefuroxime	1	12.5%	-	-	7	87.5 %
Imipenem	6	75%	1	12.5 %	1	12.5 %
Meropenem	5	62.5%	1	12.5 %	2	25%
Tobramycin	3	37.5%	1	12.5 %	4	50%
Ciprofloxacin	3	37.5%	1	12.5 %	4	50%

- الصادات التالية لم يمكن استخدامها لجميع العينات بسبب عدم توافرها في المشفى بشكل كاف في وقت الدراسة حيث:

استخدم piperacillin-tazobactam لثلاث عينات فقط وكانت نتيجة الحساسية: حساس لعينتين (قيح – إحدى عينات الأبوال الثلاثة)

مقاوم لعينة واحدة (مفرزات أنفية)

استخدم amoxicillin-clavulanate لعينتين فقط (مفرزات أنفية- إحدى عينات الأبوال) وكان مقاوماً.

استخدم ceftazidime (سيفالوسبورين جيل 3) لأربع عينات وكانت نتيجة الحساسية: حساس لعينة واحدة (قيح).

مقاوم لثلاثة عينات (مفرزات أنفية – عينتا بول).

استخدم cefotaxime (سيفالوسبورين جيل 3) لعينة واحدة (مفرزات أنفية) وكان مقاوماً

استخدم كل من gentamicin, amikacin لعينة واحدة (مفرزات أنفية) وكانا مقاومين.

استخدم كل من doxycycline, minocycline لعينة واحدة (مفرزات أنفية) وكانا مقاومين.

استخدم levofloxacin لعينة واحدة (مفرزات أنفية) وكان مقاوماً.

كما استخدم pefloxacin لعينتين وكان مقاوماً لإحداهما (خزعة جلد) وحساساً لأخرى (مفرزات أنفية).

استخدم Tigecycline لأربع عينات من أصل ثمانية باستثناء عينات الأبوال وكانت نتيجة اختبار الحساسية: حساس لعينة واحدة (قيح)

متوسط الحساسية (I) لعينة واحدة(مسحة من جرح)

مقاوم لعينتين (خزعة جلد – مفرزات أنفية).

استخدم Colistin لعينتين هما خزعة الجلد ومفرزات أنفية وكان حساساً (S).

استخدم Trimethoprim – Sulfamethoxazole لثلاث عينات وكانت نتيجة الحساسية: حساس لعينتين (مفرزات أنفية – مسحة من جرح)

مقاوم لعينة (إحدى عينات الأبوال)

جدول(19):الصادات المضافة لعينات الأبوال الثلاثة من أصل ثمانية:

الصاد	S	I	R	
			العدد من 3	النسبة
Nalidixic Acid	0%	0%	3	100%
Nitrofurantoin	0%	0%	3	100%

❖ **مناقشة النتائج:**

- في دراستنا كان عدد الزروع الجرثومية 833 عينة كان منها 459 عينة إيجابية الزرع الجرثومي.

وقد كانت المرتبة الأولى من بين الجراثيم المعزولة E.coli تليها staphylococcus و تليها في المرتبة الثالثة klebsiella.

وأما Enterobacter فقد أتت في المرتبة الثامنة بعدد عينات 8.

- أما بالنسبة لنتائج التشخيص باختبار API فقد كانت الجرثومة الأكثر تشخيصاً هي E.coli وتحديداً $E.coli_1$.

وفي المرتبة الثانية بعدها تأتي Acinetobacter.

وكانت من بينها العينات الثمانية للانتروباكتر التي شملت 7 عينات ent.cloacae وعينة واحدة ent.aerogenes وهو ما يتماشى مع شيوع نوعها cloacae.

حيث أن عينات الانتروباكتر الثمانية قد شخصت باستخدام اختبار API وليس فقط بالاعتماد على الزرع الجرثومي.

- في الحقيقة، ونظراً لقلة نسبة عينات جرثومة الامعائية من إجمالي العينات وضعف إمكانية تأمين الصادات في المشفى في وقت الدراسة

ربما لن يكون بإمكاننا استنتاج بيانات جازمة فيما يخص الصادات وبيانات المرضى، ولكن هذا بحد ذاته يمثل نتيجة مفادها أن الجرثومة المذكورة غير منتشرة في مشفى المواساة الجامعي وتشكل نسبة قليلة من الجراثيم المشفوية فيه حيث شكلت نسبة 0.96% من إجمالي العينات. ونسبة 1.74% من العينات الإيجابية.

- الذكور > الإناث (1/7). أي ما نسبته 87.5% للذكور و 12.5% للإناث وهو ما يتوافق مع كونها أشيع عند الذكور كما تشير الدراسات الوبائية.

- كبار السن > الأطفال (2/6) حيث الدراسات الوبائية تشير إلى شيوعها عند كبار السن و المواليد الجدد ربما لكونهم الفئة العمرية الأكثر تعرضاً لضعف المناعة و الاستشفاء و التداخلات الغازية المتعلقة به. و في دراستنا التي أجريت في مشفى المواساة كانت نسبة كبار السن أكبر ربما لأن أغلب مرضاه من كبار السن.

- لم تظهر دراستنا سيادة لشعبة معينة دون أخرى في المشفى المدروس.

- لم تظهر دراستنا سيادة لنوع عينات معين علماً أن عدد الأبوال كان 3 عينات من أصل 8.

- جميع كبار السن في دراستنا كانوا يعانون من حالات مرضية مرافقة تعد من عوامل الخطورة للإصابة بأخماج الانتروباكتر حيث:
  - 5 من أصل 6 كان لديهم مرض السكري.
  - 1 يعاني من خباثة دموية (AML) وحمى نقص عدلات.

  كذلك أحد الأطفال لديه حرق درجة II .

- ومن حيث مدة الإقامة في المشفى فقد كانت: أكثر من 9 أيام لدى 5 حالات و3 أيام لحالة واحدة وأكثر من يومين لحالة واحدة و20ساعة فقط لحالة واحدة وبذلك تكون كلها حققت معايير الخمج المشفوي Hospital Acquired infection (HAI) الذي يعرف بأنه:
  حالة موضعة أو جهازية تنتج من عامل خمجي أوذيفاناته تتطور لدى المريض خلال 48 ساعة أو أكثر بعد إدخاله المشفى، ولم تكن في فترة الحضانة خلال فترة الدخول إلى المشفى [34] .

  باستثناء حالة المريض الذي أمضى حوالي 20 ساعة فقط في المشفى مع قصة استخدام مستمر للقثاطر البولية خارج المشفى وبالتالي ربما لن نستطيع اعتبارها حالة خمج مشفوي بالانتروباكتر فقد يكون الخمج مكتسباً في المجتمع.

كذلك حالة الأنثى التي لديها التهاب نسيج خلوي فقد تعرضت لعضة جرذ قبل شهر من دخولها المشفى .وأيضاً أحد المرضى لديه قصة ترفع حروري غير مقيس وأسر بولي حاد قبل دخول المشفى. لا نجزم بكونها أخماجاً مكتسبة في المشفى بالانتروباكتر.

- كل المرضى في دراستنا تعرضوا لإجراءات غازية خلال إقامتهم في المشفى سواء كانت قثاطر بولية أو قثاطر و إماهة وريدية.

مما قد يمكننا من اعتبار ذلك أحد عوامل الخطورة لأخماج الانتروباكتر كما تشير التقارير العالمية.

- أما بالنسبة لتناول الصادات كأحد عوامل الخطورة المؤهبة للخمج فإن 5 من أصل 8 من المرضى لديهم قصة تناول صادات قبل إجراء التحليل بعدة أيام خلال إقامتهم في المشفى و هو ما تعتبره الدراسات المرجعية أحد عوامل الخطورة.

وقد شملت الصادات المتناولة: السفترياكسون، السيفتازيديم، الأمينوغليكوزيدات و الفلوروكينولونات.

بالإضافة إلى مشاركتها لدى البعض مع صادات أخرى حسب الحالة مثل:

ايميبينيم – فانكوميسين – كلاريترومیسين – كليندااميسين

لكن في دراستنا ربما لن نستطيع أن نجزم بهذه الخطورة نظراً لقلة عدد العينات.

- وفيما يتعلق بنتائج الحساسية للصادات لعينات الانتروباكتر الثمانية:
  - البنسلينات والسيفالوسبورينات (الأصناف التي أمكن استخدامها للعينات الثمانية والمذكورة في الجدول 18): كانت الفعالية الأعلى لسيفالوسبورينات الجيل الرابع cefepime وهو ما يتماشى مع الدراسات التي تقول أن فعاليته ضد أخماج الانتروباكتر مبشرة بالنجاح.

بينما كانت الفعالية الأقل لسيفالوسبورينات الجيل الثاني cefuroxime وهذا أيضاً يتماشى مع الدراسات التي تقول أن الانتروباكتر مع بعض الاستثناءات مقاومة لهذه الصادات، ربما لأنها تعتبر من الصادات القديمة والتي تعرضت لسوء الاستخدام من حيث وصفها بدون الحاجة لها أو الاستخدام المطول غير الضروري أو عدم تقيد المريض بتعليمات الاستخدام.

- الكاربابنيمات: أظهرت نتائجنا أنها حققت نسب حساسية أعلى من غيرها ومنها الايميبينيم الذي كانت له الفعالية الأعلى بنسبة حساسية 75% (6 عينات من أصل 8) والميروبينيم 62.5%(5عينات من أصل 8) فهي تعتبر من الصادات الحديثة إضافة إلى غلاء ثمنها نسبة لباقي الصادات مما يحد من استخدامها لدى جميع المرضى وبالتالي تقل نسب المقاومة لها.

- أظهرت دراستنا تساوي فعالية Tobramycin (أمينوغليكوزيد) و Ciprofloxacin (فلوروكينولون).
وكما ذكر سابقاً فإن فعالية الأمينوغليكوزيدات والفلوروكينولونات والمقاومة لها بالنسبة لأخماج الانتروباكتر تختلف بين المراكز العالمية.

- بالنسبة لكل من piperacillin-tazobactam, amoxicillin-clavulanate, ceftazidime, cefotaxime, gentamicin, amikacin, doxycycline, minocycline, levofloxacin, pefloxacin, colistin, tigecycline, trimethoprim-sulfamethoxazole
فهي لم تستخدم لجميع العينات بسبب عدم توافر كامل الصادات في المشفى المدروس في وقت الدراسة ولذلك لن نتمكن من أن نستخلص بيانات واضحة حول فعاليتها ضد أخماج الانتروباكتر.

- في دراستنا كانت عينات الأبوال الثلاثة مقاومة لكل من nitrofurantoin و nalidixic acid .

❖ **الدراسات المقارنة:**

1 - دراسة إيرانية في مشفى علي بن أبي طالب على مدار سنة 2013-2014 [34]:

تم إدخال 16140 مريض إلى المشفى تضمنت 162 مريض بالأخماج المكتسبة في المشافي أي تقريباً ما نسبته 1% معظمهم منICU.

جدول(20): أشيع الجراثيم في هذه الدراسة كانت:

الجرثوم	الدراسة المقارنة	دراستنا
Enterobacter	% 17.6	% 1.74
Acinetobacter	% 17.6	% 6.97
E.coli	% 11	% 26.8

جدول(21) يوضح مقارنة المقاومة للصادات المشتركة بين الدراستين:

الصاد	الدراسة الإيرانية	دراستنا
Ciprofloxacin	%58.8	%50
Imipenem	%41.2	%12.5
Nitrofurantoin	%17.6	%100
Nalidixic Acid	%5.9	%100

2 - دراسة في نيجيريا بين 2008/1 – 2010/6 [35]:

كان عدد العينات 6632 تشمل أطفالاً وبالغين ذكور وإناث.

عدد عينات الانتروباكتر 107 أي ما نسبته 1.6%.

جدول(22): مقارنة توزع العينات بين الدراستين:

دراستنا		**الدراسة المقارنة**	
Ent. Aerogenes	Ent. cloacae	Ent. Sakazakii	Ent. Aerogenes
عينة واحدة	سبع عينات	ثلاث عينات	مئة و أربع عينة

تقول هذه الدراسة أن معدل انتشار أنواع الانتروباكتر في المشفى المدروس كان قليلاً لكن الفوعة ومقاومتها للصادات تجعلها هامة سريرياً وهو ما يشابه ما وجدناه في دراستنا هذه.

هذه الدراسة تقسم الحساسية للصادات حسب نوع الانتروباكتر وحسب نوع العينة حيث حددت نسب حساسية خاصة بعينات الأبوال.

جدول(23): مقارنة الحساسية للعينات غير الأبوال للصادات المشتركة بين الدراستين:

الصاد	**الدراسة النيجيرية**		**دراستنا**	
	Aerogenes	Sakazakii	Cloacae	المقارنة مع عينة واحدة aerogenes
Cefuroxime	%16.6	%66.6	%0	S
Ceftriaxone	%21.6	%66.6	%0	S

أما عينات الأبوال في الدراسة المقارنة فقد كانت من نمط aerogenes بينما في دراستنا الأبوال من نوع cloacae.

جدول(24): مقارنة الحساسية للصادات المشتركة لعينات الأبوال:

الصاد	الدراسة المقارنة	دراستنا
Cefuroxime	%9.1	%0
Ceftriaxone	%11.4	%33.3 (عينة واحدة)
Nitrofurantoin	%79.5	%0

التوصيات:

1. من خلال إنجاز القسم العملي في هذه الدراسة، وجدنا ضرورة استخدام API أو الاختبارات الكيميائية الحيوية بشكل عام لتحديد هوية الجرثوم بدقة. وذلك بسبب الصعوبة التي واجهتنا في التشخيص بالاعتماد على المزارع الجرثومية فقط، فكثير من العينات كانت تحتاج إجراء اختبار API و ربما يكون ذلك بسبب التغير في مورفولوجيا الجراثيم أو بسبب سوء الأوساط المستخدمة خاصة أنه من المشكلات التي واجهتنا هي نمو الجراثيم إيجابية الغرام في كثير من العينات على أطباق الـ EMB و هو ما تبين بعد إجراء المحضرات المباشرة و الملونة.

2. من خلال تحليل البيانات نجد أنه من أصل 301 عينة بول كان عدد العينات إيجابية الزرع الجرثومي 131 عينة بينما كان عدد العينات العقيمة 170 عينة.
لذلك نشير إلى أهمية وفائدة إجراء تحليل البول الاعتيادي قبل إجراء اختبار الزرع الجرثومي والاستعانة به.

المقترحات:

- نقترح إجراء رسالة أخرى تدرس أخماج الانتروباكتر بحيث يتم توفير الصادات اللازمة لنتمكن من تحديد الصاد الأفضل لعلاج هذا الخمج.

المراجع:

1. د.تيسير البني، د.عواطف عرفات، د.أحمد السحار؛ الجراثيم و الفيروسات الطبية؛ كتاب جامعي من منشورات جامعة دمشق كلية الطب البشري؛ 2015-2016
2. Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackbrandt E; The Prokaryotes; Third Edition; volume 6; 2006;P:197-206.
3. Mezzatesta ML, Gona F, Stefani S; Enterobacter cloacae complex:clinical impact and emerging antibiotic resistance; Future Microbiol. 2012 Jul; 7(7):887-902.
4. GillespieSH, HawkeyPM; Principles and Practice of Clinical Bacteriology; Second Edition; 2006; P:382-383.
5. Parija SC; Textbook of Microbiology & Immunology; 2009; P:273.
6. Mcpherson AR, Pincus RM; Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods; Twenty First edition; 2006; P:1032.
7. Berger S; GIDEON GUIDE TO MEDICALLY IMPORTANT BACTERIA; 2017; P:755-756
8. Fraser SL,Sinave CP; Enterobacter Infections; Oct 25 2016; Seen Dec 5 2016. http://emedicine.medscape.com/article/216845.
9. Samaranayake L; Essential Microbiology for Dentistry E-book; fourth edition; 2011; P:148.
10. Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG, Fanning S; Enterobacter Sakazakii: an emerging pathogen in powdered infant formula; Clin Infect Dis; (2006)Apr 1; 42(7):996-1002.

11. Regli AD, Pages JM; Enterobacter aerogenes and Enterobacter cloacae versatile bacterial pathogens confronting antibiotic treatment; Front Microbiol.2015;6:392.
12. John JF Jr, Sharbaugh RJ, Bannister ER; Enterobacter cloacae: bacteremia,epidemiology and antibiotic resistance; Rev Infect Dis(1982),vol 4(1),P:(13-28).
13. Ellis ME; Infectious Diseases of the Respiratory Tract; 1998; P:140.
14. Wilson CB, Nizet V,Remington JS, Klein JO, Maldonado Y; Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant; seventh edition; 2010; P:231.
15. Bahati B, Ma ZH, Abudouhaer A; Time series analysis of enterobacter cloacae nosocomial infections in children hospitalized in the pediatric intensive care unit; Zhonqquo Dang Dai Er Ke Za Zhi.2015.Sep;17(9):946-9.
16. Andresen J, Asmar BI, Dajani AS; Increasing Enterobacter bacteremia in pediatric patients; Pediatr Infect Dis J.1994 Sep;13(9):787-792.
17. Bowden RA, Perljungman, Snydman DR; Transplant Infections; 2012;P:269.
18. Keller R, Pedroso MZ, Ritchmann R, Silva RM; Occurrence of virulence _ Associated properties in Enterobacter cloacae; Infect Immun.1998 Feb;66(2):645- 49.
19. Chow JW, Yu VL, Shlaes DM; Epidemiology perspectives on enterobacter for the infection control professional; AmJ Infect Control.1994 Aug;22(4):195-201.

20. Archibald L, Phillips L, Monnet D, McGowan JE Jr, Tenover F, Gaynes R; Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States:increasing importance of the intensive care unit; Clin Infect Dis.1997 Feb;24(2):211-5.
21. Sanders WE Jr, Tenney JH, Kessler RE; Efficacy of cefepime in the treatment of infections due to multiply resistant Enterobacter species; Clin Infect Dis.1996 Sep;23(3):454-61.
22. Jones RN; Resistance patterns among nosocomial pathogens: trends over the past few years; Chest.2001 Feb;119(2 suppl):397s-404s.
23. Wolff MA, Young CL, Ramphal R; Antibiotic therapy for enterobacter meningitis:a retrospective review of 13 episodes and review of the literature; Clin Infect Dis.1993 jun;16(6):772-7.
24. Foster DR, Rhoney DH; Enterobacter meningitis: organism susceptibilities, antimicrobial therapy and related outcomes; Surg Neurol.2005 Jun;63(6):533-7;discussion 537.
25. Long SS, Pickering LK, Prober CG; principles and practice of pediatric infectious diseases E-Book; fourth edition;2012; P:806.
26. http://www.who.int/media centre/fact sheets/antibiotic _resistance/en/.October 2016.
27. Shah AA, Hasan F, Ahmed S, Hameed A; Extended spectrum beta_lactamases(ESbLs): characterization,epidemiology and detection; Crit Rev Microbiol.2004;30(1):25-32.
28. Susic E; Mechanisms of resistance in Enterobacteriaceae towards beta_lactamase antibiotics; Acta Med Croatica.2004;58(4):307-12.

29. Chavda KD, Chen L, Fouts DE, Sutton G, Brinkac L, Jenkins SG, Bonomo RA, Adams MD, Kreiswirth BN; Comprehensive genome analysis of carbapenemase_producing Enterobacter spp: new insights into phylogeny,population structure,and resistance mechanisms; MBio.2016 Dec 13;7(6).pii:e 02093-16.doi:10.1128/mBio.02093-16.
30. Acton QA; beta_lactamases_Advances in Research and Application; 2012; P:3.
31. Chow JW, Fine MJ, Shlaes DM, Quinn JP, Hooper DC, Johnson MP, Ramphal R, Waqener MM, Miyashiro DK, Yu VL; Enterobacter bacteremia: clinical features and emergence of antibiotic resistance during therapy; Ann Intern Med.1991 Oct 15;115(8):585-90.
32. Benson; microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology; Eighth Edition ; 2001 ; P: 145- 146
33. Goldman E , Green LH ; Practical Handbook of Microbiology ; second Edition ; 2008 ; P: 150 -151
34. Tabatabaei SM , Pour FB , Osmani S; Epidemiology of Hospital – Acquired Infections and Related Anti-microbial Resistance Patterns in a Tertiary – care teaching Hospital in Zahedan , southeast Iran ; International Journal of Infection. 2015 october ; 2(4) : e 29079 , DOI : 10.17795
35. Mordi RM , Hugbo P G ; Frequency of Isolation of Enterobacter Species from a Variety of Clinical Specimens in a Teaching Hospital in Nigeria ; Tropical Journal of Pharmaceutical Research , December 2011; 10(6) : 793 – 800.