



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الطب البشري

قسم الفيزيولوجيا والأدوية والمداواة

دراسة انتشار المكورات العنقودية الذهبية المقاومة

للـ methicillin (MRSA) ومقاومتها تجاه الـ Glycopeptides

في مستشفى الأطفال بدمشق

إعداد الطالب

أحمد العكيدي

أطروحة أعدت لنيل درجة الدكتوراه في قسم الفيزيولوجيا ولأدوية والمداواة

برئاسة

الأستاذة المساعدة الدكتورة أمل الزاهر

إشراف

أ. د. هند داود

قسم الأدوية والمداواة

كلية الطب البشري

إشراف مشارك

أ. د. مجيب ملحم

قسم الأطفال

كلية الطب البشري

2014 - 2013

تصريح

"لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة قد تم أخذه من عمل آخر
أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في هذه الجامعة
أو أية جامعة أخرى أو أي معهد تعليمي"

الباحث: احمد العكدي

2014

إقرار المشرفين

نشهد أن أطروحة الدكتوراه المعنونة بـ " دراسة انتشار المكورات

العنقودية الذهبية المقاومة للـ methicillin (MRSA) ومقاومتها

تجاه الـ Glycopeptides في مستشفى الأطفال بدمشق." والعائدة

للطالب احمد العكدي قد جرى تحت إشرافنا نحن الأساتذة

دمشق في تاريخ.....

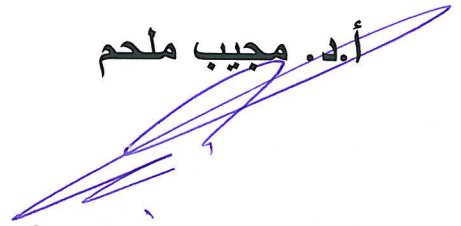
المشرف

أ.د. هند داود



المشرف المشارك

أ.د. مجيب ملحم



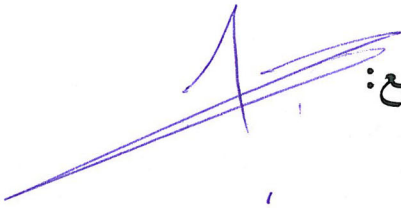
إقرار الباحث

أشهد أن موضوع أطروحة الدكتوراه المعنونة بـ " دراسة انتشار
المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للـ methicillin (MRSA)
ومقاومتها تجاه الـ Glycopeptides في مستشفى الأطفال بدمشق."
والتي كانت بإشراف الأستاذة الدكتورة هند داود ومشاركة الأستاذ الدكتور
مجيب ملحم لم يسبق أن قُبلت لأي شهادة ولا هي مقدمة حالياً للحصول
على شهادة أخرى في هذه الجامعة أو أي جامعة أخرى أو معهد تعليمي.

دمشق في تاريخ

الباحث: احمد العكدي

التوقيع:



الإهداء

إلى مروح والدي الذي كنت أتمنى أن يشهد هذا العمل

إلى أمي القلب الكبير .

نزوجتي مرفيقة المشوار، شريكتي ونصفي الآخر .

أبنائي

ينرن، ألاء ومحمد

إخوتي

أصدقائي

أساتذتي

أهدي هذا العمل .

الباحث

كلمة شكر وامتنان

بادئاً ذي بدء أبدأ بالشكر لله تعالى الذي أعطانني الصحة ووفقني لإتمام هذا العمل المتواضع ومن لا يشكر الله لا يشكر الناس.

ثم أقدم شكري وتقديري إلى بلدي اليمن السعيد مهد الحضارات وإلى جامعة ذمار التي أعمل بها والتي أوفدتني لتحضير درجتي الماجستير والدكتوراه.

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى بلدي الثاني سورية العربية مهد الديانات، البلد المعطاء، الكريم، الذي منحني درجتي العلمية الثلاث ابتداءً من درجة الإجازة في الطب العام ومروراً بدرجة الماجستير وإنهاءً بدرجة الدكتوراه.

كل الشكر والتقدير إلى صاحبة القلب الكبير واليد الحانية الكريمة، والروح المتواضعة الأستاذة الدكتورة / هند داود نائب رئيس الجامعة للشؤون العلمية التي تفضلت مشكورة بالإشراف على هذه الأطروحة، والتي غمرتني وأحاطتني برعايتها ولازمتني في كل مراحل إعداد هذا العمل، فلم تبخل علي بالتوجيه والنصح والتدقيق والمتابعة خطوة بخطوة، ولم تكلّ أو تمل من كثرة سؤالي لها، كما كان لها بصماتها الواضحة، ولمساتها الفنية في إخراج هذه الأطروحة بصيغتها النهائية، فلها مني جزيل الشكر والامتنان.

والشكر موصول إلى الأستاذ الدكتور / مجيب ملحم الذي تفضل مشكوراً بالمشاركة بالإشراف على هذه الأطروحة، الطبيب الانسان ذو الخبرة الكبيرة والعلم الغزير، الشخصية المتواضعة، الذي لم يبخل علي بتوجيهاته ونصائحه، والاقتطاع من وقته، رغم مشاغلة الكثيرة، فله مني جزيل الشكر والامتنان.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى أعضاء لجنة الحكم لتفضلهم بقبول قراءة الأطروحة وتحكيمها وتقويم إوجاجها ولجم شططها.

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى رئاسة جامعة دمشق وعمادة كلية الطب البشري، وإلى نائبيها العلمي والإداري وأخص بالذكر الأستاذة الدكتورة ريم السيد حسن لما قدموه لي من تسهيلات ودعم لا محدود.

والشكر موصول إلى رئاسة قسم الفيزيولوجيا والأدوية والمداواة ممثلة بالأستاذة المساعدة الدكتورة أمل الضاهر لما قدمته لي من تسهيلات وتذليل الكثير من الصعوبات والعقبات، وإلى جميع الأساتذة بقسم الفيزيولوجيا والأدوية والمداواة بكلية الطب من كانوا عوناً وسنداً، ولم ييخلوا في توجيه أُنصيحة.

أتقدم بالشكر الجزيل إلى جميع العاملين في مختبر الأدوية والمداواة على ما أحاطوني من رعاية واهتمام، وإلى جميع العاملين في مختبر مستشفى الأطفال على ما قدموه لي من مساعده واحترام فلم يتأففوا من وجودي بينهم وكانوا يقابلوني بوجه مبتسمة فلهم مني جميعاً الشكر والامتنان.

والشكر موصول إلى جميع العاملين في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية لما قدموه لي من دعم وتوضيح، حتى أخذوا بيدي لأعمل بنفسي فكانوا نعم الموجهين، وأخص بالشكر الأخ مالك السعدي الذي لن أستطيع أن أوفيه حقه من الشكر لأنه بحق أكبر من أية كلمات شكر.

إلى كل من مدّ لي يد العون، فالمقام مقام امتنان وعرفان، وقد يضيق عن ذكر كل من يستحق الشكر، فإلى من ذكرت ومن لم أذكر ممن وجهني بكلمة أو نصح أو قدم لي خدمة أو تشجيع أقول لهم جميعاً من قلب يملؤه الحب والعرفان جزاكم الله عني خير الجزاء.

قائمة المحتويات

المحتوى	رقم الصفحة
الإهداء	IV
كلمة الشكر	V
قائمة المحتويات	VII
قائمة الجداول	IX
قائمة المخططات	XI
قائمة الأشكال	XII
قائمة المختصرات	XIV
الملخص باللغة العربية	XVI
المقدمة	1
القسم النظري	4
المكورات العنقودية Staphylococci	5
المكورات العنقودية الذهبية S.aureus	7
المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للـ (MRSA) methicillin	18
العداوى المكتسبة في المستشفيات (HA-MRSA)	29
العداوى المكتسبة في المجتمع (CA-MRSA)	31
الـ PVL	38
الـ (SCC) Staphylococcus Cassette Chromosome	41
العنصر mec	41
تكاليف معالجة العدوى المحدثة بالـ MRSA	47
الطرائق المعتمدة للكشف عن الـ MRSA	47
الطرائق التقليدية Traditional Methods	47
الـ PCR	50
الطرائق الجزيئية Molecular methods	50
التدابير العلاجية المتبعة	52

53	البنسلينات المضادة للعنقوديات (الـ penicillinase- resistant penicillins)
56	الـ Glycopeptides
65	الإجراءات الوقائية
68	القسم العملي
69	أهداف الدراسة
69	مكان الدراسة
69	حجم العينة
69	مدة الدراسة
70	المواد والطرائق
70	الإجراءات المتبعة في تحضير العينات في مستشفى الأطفال
70	عزل وتشخيص الـ S.aureus
76	دراسة التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه المضادات الحيوية
81	الإجراءات المتبعة في تحري الجينات في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية
99	النتائج
115	المناقشة
130	الاستنتاجات
132	التوصيات
134	الملخص باللغة الإنجليزية
136	المراجع

قائمة الجداول

رقم الصفحة	الجدول	رقم الجدول
7	يبيّن أنواع المكورات العنقودية الهامة سريرياً	1
27	يبيّن نسب توزع الـ MRSA بين الذكور والإناث في دراسة هندية ودراستين سعوديتين	2
46	يبيّن مقارنة بين الـ HA-MRSA والـ CA-MRSA	3
60	يبيّن مقارنة لخصائص الـ vancomycin والـ teicoplanin	4
100	يبيّن النسبة المئوية للجراثيم المعزولة حسب تلوين غرام خلال فترة الدراسة	5
101	يبيّن النسب المئوية للعزولات الجرثومية إيجابية الغرام حسب شيوعها	6
102	يبيّن النسبة المئوية لانتشار الـ S.aureus والـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث	7
103	يبيّن معدلات توزع الـ S.aureus والـ MRSA حسب مصدر العينة	8
104	يبيّن معدلات توزع الـ S.aureus والـ MRSA بحسب شعب المستشفى	9
105	يبيّن مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة الانتشار القرصي في كامل المستشفى	10
106	يبيّن مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة كشف جين الـ mecA باستعمال الـ PCR	11
107	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جين الـ mecA عند عزولات الـ S.aureus (MSSA، MRSA) والانتشار القرصي	12
108	يبيّن النتائج التفصيلية للعزولات التي أظهرت عدم توافق بين نتائج اختبار الانتشار القرصي ووجود جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR	13
109	يبيّن نسب عزولات الـ S.aureus التي أظهرت توافق وعدم توافق مقارنة بين طريقتي الانتشار القرصي وكشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR	14
110	يبيّن معدلات انتشار جينات الـ PVL عند عزولات الـ S.aureus	15
111	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات	16

	الـ S.aureus (MSSA، MRSA) والانتشار القرصي	
112	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MSSA، MRSA) وطريقة كشف جين الـ mecA بالـ PCR	17
113	يبيّن نسب تواجد الـ mecA والـ PVL معاً عند الـ S.aureus (MSSA، MRSA)	18
114	يبيّن التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه الـ OXA والـ VAN والـ TEIC	19
117	يبيّن مقارنة لنسب توزع الجراثيم إيجابية الغرام في دراستنا ودراسات المستشفى السابقة	20
117	يبيّن مقارنة نسب توزع الـ S.aureus عند الذكور والإناث في دراستنا ودراسة المرقبي	21
118	يبيّن مقارنة نسب توزع الـ MRSA عند الذكور والإناث في دراستنا و3 دراسات (هندية، سعودية)	22
121	يبيّن مقارنة نسب انتشار جراثيم MRSA في دراستنا مع دراسات مستشفى الأطفال السابقة والدراسة السعودية	23
122	يبيّن مقارنة توزع نسب الـ MRSA والـ MSSA بطرقتي الانتشار القرصي وكشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR في دراستنا ودراسة هندية	24
123	يبيّن مقارنة عزولات الـ S.aureus التي تملك جين الـ mecA بين دراستنا ودراسة هندية بطريق كشف الـ mecA بالـ PCR	25
124	يبيّن مقارنة عزولات الـ MRSA سلبية جين الـ mecA في دراستنا ودراسات (الأردن، Skopji، الهند)	26
126	يبيّن مقارنة نسب توزع الـ PVL عند الـ MRSA والـ MSSA في دراستنا ودراسات (الصين، نيجيريا، الهند)	27
129	يبيّن مقارنة نسب مقاومة جراثيم الـ MRSA تجاه الـ vancomycin والـ teicoplanin في دراستنا مع دراسات مستشفى الأطفال السابقة ودراستين (سعودية، نيجيرية)	28

قائمة المخططات

رقم المخطط	المخطط	رقم الصفحة
1	يبيّن النسبة المئوية للجراثيم المعزولة حسب تلوين غرام	100
2	يبيّن النسب المئوية للعزولات الجرثومية إيجابية الغرام حسب شيوعتها	101
3	يبيّن النسبة المئوية لانتشار الـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث	102
4	يبيّن معدلات توزع الـ MRSA حسب مصدر العينة	103
5	يبيّن معدلات توزع الـ MRSA بحسب شعب المستشفى	104
6	يبيّن مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة الانتشار القرصي في كامل المستشفى	105
7	يبيّن مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة كشف جين الـ mecA باستعمال الـ PCR	106
8	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جين الـ mecA عند عزولات الـ S.aureus (MSSA، MRSA) والانتشار القرصي	107
9	يبيّن نسب عزولات الـ S.aureus التي أظهرت توافق وعدم توافق مقارنة بين طريقتي الانتشار القرصي وكشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR	109
10	يبيّن معدلات انتشار جينات الـ PVL عند عزولات الـ S.aureus	110
11	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MSSA، MRSA) والانتشار القرصي	111
12	يبيّن مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MSSA، MRSA) وطريقة كشف جين الـ mecA بالـ PCR	112
13	يبيّن نسب تواجد الـ mecA والـ PVL معاً عند الـ S.aureus	113
14	يبيّن التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه الـ OXA والـ VAN والـ TEIC	114

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	الشكل	رقم الشكل
5	يبين المكورات العنقودية Staphylococci	1
8	يبين الـ S.aureus في العينات المرضية	2
8	يبين مستعمرات الـ S.aureus على وسط غراء الدم	3
13	يبين عوامل فوعة الـ S.aureus	4
17	يبين تطور مقاومة الـ S.aureus تجاه المضادات الحيوية	5
23	يبين الانتشار العالمي للـ MRSA وفقاً للبلد	6
23	يبين نسبة الـ MRSA وفقاً لتقرير EARSS عام 2008	7
30	يبين معدلات انتشار الـ HA-MRSA في بلدان شرق آسيا	8
35	يبين خراج يشبه عضة العنكبوت في عداوى الـ CA-MRSA	9
43	يبين الـ SCCmec عند الـ HA-MRSA والـ CA-MRSA	10
44	رسم تخطيطي يبين التنظيم الجيني لأنماط الـ SCCmec (V-I) ومغايراتها	11
55	رسم تخطيطي يبين مقارنة الـ SCCmec نمط XI للـ LGA251 مع عناصر الـ SCC الأخرى	12
57	يبين مكان ارتباط الـ VAN والـ TEIC إلى الـ D-alanyl-D-alanine	13
58	يبين أماكن عمل بعض المضادات الحيوية	14
63	يبين آلية مقاومة ذراري الـ VISA	15
64	يبين آلية مقاومة ذراري الـ VRSA تجاه الـ Glycopeptides (الـ VAN، الـ TEIC)	16
65	يظهر عنقود جين الـ vanA	17
70	يبين جراثيم المكورات العنقودية بتلوين غرام	18
71	يبين تلوين غرام للـ S.aureus من عينة دم بأشكال مختلفة (مزدوج، رباعي، عناقيد العنب)	19
72	يبين تغير اللون على وسط أغار Chapmann	20
72	يبين نمو الـ S.aureus على أغار ملح المانيتول الذي يميزها من المكورات	21

	إيجابية الغرام إيجابية الـ Catalase الأخرى كالـ S.epidermidis	
22	يبين مقارنة بين العنقودية الذهبية (a) والبشرية (b) من ناحية لون المستعمرة	73
23	يبين مستعمرات فنية لجراثيم الـ S.aureus	74
24	يبين انحلال الدم الناتج عن مستعمرات الـ S.aureus على غراء الدم	74
25	يبين اختبار الـ Coagulase بواسطة الشريحة والأنبوب	75
26	يبين تحول لون الوسط من الأخضر إلى الأصفر وتدرجاته	75
27	يبين الأقراص التي استخدمت في التحسس الجرثومي اليدوي للـ S.aureus	77
28	يبين كيفية زرع جراثيم الـ S.aureus على أوساط الزرع الصلبة	78
29	يبين منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول أقراص التحسس الجرثومي	79
30	يبين كيفية قياس قطر منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول أقراص التحسس الجرثومي	80
31	يبين جهاز الـ PCR في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية	81
32	يبين بعض الأدوات التي استعملت في مختبر البحوث الوراثية (مصاصات، رؤوس، أنابيب PCR،....الخ)	82
33	يبين المواد التي تحتويها عتيدة الـ Wizard® Genomic DNA Purification	84
34	يبين المواد التي تحتويها عتيدة الـ GenoTypeMRSA (12، 96 عينة)	86
35	يبين المواد المحتواة في كلا عتيدتي استخلاص وكشف الـ DNA	87
36	يبين مراحل تنقية وتضخيم الـ DNA وكشف الجينات في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية	89
37	يبين عمل جهاز الـ PCR أثناء تضخم الـ DNA الـ S.aureus	93
38	يبين مراحل عملية التهجين وإظهار النتائج	96
39	يبين مناطق التفاعل على شريط الكشف	97
40	يبين شريط وورقة تقييم وتفسير النتائج	98

قائمة المختصرات

AGAR	The Australian Group on Antimicrobial Resistance
BRSA	Borderline-Resistant <i>S.aureus</i>
CA-MRSA	Community associated- MRSA
CC	Clonal Complexes
ccr	cassette chromosome recombinases
CDC	The Centers for Disease Control and Prevention
Clf	Clumping factor
CO-MRSA	Community Onset- MRSA
CoNS	Coagulase Negative Staphylococcus
CSF	Cerebrospinal fluid
DNA	Deoxyribonucleic acid
EARS-Net	European Antimicrobial Resistance Surveillance Network
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance system
EMRSA	Epidemic MRSA
ET	Exfoliative toxin
FnBP	Fibronectin-binding protein
GISA	Glycopeptide intermediate <i>S.aureus</i>
HA-MRSA	Hospital associated-MRSA
hGISA	Heterogeneous Glycopeptide intermediate <i>S.aureus</i>
HLA	Human Leucocyte Antigens
HO-MRSA	Hospital Onset- MRSA
hTISA	Heterogeneous Teicoplanin intermediate <i>S.aureus</i>
hVISA	Heterogeneous Vancomycin Intermediate <i>S.aureus</i>
I&D	Incision and Drainage
ICUs	Intensive care units
ID-MRSA	Inducible Dormant- MRSA
LA-MRSA	Livestock-associated MRSA
MLST	Multilocus Sequence Typing
MRSA	Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus
MSSA	Methicillin-sensitive Staphylococcus aureus
NNIS	The National Nosocomial infection Surveillance system
ORSA	Oxacillin-Resistant Staphylococcus Aureus
OXA	oxacillin
PAHO	Pan American Health Organization
PBP	Penicillin Binding Protein
PCR	Polymerase Chain Reaction
PFGE	Pulsed- Field Gel Electrophoresis

PMNLs	Polymorphonuclear Leukocytes
PVL	Panton-Valentine Leukocidin
S.aureus	Staphylococcus aureus
S.epidermidis	Staphylococcus epidermidis
S.saprophyticus	Staphylococcus saprophyticus
SCCmec	Staphylococcus Cassette Chromosome mec
SEs	Staphylococcus Enterotoxins
SIRS	Systemic Inflammatory Response Syndrome
Spa-typing	S.aureus protein A sequence typing
SSS	Scalded Skin Syndrome
SSTIs	Skin and Soft tissue Infections
Staph	Staphylococcus
TEIC	teicoplanin
TISA	Teicoplanin - Intermediate S.aureus
TNF- α	Tumor Necrosis Factor – α
TSS	Toxic Shock Syndrome
TSST-1	Toxic shock syndrome toxin-1
VAN	vancomycin
VISA	Vancomycin- Intermediate S.aureus
VRE	Vancomycin- Resistant Enterococci
VRSA	Vancomycin -Resistant S.aureus

الملخص

أصبحت الـ MRSA مشكلة متنامية في المستشفيات والمجتمعات حول العالم، ولذلك يُعدّ ترصد النمط الجيني لها حاسماً في السيطرة على العدوى المحدثه بها، وقد كان الهدف من هذه الدراسة هو كشف مدى انتشار الـ MRSA ومقاومتها تجاه الـ Glycopeptides (الـ vancomycin، الـ teicoplanin) في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق، حيث تم عزل وتمييز 100 عينة من الـ S.aureus في مختبر المستشفى بعد جمعها من مصادر مختلفة من الأطفال المرضى بأعمار من يوم إلى 13 سنة بين آب 2011 وأذار 2014، وأجري اختبار الزرع والتحسس الجرثومي تجاه المضادات الحيوية بطريقة الانتشار القرصي، كما تم تمييز جينات *mecA* و *PVL* بالـ PCR. أظهرت دراستنا انتشاراً للـ MRSA في المستشفى بنسبة 28% من مجموع الـ S.aureus، حيث احتلت الشعبة الإنتانية المرتبة الأولى 36%، كما احتلت الـ MRSA في عينات القيح المرتبة الأولى بمعدل 39%، وكانت معدلات انتشارها عند الذكور (57%) أعلى من الإناث (43%)، وأن 22 عزولة (79%) من الـ S.aureus التي كانت مقاومة تجاه الـ OXA بطريقة الانتشار القرصي امتلكت جين الـ *mecA* بالـ PCR، بينما 6 (21%) كانت سالبة جين الـ *mecA*، وأن نسبة وجود جينات *PVL* عند الـ MSSA كانت (17%)، بينما عند الـ MRSA كانت (29%)، وقد كانت جميع عزولات الـ MRSA حساسة تجاه الـ TEIC، بينما عزلة واحدة (1%) فقط أظهرت مقاومة تجاه الـ VAN. تُظهر الدراسة أن هناك زيادة في انتشار الـ MRSA في المستشفى، كما بدأ ظهور ذراري ناقصة الحساسية وأخرى مقاومة تجاه الـ VAN، وأن كشف المقاومة تجاه الـ OXA عند الـ S.aureus بطريقة الانتشار القرصي يمكن أن تعطي نتائج حساسية ومقاومة كاذبة يمكن تجنبها بمشاركتها مع طريقة الـ PCR، وبالتالي فإن ترصداً منتظماً للعدوى المكتسبة في المستشفى، ومراقبة نماذج الحساسية تجاه المضادات الحيوية، والاستعمال المتعلق للمضادات الحيوية، إضافة إلى اتباع الإجراءات الوقائية كلها ضرورية لإنقاص انتشار الـ MRSA، كما أن هناك حاجة لإجراء دراسات دورية من أجل المراقبة المستمرة لنفسيها في المستشفى.

الكلمات المفتاحية: MRSA، ORSA، OXA، *mecA*، *PVL*، VAN

مقدمة

أدى إدخال المضادات الحيوية في معالجة العدوى الجرثومية منذ أكثر من 60 عاماً إلى إنقاص حاسم لمعدلات المراضة والوفيات، ومع ذلك، فإن السيطرة الكاملة على العوامل الممرضة لم تُحقق أبداً، وأصبح من الواضح أن تلك الجراثيم وبشكل سريع تتمكن من البقاء باكتساب المقاومة تجاه المضادات الحيوية المتوفرة، مما يهدد حياة المجتمع بذراري مقاومة تكون أصعب معالجة وأكثر تكلفةً وبالتالي ارتفاع معدلات المراضة والوفيات، لا سيما في البلدان النامية ذات الإمكانيات المحدودة، حيث تكون معدلات المقاومة والوفيات أعلى من معدلات المقاومة والوفيات في البلدان المتطورة ذات الإمكانيات الكبيرة.^[1،2]

تُعد الكائنات الحية إيجابية الغرام من أكثر الأسباب شيوعاً للعدوى الجرثومية عند الرضع والأطفال واليافعين وهي تشكل 80% من العدوى الجرثومية المكتسبة في المجتمع وأكثر من 60% من تلك المكتسبة في المستشفيات، ومن المؤسف أنها لم تتغير طيلة العقدين الماضيين.

كان معدل الوفيات في عصر ما قبل المضادات الحيوية بعدوى المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* (80-90%)، ونظراً لإدخال المضادات الحيوية إلى المعالجة الكيميائية المضادة للعنقوديات نقصت معدلات المراضة والوفيات، لكن بالمقابل أبدت هذه الكائنات الحية مقاومة تجاه العوامل المختلفة، وأصبحت الـ *S.aureus* المقاومة تجاه الـ methicillin (MRSA) الآن منتشرة بشكل واسع حول العالم، إضافةً إلى بدء ظهور الذراري ناقصة الحساسية تجاه الـ vancomycin (VAN) والـ teicoplanin (TEIC) في بعض البلدان، بل أكثر من ذلك بدأ ظهور وانتشار المقاومة تجاه المركبات البديلة للـ VAN كالـ linezolid والـ daptomycin بين عزولات الـ MRSA السريرية.^[3]

تُعد الـ MRSA في الوقت الحاضر العامل الممرض المقاوم تجاه العديد من المضادات الحيوية الأكثر شيوعاً واستعمالاً في أجزاء كثيرة من العالم متضمنة أوروبا، الأمريكتين، شمال أفريقيا، الشرق الأوسط وشرق آسيا، حيث تسببت على مدى ثلاثة عقود بمشاكل كبيرة في المستشفيات، كما أخذت بالانتشار في المجتمع أيضاً.^[4]

تُشكل العدوى المحدثة بالـ MRSA عبئاً اقتصادياً على المجتمع نتيجة تكاليف التشخيص والمعالجة المرتفعة والحاجة إلى استشفاء طويل الأمد مقارنةً مع العدوى المحدثة بذراري الـ Methicillin-Sensitive *S.aureus* (MSSA).

لا تُعد الـ MRSA المسبب الرئيس للعدوى المرتبطة بمؤسسات الرعاية الصحية (HA-MRSA) أوتلك المكتسبة في المجتمع (CA-MRSA) فقط بل أصبحت معالجة العدوى المحدثة بها المشكوك فيها أكثر صعوبةً وتعقيداً وتكلفةً، وبالتالي فإن الجهود لإنقاذ انتقال هذا الكائن الحي أصبحت الآن من القضايا الوطنية والعالمية.^[5]

كانت المعالجة المختارة والموصى بها في السنوات الأخيرة لعدوى الـ MRSA متعددة المقاومة هي المضادات الحيوية من مجموعة الـ Glycopeptides لاسيما الـ VAN ونظراً لتزايد استعمال هذه العوامل في المعالجة، فقد بدأت الـ MRSA تظهر مقاومةً تجاهها، فأصبح تفشي وانتشار ذراري الـ MRSA يُشكل قلقاً وتحدياً خطيراً يواجه مقدمي الرعاية الصحية في سياق معالجة العدوى المسببة بها، لذلك فإن التمييز بين الـ MRSA الحساسة والمقاومة تجاه الـ Glycopeptides يمنع من زيادة الاستهلاك العشوائي لهذا النوع من المضادات الحيوية، وبالتالي إنخفاض معدلات المراضة والوفيات.^[5]

تُعد إجراءات السيطرة على عدوى المستشفيات قضيةً معقدةً، وتحتاج إلى طرائق إستراتيجية شاملة، لذلك تعتبر تقنيات الكشف الدقيقة والسريعة هامة وأساسية لأجل المعالجة الصحيحة والتنفيذ الناجح لإجراءات المراقبة لهذه العدوى، كما أنها تنقّص من فترة الاستشفاء وتكاليف الرعاية الصحية.^[6]

يمكن أن تُقدم أولوية تنفيذ ترصد محلي للـ MRSA واختبار تحسسها تجاه المضادات الحيوية النصائح لأجل تأسيس سياسات سيطرة تعتمد بدرجة كبيرة على مثل هذه الإحصائيات المحلية، كما أنها يمكن أن تُقدم أيضاً نصائح حول سياسات استعمال المضادات الحيوية في المستشفيات وغيرها من أماكن الرعاية الصحية، إضافةً إلى دعمها لاستراتيجيات الوقاية، وبالرغم أنه من المستحيل منع جميع عدوى المستشفيات لكن يمكن العمل بشكل أفضل لإنقاذ هذه العدوى إلى حدود دنيا.^[5]

إن انتشار الـ S.aureus لا سيما الـ MRSA المسببة للعديد من العدوى المكتسبة في المستشفيات والمجتمع في كثير من بلدان العالم، جعلنا نَفكر بأن سوريا لن تكون بمنأى عن انتشار مثل هذه العوامل الممرضة أيضاً، والتي من المحتمل أن تملك نماذج مختلفة من المقاومة يمكن أن تكون مماثلة لتلك في بلدان أخرى من العالم، حيث يمكن لهذه العوامل الممرضة أن تنتشر من بلد لآخر نتيجة للسفر أو للتنقل من منطقة إلى أخرى ضمن البلد نفسه، ونظراً لأن معظم بلدان العالم تعتمد في وضع سياسات المعالجة الناجحة بالمضادات الحيوية وإجراءات الوقاية المناسبة على

دراسة انتشار الـ MRSA ودراسة نماذج تحسّسها تجاه المضادات الحيوية، وبسبب أن جميع الدراسات السابقة في سوريا أتمدت فقط على الطرائق التقليدية للكشف عن الـ MRSA ومقاومتها تجاه الـ Glycopeptides، ولم تستخدم أبداً الطرائق الجزيئية، وجدنا من المناسب استعمال الطرائق الجزيئية إضافة إلى الطرائق التقليدية لدراسة انتشار الـ MRSA ومقاومتها تجاه الـ Glycopeptides محلياً في مستشفى الأطفال الذي يمثل القطر كله تقريباً كون المرضى المراجعين والمقبولين فيه من محافظات القطر جميعها.

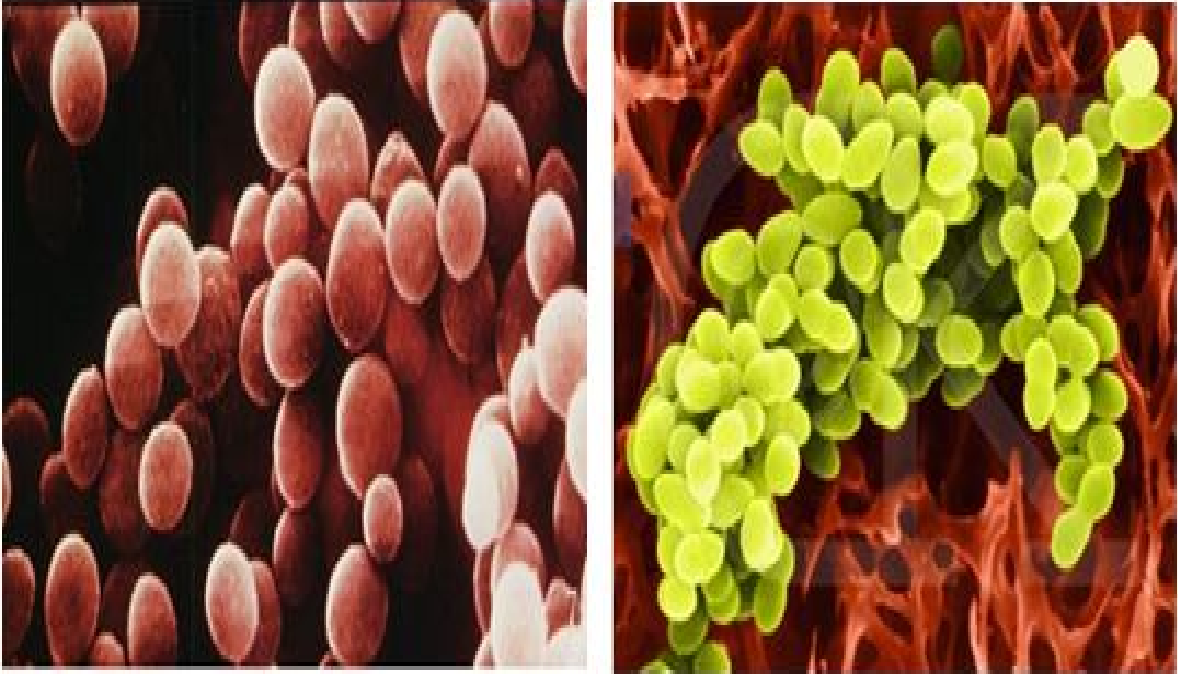
القسم النظري

المكورات العنقودية Staphylococci

المكورات العنقودية *Staphylococcus* (Staph)، هي جراثيم إيجابية الغرام واسعة الانتشار في الطبيعة (ماء، هواء، تربة) وتمثل جزءاً من النبيت الجرثومي الطبيعي على السطوح الجلدية والمخاطية (جلد، أنف) عند البشر الأصحاء والحيوانات [7-10]، وهي عادة غير مؤذية، لكنها في بعض الأحيان يمكن أن تسبب عدوى إذا دخلت إلى الجسم من خلال قطع أو سحجة في الجلد، حيث تعتبر واحدة من أكثر الأسباب شيوعاً لعدوى الجلد والنسج الرخوة في الولايات المتحدة الأمريكية USA.

تكون معظم عدوى الـ Staph بسيطة كالبثور والدمامل (يمكن أن تعالج بدون مضادات حيوية)، لكن بعض العدوى يمكن أن تكون خطيرة كعدوى الشقوق الجراحية والالتهاب الرئوي وإنتان الدم (تتطلب الاستشفاء والمعالجة باستعمال المضادات الحيوية). [8-10]

تبدو الـ Staph مجهرياً على شكل مكورات إيجابية الغرام، تتلون بشدة، خلاياها مدورة، قطرها حوالي 1 - 1.3 ميكرومتر، تتظاهر بشكل تجمعات تشبه عناقيد العنب مما يشير إلى قدرتها على الانقسام في أكثر من مستوى. [11-14]



شكل 1. يبين المكورات العنقودية Staphylococci

تُعد الـ Staph كائنات حية اختيارية (هوائية لا هوائية)، غير متحركة، غير مبذرة (لا تكون أبواغ)، نشيطة استقلابياً، إيجابية الـ manitol، وتخمر الكربوهيدرات، تؤدي عندما تنمو على أطباق غراء الدم إلى النموذجين α و β من انحلال الدم، كما أن بعض أنواعها يمكن أن تخثر البلازما، وتشكل أصبغة مميزة (تتراوح من الأبيض إلى الأصفر الذهبي).^[12، 15، 16]

تُنتج الـ Staph الكثير من الإنزيمات (Staphylokinase، Coagulase، Catalase، β -Lactamase، Hyaluronidase، Proteinase، Lipase... الخ)، التي يمكن أن تكون وظيفتها الرئيسية هي تحويل النسيج الموضعية إلى مواد مغذية لنمو الجراثيم، كما أنها تُنتج أنواعاً مختلفة من الالتهابات المسؤولة عن الكثير من الأعراض السريرية للعدوى المحدث بها، وتكون بعض ذراتها محافظ.^[14، 16، 17]

يحتوي جدار الـ Staph على الببتيدوغليكان peptidoglycan وحمض الـ teichoic^[14]، وهي إيجابية الـ Catalase مما يجعل اختبار الـ Catalase مفيداً لتمييزها من المكورات المعوية والعقدية، كما أن نسبة مئوية قليلة من الـ S.aureus يمكن تفريقها من معظم الـ Staph الأخرى باختبار الـ Coagulase.^[14، 16]

تتطلب الـ Staph لنموها حموضاً أمينية، إضافة إلى العديد من عوامل النمو الأخرى، وتزرع بشكل روتيني على أوساط إغناء محتوية المرق و/أو الدم.

يمكن أن تبقى الـ Staph لفترات طويلة على الأدوات الملوثة لأنها تقاوم الحرارة (حتى 50°م) والتراكيز الملحية العالية (حتى 15% من NaCl) والجفاف، لذلك يمكن أن تشكل هذه الأدوات المعدية فيما بعد مصدراً للعدوى بها، كما يمكن أن تبقى في مياه الأنهار والبحار وحمامات السباحة تحت ظروف المختبر.^[14، 18-20]

تتجاوز نسبة الوفيات بعدوى الـ Staph سنوياً الوفيات بالإيدز، فهي لا تزال واحدة من خمسة أسباب أكثر شيوعاً للعدوى المستشفوية، والتي تحدث غالباً بعد عدوى الجروح التالية للجراحة، حيث ذكرت بعض المصادر أن 500,000 مريض في المستشفيات الأميركية يكونون على صلة بعدوى الـ Staph، وأن أكثر من 90,000 أميركي يكون لديهم عدوى مميتة محدثة بالـ Staph المقاومة تجاه الأدوية سنوياً.^[8، 16]

يضم جنس الـ Staph أكثر من 30 نوعاً منها 3 أنواع هامة سريرياً (مسؤولة عن العدوى عند البشر)^[7، 16، 18]، كما هو موضح في الجدول التالي:

النوع	الخصائص
العنقوديات الذهبية S.aureus	إيجابية الـ coagulase، مستعمرات صفراء ذهبية، تسبب عدوى قيحية نتيجة للغزو (دمامل)، عدوى ناجمة عن الذيفانات (تسمم غذائي)
العنقوديات اليشروية S.epidermidis	سلبية الـ coagulase، شائعة كفلورا طبيعية على الجلد والأغشية المخاطية، انتهازية، تسبب عدوى الأجسام الأجنبية (قثاطر)
العنقوديات الرمامة S.saprophyticus	سلبية الـ coagulase، عدوى بولية تناسلية عند النساء في سن النشاط الجنسي (10-20%)، أحياناً التهاب إحليل غير نوعي عند الرجال

جدول 1. يبين أنواع المكورات العنقودية الهامة سريريا

اعتبرت بعض أنواع الـ Staph سلبية الـ coagulase (CoNS) هامة تقنياً في عمليات تصنيع المنتجات المتنوعة المشتقة من اللحم، وخاصةً السجق المخمرة الجافة، حيث تُستعمل كمُبدئات لضمان الجودة والأمان للمنتج النهائي.^[7]

المكورات العنقودية الذهبية S.aureus

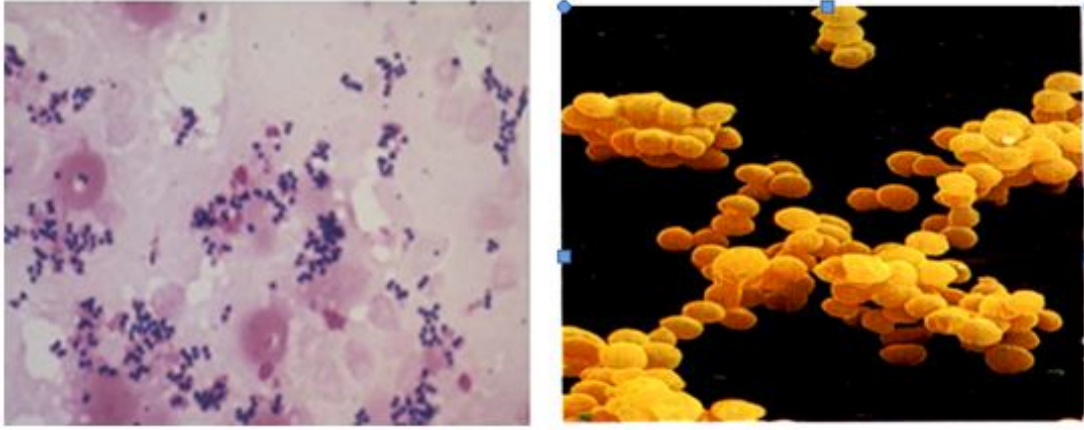
تُترجم الـ S.aureus بأنها توت العنب الذهبي العنقودي وتُعرف أيضاً بـ golden staph، وهي من أكثر أنواع الـ Staph المسببة للعدوى المكتسبة في المستشفى والمجتمع، إذ تملك العديد من استراتيجيات المراوغة المناعية المشتركة تجاه كل من المضيف والجراثيم الأخرى كصبغ الـ staphyloxanthin.^[16، 23-21]

وُصفت الـ S.aureus لأول مرة في الثمانينات من قبل Ogston في Edinburgh، حيث وجد أنها السبب الأكثر شيوعاً لعدوى الشقوق الجراحية.^[16، 24]

يمكن أن تبقى الـ S.aureus حتى 42 يوماً في الجثث والأعضاء و60 يوماً في منتجات اللحم، كما يمكن أن تبقى عيوشة لمدة 46 ساعة في الزجاج و17 ساعة في ضوء الشمس وأقل من 7 أيام على الأرضيات، إضافة إلى ذلك تكون ذيفاناتها المعوية ثابتة بدرجة حرارة الغليان.^[25]

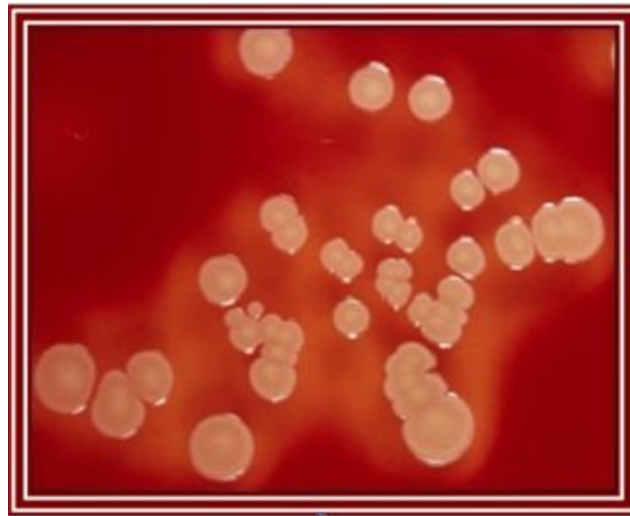
تتوالد الـ S.aureus لا جنسياً حيث تبدأ العملية بتوليد الـ DNA الخاص بها، ثم يتمدد الغشاء ويفصل جزيئات الـ DNA وبعد ذلك تُشكل الخلايا جوفاً مفرغاً، ينقسم في النهاية إلى خليتين جديدتين، لا ينفصل جدار الخلية الجديدة بشكل كامل عن جدار الخلية الحالية وهذا يفسر لماذا تشاهد الخلايا على شكل عناقيد، وهذه الخلية في النهاية سوف تتوالد وسوف ترتبط الخلايا بها.^[16]

تُعدّ الـ *S.aureus* المنتجة للـ Coagulase (يُحدث تشكيل الخثرة) أكثر شيوعاً من أنواع الـ Staph الأخرى، وهي جراثيم مكورة إيجابية الغرام واسعة الانتشار في العالم، سلبية الـ oxidase، غير متحركة، اختيارية، يمكن أن توجد مفردة أو في أزواج أو في سلاسل قصيرة أو غالباً في شكل عناقيد غير منتظمة تشبه عناقيد العنب، ويمكن تمييزها عن الـ *S.epidermidis* بإنتاج إنزيم الـ Coagulase والـ thermonuclease. يمكن أن تنتقل الـ *S.aureus* بسرعة من نوع حيواني إلى آخر، أو من البشر إلى الحيوانات أو العكس. [15، 16، 25]



شكل 2. يبين الـ *S.aureus* في العينات المرضية

تظهر الـ *S.aureus* على غراء الدم بشكل مستعمرات شفافة مرتفعة مكتملة الحواف ملساء ومتألئة، بلون يتراوح من الرمادي إلى الأصفر الذهبي الغامق، تُحدث درجات مختلفة من انحلال الدم، وتُعد العامل الممرض الرئيس عند البشر. [12، 25، 26]



شكل 3. يبين مستعمرات الـ *S.aureus* على وسط غراء الدم

يمكن أن تميز عزولات الـ *S.aureus* بالعديد من الاختبارات (إنتاج البروتين A، عامل التلازن الرابط للخلية، الـ coagulase خارج الخلية، الـ nuclease الثابت بالحرارة)، إضافة إلى الطرائق الجزيئية التي طُورت مؤخراً كتتميط الـ 16S rRNA، وتُعرف الآفة النسيجية المميزة للـ *S.aureus* بالداء العنقودي (وجود مواد الـ Splendore-Hoepppli تحيط بكتلة كثيفة من المكورات ضمن الخراج). [11، 15]

تُشكل الـ *S.aureus* جزءاً من الفلورا الطبيعية البشرية (20-30%) الموجودة في المنخرين الأماميين وفي المناطق الإبطية والأربية والعجانية، فهي تُحمل بشكل شائع على الجلد وفي الأنف والحلق والإبط والمغبن عند الأشخاص الأصحاء، كما يمكن أن تكون محمولة في المهبل والمستقيم، ولا تُسبب المرض أو العدوى دائماً، لذلك لا تتطلب المعالجة دائماً. [14، 16، 27]

وجد Wenzel و Perl أن معدلات حمل الـ *S.aureus* بين البالغين الأصحاء هي 11-32% عند عموم السكان و 25% عند موظفي المستشفيات باستعمال الـ (PFGE) Pulse-Field Gel Electrophoresis. [14]

وصف Eiff وزملاؤه ثلاثة نماذج من البشر الحاملة للـ *S.aureus* هي:

- الحاملة الدائمون للذرية 20-30% (أكثر شيوعاً عند الأطفال منه عند البالغين)
- الحاملة المتقطعون لذراري متغيرة 30%
- غير الحاملين أبداً للـ *S.aureus* 50% [14، 28، 29]

يُشكل المنخران الأماميان عُشاً بيئياً معروفاً للـ *S.aureus*، حيث أظهرت عدة دراسات أن ثلث السكان 25 - 30% تقريباً (25-50% في بعض الدراسات) يكونون مستعمرين بالـ *S.aureus*، منهم 0.2-7% (1-12% في بعض الدراسات) مستعمرين بالـ MRSA، وهذا الاستعمار الأنفي يمكن أن يخدم كمستودع للنقل، كما يمكن أن يكون خطراً لعدوى لاحقة أيضاً [26، 30-32]، وقد تبين أن بين 30-60% من المرضى المستعمرين بالـ MRSA يُطَوِّرون بالنهاية عدوى بها، ففي 80% على الأقل من حالات تجرثم الدم بالـ *S.aureus* عند الأشخاص المستعمرين تكون الذرية المعدية مماثلة للذرية المستعمرة للأنف المكتشفة بشكل سابق لبدء تجرثم الدم. [28، 33]

يُمكن أن يُقسّم حملة الأنف إلى حملة دائمين مع خطورة عالية 20%، حملة متقطعين 60% وغير حملة مع خطورة منخفضة 20%. [9، 34، 35]

تختلف معدلات الحمل الأنفي للـ *S.aureus* بين الأعراق، وباختلاف مستضدات التوافق النسيجية (HLA)، ويُعد الاستشفاء طويل الأمد واستعمال المضادات الحيوية من عوامل الخطر لاكتسابها مقاومةً تجاه المضادات الحيوية في المنخرين الأماميين.^[36]

أظهرت عدة دراسات أن الحمل الأنفي يُمكن أن يكون مرتفعاً عند موظفي المستشفيات والمرضى المستشفين، كما ذكرت دراسات مختلفة في إيران وجود تباين في الحمل الأنفي للـ *S.aureus* بين عمال المستشفيات (28.2% و 44.5%).^[36, 37]

تُبدى الـ *S.aureus* الكثير من عوامل الفوعة الإراضية (ميزات جينية وكيميائية حيوية وبنائية تجعل الكائن الحي قادراً على إحداث المرض)^[12, 18, 25] نذكر منها مايلي:

1. عوامل فوعة جدار الخلية وتضم:

أ. البروتين A، هو المكون الرئيس لجدار الخلية، يُثبت إلى جسر الـ pentaglycine في الببتيدوغليكان عن طريق الـ sortase A، وهو البروتين الرابط للـ IgG حيث يرتبط إلى الجزء Fc من الـ IgG ويمارس تأثير الطاهية (مضاد بلعمة قوي)^[12, 18, 38]

ب. الـ Fibronectin-binding protein (FnBP)، يظهر بشكل ذواب في سوائل الجسم وليف في النسيج خارج الخلوي، وهو بروتين سكري مثوي dimer، يخدم كركيزة لالتصاق الخلايا الحيوانية، ويُعد الارتباط إلى الـ Fibronectin خاصية شائعة جداً عند عزولات الـ *S.aureus* وتكون بواسطة بروتينين رابطين للـ Fibronectin هما الـ FnBPA والـ FnBPB^[12, 18]

ج. عامل التلازن خارج الخلوي (Clf) Clumping factor، هو البروتين الرابط للـ fibrinogen، ويضم عاملي تلازن خارج خلوي هما الـ ClfA، والـ ClfB^[12, 18]

2. الـ Toxins، تملك الـ *S.aureus* قدرة على إفراز ذيفانات تترافق بأمراض نوعية وتضم:

A. ذيفانات خارجية حالة للخلية cytolytic exotoxins، تهاجم الخلايا والأغشية ويُعزى إليها انحلال الدم وتشمل:

أ. الذيفان α ، يفرز من قبل 85% من عزولات الـ *S.aureus* السريرية إلى البيئة خارج الخلوية، وهو يُولد ثقب صغير في الخلايا المَنواة غير نفوذه للـ Ca^{2+} لكنها تسمح فقط بتدفق الكاتيونات أحادية التكافؤ والجزيئات الصغيرة الأخرى، كما أنه يهاجم الصفائح مؤدياً إلى إفراز محتواها الحبيبي (العامل الصفحي 4، العامل V) مما يؤدي إلى تفعيلها وتحفيز التخثر، وبالتالي حدوث فقدان سريع وانتقائي للصفائح، ويمكن أن يُعزى تأثيره المميت السريع إلى تزامن خلل وظيفي قلبي ووذمة رئوية حادة، وهكذا قد يكون إطلاق الذيفان α جهازياً أوحى موضعياً في الرئة سبباً رئيساً للوفيات بعداوى شديدة بالـ *S.aureus*

ب. الذيفان β ، هو الـ Sphingomyelinase المعتمد على الـ Mg^{2+} ، ويُنتج من قبل غالبية عزولات الـ *S.aureus* البقريّة ونادراً من العزولات البشرية، ويملك بشكل أكثر غرابة فعالية قوية وانتقائية سامّة تجاه وحيدات النوى البشرية، بينما لا يملك فعالية سامّة تجاه المحببات والأرومات الليفية والخلايا اللمفاوية

ج. ذيفان Pantone-Valentine Leukocidin (PVL)، هو بروتين الـ *S.aureus* ثنائي التكوين مشكل للثقب، يتكون من سلسلتين عديديتي الببتيد تُسميان S و F (LukS-PV، LukF-PV)، يعمل على تحطيم غشاء الكريات البيضاء، وينبه أيضاً تدفق المزيد من الكريات البيضاء المفصصة النوى العدلة (PMNLs) بإطلاق عوامل الجذب الكيميائي والتي تسبب توسعاً وعائياً، كما يمكن أن يساهم بتتخر النسيج، وقد وجد أن هناك علاقة وثيقة بين تعبير الـ Luk-PV وعداوى الجلد الشديدة (الدمامل، الخراجات)، بينما الذراري ذات العداوى الجلدية الأقل شدة نادراً ما تبدي الـ Luk-PV [12، 16، 18]

د. الذيفان γ ، يبدي موضع الذيفان γ ثلاثة من عديدات الببتيد، يرتبط اثنان منها (HlgA، HlgC) إلى الـ LukS-PV، بينما يشابه الثالث (الـ HlgB) الـ LukF-PV

هـ. الذيفان δ ، هو ببتيّد حال لأغشية أنواع من الخلايا كالكريات الحمراء وخلايا زرع النسيج، كما يمكن أن يحرض تفعيل الـ phospholipaseA2 وتصنيع البروستاغلاندينات والوسائط الشحمية في مختلف أنواع الخلايا، ولا يوجد دليل وبائي لترافق الذيفان δ مع أي مرض مسبب بالـ *S.aureus*، ومع ذلك يُقترح أنه يمكن أن يكون مسؤولاً عن التهاب

معوي قولوني ناخر وليدي مترافق بفرط نمو الـ S.epidermidis في أمعاء الرضع^[12]
[16]

B. ذيفانات خارجية للمستضد الفوقي superantigen exotoxins، هي عديدات ببتيد تنبيه استجابة الخلايا المناعية (الخلية اللمفاوية T)، وتؤدي إلى إطلاق كميات كبيرة من الـ cytotoxines إلى الدوران [Interleukin-2(IL-2)، Interferon(IFN)، Tumor necrosis factor(TNF- α)] التي تفعل أجهزة فيزيولوجية عديدة كجهاز تنظيم الحرارة، وتسبب متلازمة الصدمة السمية (TSS)، كما تنتج أيضاً استجابة التهابية مفرطة تسمى الـ Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS) تتظاهر بـ (التهاب جلد تأتبي، التهاب مفاصل، متلازمة Kawasaki)، وتملك المستضدات الفوقية كمون تنبيه حتى 30% من جمهرة الخلية T^[12, 16, 18]، وتشمل:

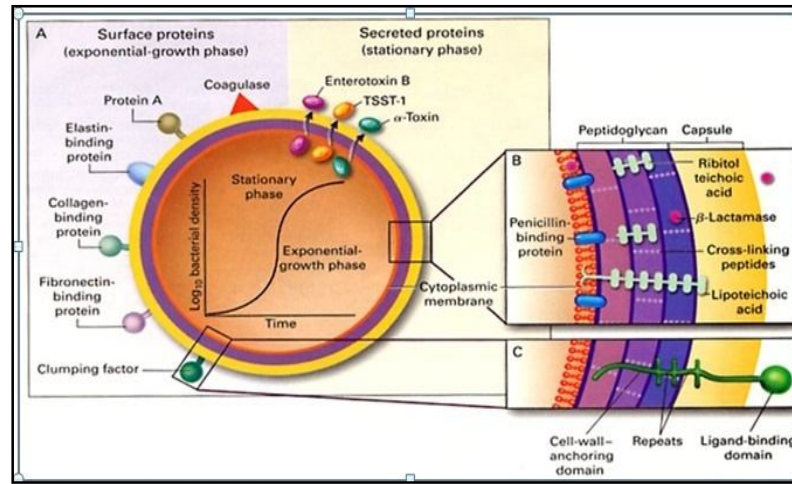
أ. الذيفانات المعوية Enterotoxins (SEs)، هي بروتينات ثابتة بالحرارة (تبقى عند 100°م مدة 30 دقيقة)، ومقاومة تجاه الـ pepsin، وتكون مسؤولة عن أعراض التسمم الغذائي عندما تبتلع مع الطعام الملوث بالعنقوديات المنتجة لها، كما يمكن أن تسبب أيضاً متلازمة الصدمة السمية إذا أُطلقت بشكل جهازري، وتحدث حمى، كبت مناعة، زيادة الحساسية تجاه الصدمة، وتضم الذيفانات المعوية المنتجة بالـ S.aureus خمس مجموعات مصلية مميزة سُميت من (SEA – SEE)، وهي مستضدات فوقية ترمز إما بالعائثة (SEA) أو الصبغي (SEB، SEC) أو البلازميد (SED)، ومؤخراً وصُفت ذيفانات معوية جديدة سُميت (SEG – SER و SEU)^[21, 25, 35, 39]

ب. الذيفان Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1)، المُسبب الكلاسيكي لمتلازمة الصدمة السمية TSS حيث تُعزى جميع حالات متلازمة الصدمة السمية التي تحدث خلال فترة الحيض إلى الـ S.aureus المنتجة للذيفان TSST-1، بينما في الفترة خارج الحيض فتعزى إليه فقط نصف الحالات، أما بقية الحالات فتعزى إلى الذيفان المعوي B وبشكل أقل إلى الذيفان المعوي C^[12, 16, 18]

ج. الـ Exfoliative toxin (ET)، ذيفان تقشري حال للبشرة، يُحدث متلازمة الجلد المسموط عند الأطفال (SSS) Scalded Skin Syndrome، ويحدث تقشر الجلد

بهذا الذيفان نتيجة امتلاكه فعالية الـ protease، وتتضمن شكلين مميزين مستضدياً ينتجان من قبل 3-5% من الـ S.aureus هما الـ ETA الذي حُدد بواسطة جين متوضع صبغياً، والـ ETB المرمز بالبلازميد [12، 16، 18]

3. دور الصباغ في الفوعة، تكون بعض ذراري الـ S.aureus قادرة على إنتاج الـ staphyloxanthin (صباغ شبيه الكاروتين)، يكون مسؤولاً عن اللون الذهبي المميز لمستعمرتها، كما يُعد بشكل أولي عامل فوعة كون تأثيره المضاد للأوكسدة يساعد الجرثومة على تجنب الجهاز المناعي للمضيف (نوع من الأوكسجين التفاعلي يستخدمه المضيف لقتل العوامل الممرضة)، وقد لوحظ أن الذراري المصطبغة في الجروح عند الفئران تُحدث خراجات مزمنة، بينما تلتئم الجروح الملوثة بالذراري غير المصطبغة بشكل سريع، وهذا يقترح بحسب عدد من الاختبارات أن الـ staphyloxanthin يمكن أن يكون المفتاح في قدرة الـ S.aureus على أن تبقى حية أمام هجمات الجهاز المناعي للمضيف، كما يمكن للأدوية المصممة لأجل تثبيط إنتاج الجراثيم لهذا الصباغ أن تضعفها وتجدد حساسيتها تجاه المضادات الحيوية [40]



شكل 4. يبين عوامل فوعة الـ S.aureus

يمكن أن تنتقل الـ S.aureus بين البشر بالطرق التالية:

- التماس المباشر بين المرضى وموظفي الرعاية الصحية أو أي تماس مع جلد شخص آخر
- التماس غير المباشر مع الأدوات الملوثة في البيئة المحيطة (المناظير، القناطر... الخ)
- الأدوات المشتركة (المناشف، الأغذية، الصابون، الملابس والأدوات الرياضية.... الخ)
- الهواء بطريق القطيرات الكبيرة

- يمكن أن تنتقل الـ S.aureus من الأم إلى رضيعها أثناء الولادة
 يكون دخول الـ S.aureus إلى العضوية إما عن طريق الجلد والنسج الرخوة (وخز إبرة،
 قطع جراحي) أو السبيل التنفسي^[25، 41]، كما يمكن لها أن تنتشر من أماكن سطحية بواسطة الدم إلى
 الأعضاء الداخلية حيث يمكن أن تظهر بيؤراً عداوى انتقالية.^[12، 16]
 يمكن أن تسبب الـ S.aureus أيضاً أمراضاً عند الحيوانات مشابهة لتلك عند البشر كالتهاب
 الثدي البقري مؤديةً إلى تلوث الحليب ومنتجات الألبان.^[27، 35]
 يمكن للـ S.aureus أن تسبب أنواعاً مختلفة من العداوى القححية عند الإنسان والتي تتضمن:

1. عداوى غزوية invasive تشمل:

- عداوى سطحية، تكون الـ Staph مسؤولة عن 70-90% من عداوى الجلد والنسج
 الرخوة، وتعد الخراجات السطحية الصغيرة من أكثر العداوى شيوعاً، إضافةً إلى
 التهاب جريبات الشعر أو الغدد الزهمية أو العرقية، الشعيرة (التهاب الأجفان)، الدمامل،
 البثور، الجمرات، القوباء، التهاب الهلل^[12، 18، 25]
 - عداوى عميقة، يمكن أن تكون منتقلة من العداوى السطحية أو من الجلد أو بعد
 الرض^[18] وتتناول:

- العظام والمفاصل، كالتهاب العظم والنقي، التهاب المفصل الإنتاني الحاد
 والمزمن، التهاب القرص بين الفقرات والتهاب بدائل المفصل
 (70-90%)^[27، 42، 43]
 - التهاب السحايا، يحدث نتيجة للمداخلات الجراحية العصبية وتجترم الدم
 أو الموضع المجاورة للسحايا بالـ Staph، ويترافق بمعدل وفيات تقدر
 بـ (27-36%)، كما تُعد الـ MRSA سبباً هاماً لعداوى الجهاز
 العصبي المركزي المكتسب في المستشفيات^[44]
 - التهاب اللفافة الناحر، نادر لكنه مهدد للحياة (25.3-73% معدل
 وفيات)، يتضمن النسج الرخوة العميقة، يُسبب بكائنات حية هوائية أولاً
 هوائية أغلبها عنقوديات^[45]
 - التهاب الشغاف الحاد، يحدث نتيجة لسوء استخدام أدوية وريدية
 أو إبر ملوثة بالـ S.aureus التي تستعمر الجلد حول موضع الحقن^[18]

- إنتان وتجترثم الدم، يترافق مع بؤرة معروفة (مفصل إنتاني) أو غير معروفة (بؤرة خافية)، ويُقدر معدل الوفيات بتجترثم الدم بالـ MRSA بين 23 و 54% [18، 25، 46]

- التهاب رئوي ناخر، يحدث نتيجة للعديد من العوامل المؤهبة لدى المريض كالتنبيب، التنفس الميكانيكي طويل الأمد، طول فترة الاستشفاء في وحدات الرعاية المشددة وبعد الجراحة أو بعد مرض تنفسي فيروسي، إضافةً إلى المعالجة السابقة بمضادات حيوية واسعة الطيف. يحدث 50% من حالات الالتهاب الرئوي المرتبط بالمنفسة بالـ S.aureus، ويترافق بمعدلات وفيات عالية (بين 40 و 50%) وتكون هذه المعدلات أعلى في الحالات الناتجة عن الـ MRSA (75%) [28، 29]

- عداوى شقوق العمليات الجراحية (المستشفيات) [47]

- التهاب المنصف، تُعد الـ Staph الكائنات الحية الرئيسة المسببة لالتهاب المنصف وتُشكل 54 – 79% من الحالات، ويحدث التهاب المنصف بالـ S.aureus نتيجة التلوث في الفترة المحيطة بالجراحة على الحيز المنصفي، ويمكن أن يرتبط التهاب المنصف بالـ MRSA بمعدلات عالية من المراضة والوفيات وفشل المعالجة [48]

- آفات تماثل الإكثيمة الغنغرينية Ecthyma-gangrenosum، مرض يُصيب الجلد والأغشية المخاطية ويحدث نتيجة عدوى المريض بالـ MRSA عندما يكون في وحدة الرعاية المشددة [49]

- التهاب الحويضة والكلية [42]

2. عداوى سمية (الذَوَاف) Toxinosis، إمرض يتسبب بتأثير الـ ذيفانات وبشكل متواتر عندما يكون الكائن الحي المفرز للذيفان غير قابل للكشف [18] وتتضمن:

- التهاب المعدة والأمعاء Gastroenteritis، يحدث نتيجة ابتلاع الأغذية الغنية بالبروتينات أو الكربوهيدرات أو المشروبات الملوثة بواحد أو أكثر من الـ ذيفانات المعوية SEs المنتجة بالـ S.aureus، وتشمل الأغذية المسؤولة بشكل متواتر عن التسممات

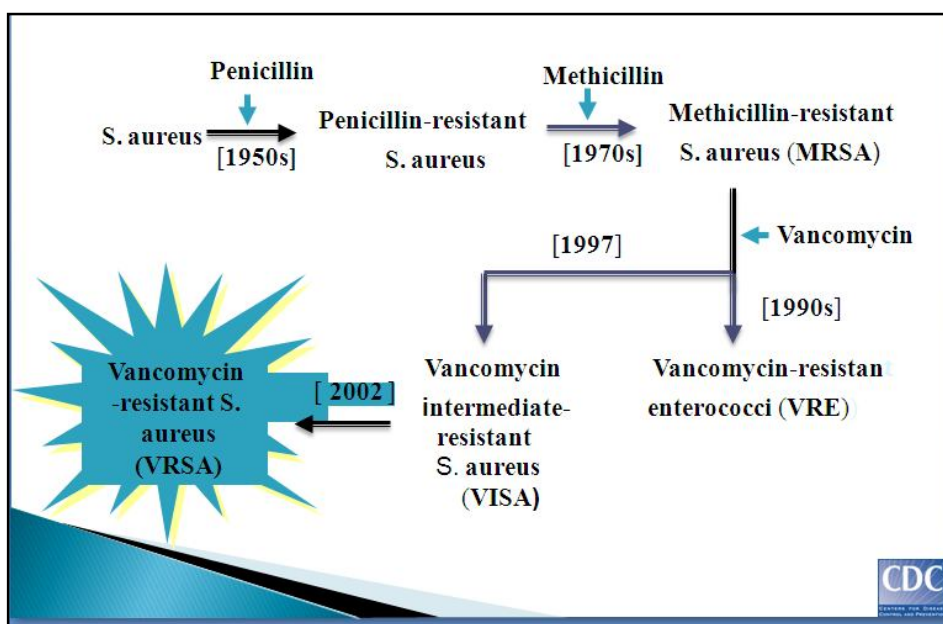
الغذائية بالـ *S.aureus* (اللحوم ومنتجاتها، منتجات البيض، سلطات البيض، السمك، البطاطا، الباستا، المعجنات، القشطة، كعك المحلبية، منتجات الألبان) نظراً لأن هذه المنتجات تتطلب عملاً يدوياً أثناء تحضيرها، وهي تُحفظ غالباً بدرجة حرارة الغرفة لبعض الوقت^[13، 35]، وتحدث التظاهرات السريرية (إقياء، غثيان، ألم بطني، إسهال، إنهاك) بعد 1-6 ساعات من تناول الطعام الملوث معتمدة على حساسية الفرد وجرعة الـ *S.aureus* المبتلعة^[35، 39]، وتختفي هذه التظاهرات بشكل عام خلال 24-48 ساعة، وتحدث الوفيات بشكل نادر لاسيما عند الفتى جداً أو المسن، وهذا يفترض أن كل شخص يمكن أن يكون حساساً لهذا التسمم الجرثومي لكن يمكن أن تختلف التظاهرات وشدة العدوى من فرد لآخر^[13، 35، 39]

- متلازمة الصدمة السمية Toxic shock syndrome (TSS)، ذكرت هذه المتلازمة لأول مرة في السبعينات بين النساء الحائضات، وارتبط ظهورها باستعمال تلك النساء لدكة مهبلية tampon (فوط عالية الامتصاص) مما أدى إلى استعمار المهبل لـ *S.aureus* بزراري S.aureus منتجة للـ TSST-1 الذي ينبه بالدك، وبالتالي دخوله إلى الدوران في غياب عدوى حقيقية، وعلى العكس من ذلك فقد قل حدوثها بشكل ملحوظ بعد سحب تلك الفوط من الاستعمال، وتنتشر الـ TSS ببداية مفاجئة لحرارة عالية، طفح قرمزي الشكل، توسف، إقياء، إسهال، هبوط ضغط، أذية أوقصور ثلاثة أو أكثر من الأجهزة التالية (الكبد، الكلية، الجهاز الهضمي، الجهاز العصبي، العضلات). لوحظ أن العدوى الجراحية بالـ *S.aureus* المنتجة للـ TSST-1 لا تثير استجابة قححية نتيجة لإطلاق العامل النخر للورم α (TNF α) من البلعميات، وبالتالي تثبيط هجرة الكريات البيض مفصصات النوى إلى مكان العدوى، إضافةً إلى أن كثيراً من الجراثيم المنتجة للـ TSST-1 لا تبدي الـ α ، وهذا كله يمكن أن يساهم في إنقاص الالتهاب في مكان العدوى^[12، 18، 25]

- متلازمة الجلد المسموط Scalded Skin Syndrome (SSS)، تتظاهر بفقااعات سطحية كبيرة (يمكن أن تكون معدية)، طفح بقعي حطاطي احمراري، وقد تحدث مناطق من انسلاخ الجلد نتيجة تأثير الـ *S.aureus* الذي يهاجم الالتصاق بين خلايا الطبقة الحبيبية البشرية مسبباً توسفاً واضحاً للظاهرة. تنتشر الـ *S.aureus* بشدة عند

مرضى التهاب الجلد التأتبي (مقاومتهم ضعيفة)، حيث تظهر في الأماكن الفعالة والخصبة (الإبطيين، الفروة)، فُتسبب البثور، مما يؤدي إلى متلازمة الجلد المسموط عند الأطفال والشكل الأكثر شدة (Ritter's disease) المشاهد عند الوليد، بينما تترافق بالتهنيط المناعي عند البالغين^[16، 18، 25]

تؤدي العدوى الجرثومية إلى الاستشفاء، إضافة إلى أنها يمكن أن تكون مكتسبة من بيئة المستشفى، وتتطلب جميع هذه العدوى معالجة عند المرضى المقيمين، لكن الغالبية العظمى من الحالات تعالج على أساس التجوال^[50]، وبالرغم من ذلك أصبحت معالجة العدوى المحدثه بهذه الجراثيم خلال الـ 50 سنة الماضية صعبة جداً نتيجة ازدياد مقاومتها تجاه المضادات الحيوية^[51]، حيث طور 90% من ذراري الـ S.aureus مقاومةً تجاه الـ penicillins اعتباراً من منتصف الأربعينات وبداية الخمسينات (عُزيت إلى إنتاج الـ β -Lactamase المرمزة بالبلازميد)، مما قاد إلى تطوير penicillins نصف صناعية مقاومة للـ β -lactamase كالـ (methicillin، oxacillin) عام 1959، ثم في عام 1961 مُيزت الذراري المقاومة تجاه الـ methicillin (MRSA) في المملكة المتحدة، لكنها لم تصبح شائعة حتى الثمانينات، مما أدى إلى تغيّر دورها كعوامل مختارة في معالجة معظم عدوى الـ Staph، بعد ذلك استعمل الـ VAN كملاذ أخير في معالجة الـ MRSA، لكن العنقودية الذهبية المقاومة تجاهه (VRSA) ذُكرت في أواخر التسعينات في المستشفيات حول العالم^[1، 27، 52، 53]، كما هو واضح في المخطط التالي:



شكل 5. يبين تطور مقاومة الـ S.aureus تجاه المضادات الحيوية

المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA)

يُستعمل كل من الـ MRSA، والـ ORSA كاختصار للعنقودية الذهبية المقاومة تجاه الـ methicillin والـ oxacillin على التوالي، ويمكن أن تُلفظ الـ MRSA غالباً بـ mer-sa (أميركا الشمالية) أو كـ 4 أحرف (M-R-S-A) وكلا الطريقتين صحيحة.^[41، 16]

تُعد الـ MRSA ذرية من ذراري الـ S.aureus، وتدعى أحياناً الجراثيم الشديدة المقاومة Superbug، لأنها لا تقاوم الـ methicillin فقط بل يكون لديها مقاومة تجاه بقية الـ β -Lactams، إضافةً إلى معظم المضادات الحيوية الأخرى الشائعة الاستعمال^[8، 25، 54]، وهي نمط ظاهري يتصف بإنتاج بروتين جدار خلوي غريب (PBP2a) مرمز بجين الـ mecA، وهي حساسة فقط تجاه الـ Glycopeptides (الـ VAN، الـ TEIC)، والتي تؤخذ بعين الاعتبار من العوامل الفعالة القليلة والأخيرة، وهناك حاجة لتطوير عوامل مضادة فعالة تجاهها بآليات عمل جديدة.^[55، 44، 6]

تبقى الـ MRSA في ظروف من الجفاف وعلى السطوح الجامدة حتى 20 يوماً، وهي تنتشر بشكل متزايد، حيث وجد أن 60% من الـ S.aureus المعزولة من وحدة الرعاية المشددة ICU كانت MRSA، ويمكن أن توجد عند حوالي 3% من السكان عموماً.^[57، 56، 19]

تبدو الـ MRSA تحت المجهر كأبي نوع آخر من أنواع الـ Staph لكنها تختلف بأنها مقاومة تجاه بعض المضادات الحيوية أثناء المعالجة.^[41]

يُعد المرضى المقيمون المصابون والمستعمرون مستودعاً هاماً ومصدراً لانتشار الـ MRSA في مؤسسات الرعاية طويلة الأمد، ويعتبر المسنون أكثر خطورة للاستعمار بالـ MRSA، إضافةً إلى إمكانية حملها لفترات طويلة من الزمن، كما يمكن للعاملين في الرعاية الصحية المستعمرين أن يكونوا مستودعاً لكن بدرجة أقل.^[54]

يُمثل المرضى المستعمرون والمُعدون المستودع الأكثر أهمية للـ MRSA في مؤسسات الرعاية الصحية، ومع ذلك فإن 35-84% من المرضى المستعمرين لا يتم كشفهم بالزرع الذي يطلب من قبل الأطباء لأسباب سريرية.

يُميز تحري المرضى بزرع العينات من المنخرين الأماميين فقط 80%، بينما يزيد التحري من مواقع الجسم الإضافية من الحساسية لأكثر من 92%.^[4]

يُعد المنخران الأماميان من أماكن الاستعمار الشائعة بالـ MRSA (0.2-7%) عند الأشخاص الأصحاء، إضافة إلى ذلك تتواجد بشكل طبيعي على الجلد، البلعوم، الإبط، المستقيم والعجان، كما أنها يمكن أن تستعمر أو تُحمل في المعدة والأمعاء (حتى 60%)، وهي لا تسبب العدوى دائماً. [32، 54، 58]

تزداد معدلات حمل الـ MRSA عند مجموعات معينة (أطباء، ممرضات، العاملون في المستشفيات، مستعملو الأدوية الوريدية، مرضى الديال الدموي، مرضى الإكزيما، مرضى الداء السكري نمط 1)، كما تعتبر الفترات الطويلة والمتواترة من الاستشفاء بالإضافة إلى القناطر والأمراض الجلدية والعوز المناعي والجروح المزمنة من عوامل الخطورة للاستعمار بالـ MRSA. [12، 34، 54]

يمكن أن يكون الأطفال نواقل لنشر الـ S.aureus والـ MRSA إلى كل من بيئات المجتمع والمستشفى، إضافة إلى أن مراكز الرعاية اليومية تشكل مستودعاً للـ MRSA، حيث يكون الأطفال في خطر متزايد للاستعمار الأنفي، كما ويكون لديهم خطورة أكثر لحدوث العدوى أيضاً بسبب الاستعمار وضعف جهازهم المناعي، ومما يُعقد القضية هو ميلهم لتلويث البيئة بمفرزات الطرق التنفسية والبول والبراز وكل ما يمكن أن ينشر المرض. [30، 59]

ذكر أن حوالي 2.3 مليون (0.8%) في الولايات المتحدة الأميركية مستعمرون بالـ MRSA وهم حملة لها أيضاً، كما يمكن أن تسبب 59% من عدوى الجلد والنسج الرخوة، بينما تحدث العدوى الغزوية والخطيرة بها عند ما يقارب 94.000 من الأشخاص كل سنة وينتج عنها حوالي 19.000 حالة وفاة سنوياً حسب مراكز مكافحة الأمراض Centers for Disease Control and Prevention (CDC)، ويُقال إن وفيات الـ MRSA السنوية تفوق وفيات مرض الإيدز. [56، 60، 61]

يتم انتشار الـ MRSA بالطرق نفسها لانتشار الـ Staph عامة، حيث يمكن أن تنتقل بالطرق التالية:

- تماس شخص لشخص، حيث تعتبر أيدي الموظفين الطريق الأكثر احتمالاً لنقل الـ MRSA من مريض لآخر

- الأدوات المُعدية، يُعتقد أن الأدوات المُعدية (أغطية، أسطح البيئة المحيطة، أدوات رياضية) لا تلعب دوراً رئيساً في النقل، عدا عند أشخاص مُعيَّنين كالمريض في وحدات الحروق والرعاية المشددة

- يُعد النقل بالقطرات أقل شيوعاً لكنه يمكن أن يكون هاماً عند المرضى الذين يعانون من التهاب رئوي بالـ MRSA أو فغر رغامى وغير قادرين على السيطرة على إفرازاتهم^[31] [54، 41]

أثبتت عدة دراسات مؤخراً أن هناك نقلاً للـ MRSA يتم بين الحيوانات والبشر نتيجة الاتصال اليومي مع الحيوانات (البيطريين، مزارعي الخنازير)، فقد أظهرت 3 دراسات أجريت بشكل مستقل في كل من الولايات المتحدة الأمريكية والدانمارك وهولندا لتقييم انتشار الحمل الأنفي للـ MRSA عند الموظفين البيطريين أن نسب حملها الأنفي كان مرتفعاً بين الموظفين البيطريين (7.1%، 12.5%، 3.9%) على التوالي.^[25، 62، 63]

تعتمد أعراض الـ MRSA على مكان العدوى، ومع ذلك فإن هذه الأعراض تتشابه مع أعراض العدوى بالعنقديات الأخرى فتتراوح من عدوى جلدية خفيفة (بثور، طفح جلدي، دمامل) تزول بدون معالجة طبية خاصة، إلى عدوى شديدة (عدوى جلد شديدة، عدوى الشقوق الجراحية، إنتان دم، التهاب رئوي)، تتظاهر بحرارة مرتفعة، قشعريرة، تورم، إيلام، صداع شديد، تعب، هبوط ضغط، ألم مفاصل، ضيق نفس، ارتفاع تعداد الكريات البيضاء WBC وغيرها، قد تتطلب المعالجة، كما يمكن لبعض ذرايها أن تنتج مواد تسبب عدوى شديدة مؤديةً إلى تهديد الحياة كالتهاب اللقافة الناحر (نادرة).^[9، 41]

لا يُظهر الاستعمار بالـ MRSA أعراضاً أو علامات سريرية لكنه يمكن أن يستدعي المعالجة، والمريض المستعمر يمكن أن ينقل الـ MRSA إلى الآخرين.^[54]

يجب إجراء الفحوصات المخبرية أولاً بأخذ العينات من المصادر المختلفة كالدم وسوائل ومفرزات الجسم المختلفة للتعرف فيما إذا كانت العدوى ناتجة عن الـ Staph ثم تأتي الخطوة التالية لمعرفة ما إذا كانت هذه الـ Staph هي الـ S.aureus، حيث يُمكن أن تُشخص عدوى الـ S.aureus بإيجابية الزرع، إضافةً إلى الأعراض والعلامات السريرية للعدوى، ففي هذه الحالة يمكن أن تُزرع من (الدم، الجروح، المفرزات التنفسية، البول، العينات الجراحية)، كما يُمكن كشف الاستعمار بها عند المرضى عديمي الأعراض بزرع العينات المأخوذة من الجلد، المنخرين،

المستقيم، وبعد أن يتم تمييز الـ S.aureus يجب إجراء اختبارات التحسس الجرثومية لتمييز
وكشف ذراري الـ MRSA. [16، 41، 54]

لوحظ وجود عزولات من الـ S.aureus إيجابية جين الـ mecA متبدلة من النمط الظاهري
MSSA الأولي إلى النمط الظاهري CA-MRSA بعد التعرض لأي مضاد حيوي من مجموعة
الـ β -Lactams، وقد سُميت هذه العزولات بالـ MRSA الهاجعة القابلة للتحريض Inducible
MRSA Dormant (ID-MRSA)، وذُكرت في كل من المستشفى والمجتمع، ويمكن تمييزها
بنمط الـ SCCmec. [64]

تقترح معظم دراسات مقارنة الأعباء الناتجة عن العدوى المحدثة بكل من الـ MSSA
والـ MRSA أن الـ MRSA:

- تستعمر بشكل طبيعي أماكن الاستعمار نفسها
- صعبة المعالجة وتميل لأن تكون النتائج سيئة [57، 65]
- تقود إلى مرضية ووفيات كبيرة وهامة، وهذا مثبت في اثنين من التحاليل التالية لدراسات
عدوى شديدة كتجرثم الدم [42]
- تؤدي إلى حدوث نسبة وفيات بمعدل متوسط 29% تعادل أكثر من ضعف نسبة الوفيات
بعدوى الـ MSSA تقريباً 12%، والأسباب تكون معقدة وغير واضحة بشكل كامل، لكن
يمكن أن تتضمن اختلاف الذرية وعوامل الخطر المشوشة وتأخر إدخال المعالجة المناسبة،
إضافةً إلى ضعف أداء المضادات الحيوية كـ Glycopeptides الموجودة تجاه
الـ MRSA [42، 66]

- تشكل عبئاً إضافياً وليس مجرد بديل للـ MSSA [42]
- لوحظ حدوث تضاعف في تجرثم الدم بالـ S.aureus في الولايات المتحدة ثلاث مرات خلال
الـ 20 سنة الماضية، بينما يبلغ الآن 50 – 60% بذراري الـ MRSA، كما كان هناك ارتفاع
انفجاري في تجرثم الدم بالـ MRSA في المملكة المتحدة في العقد الماضي أيضاً من أقل من 2%
في 1990-1992 إلى أكثر من 30% في 1998، بينما أشارت تقارير جهاز ترصد المقاومة تجاه
مضادات الميكروبات الأوروبي (EARSS) الأخيرة إلى أن ذراري الـ MRSA تسبب أكثر من
40% من تجرثم الدم بالـ S.aureus في المملكة المتحدة، لكن هذا لا يعني نقصاً في تجرثم الدم
بالـ MSSA الذي يكون مرتفعاً أيضاً. [42، 67، 68]

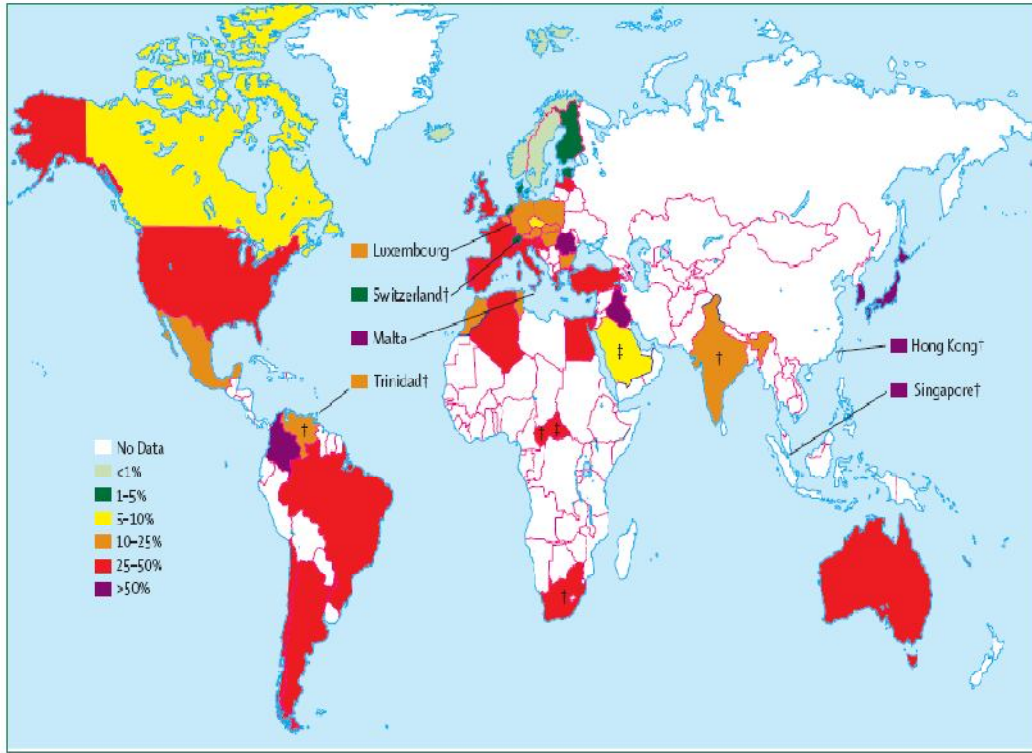
تطورت ذراري الـ MRSA منذ 50 سنة تقريباً، وكانت بدايةً مرتبطةً بالمؤسسات الصحية كالمستشفيات، لكنها أصبحت في الآونة الأخيرة منتشرة بشكل متزايد في العدوى المكتسبة في المجتمع أيضاً.^[26، 69، 70]

ذُكر أول تقرير عن الـ MRSA في المملكة المتحدة (UK) عام 1961، حيث ظهرت بشكل سريع كمشكلة وبائية رئيسة في أماكن الرعاية الصحية، ثم أظهر مسح الانتشار الوطني في الـ UK في (1993\1994) أن الاستعمار بالـ MRSA شكل خطراً كبيراً مرتبطاً بالعدوى المكتسبة في المستشفى، وأن مسح الحملة (الطاقم والمرضى) بدلاً من التمييز البسيط للمرضى المُعدين لعب دوراً في السيطرة على الانتشار وإنقاذ عدد العدوى.^[71]

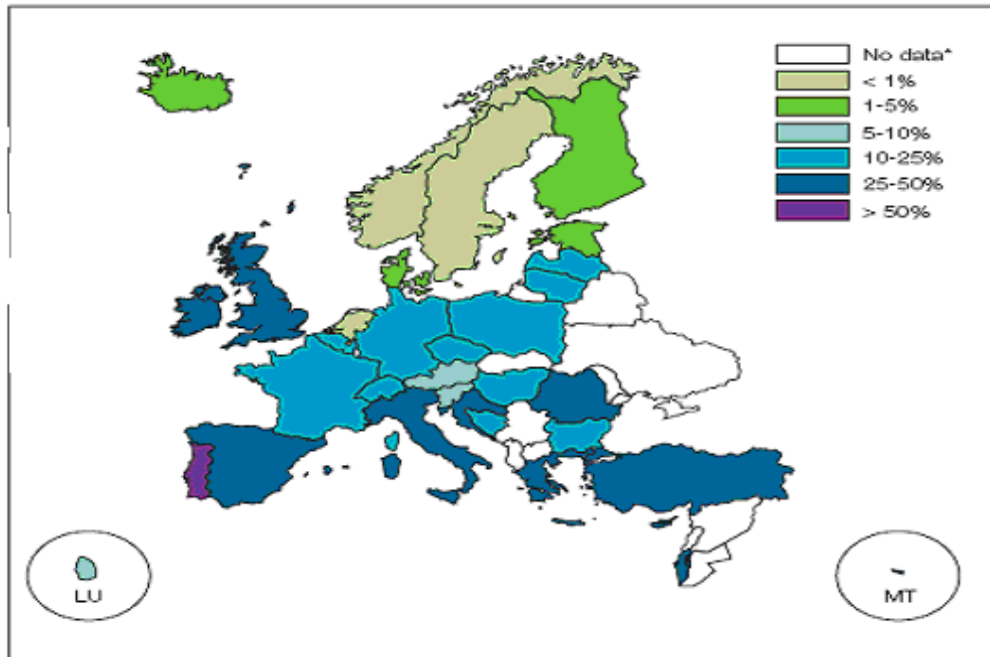
سُجلت أول عدوى بالـ MRSA في سيدني، أستراليا، عام 1965^[72]، أما في ماليزيا فقد كان أول تقرير عنها عام 1972^[73]، بينما كان أول تمييز لها في New Zealand عام 1975.^[74]

عرفت الـ MRSA كمشكلة في المستشفيات الإيرلندية والمستشفيات الأكاديمية اليابانية في الثمانينات، بينما بقيت نادرة في فنلندا والنرويج والسويد وهولندا والدنمارك، وعُري ذلك إلى تطبيق برامج الترصد الصارمة تجاه الـ MRSA في هذه البلدان^[57، 72، 75]، ثم مع منتصف التسعينات أصبحت الـ MRSA المشكلة الرئيسية في المستشفيات حول العالم.^[76]

يختلف تواتر عدوى الـ MRSA من مستشفى إلى آخر ومن بلد إلى آخر^[29]، كما تدل عليه المعطيات المأخوذة من مبادرات الترصد المستمرة لجهاز ترصد العدوى المستشفى الوطنية (NNIS) والـ EARSS، حيث ذُكرت معدلات انتشار مختلفة للـ MRSA في كثير من بلدان العالم كالولايات المتحدة الأمريكية 32%، أوروبا 26% وأستراليا 23%^[77]، هذا وتختلف معدلات انتشارها لدى مرضى المستشفيات، فهي تتراوح من 0.6% في هولندا إلى 60-70% في اليابان^[78]، كما لوحظ أيضاً أن معدل انتشارها في دول أوروبا يأخذ ممال شمالي جنوبي، حيث يتراوح بين أقل من 1% في دول الشمال (السويد، الدنمارك، هولندا)، إلى أكثر من 40% في دول الجنوب (فرنسا، اليونان، إيطاليا)^[22، 29، 79]، بينما ذكرت معطيات جهاز الترصد للعدوى المستشفى الوطنية للـ CDC أن معدلات انتشار الـ MRSA كانت 54.5%.^[80]



شكل 6. يبين الانتشار العالمي للـ MRSA وفقاً للبلد



شكل 7. نسب MRSA وفق تقرير الـ EARSS عام 2008

استوطنت الـ MRSA في المستشفيات الإيرلندية لعدة سنوات، حيث بلغت نسبتها 42% عند المرضى بتجرثم الدم عام 2003، مما وضع إيرلندا من بين البلدان ذات معدلات الانتشار

الأعلى للـ MRSA في أوروبا والتي تُقدم معطيات للـ EARSS^[76، 81]، كما أشارت معطيات الـ EARS-Net أن نسبة الـ MRSA بين عزولات الـ S.aureus من زرع الدم في ألمانيا زاد بشكل جوهري في التسعينات وظل ثابتاً لعدة سنوات (16-20%)، فقد أظهرت دراسة أن نسبة الـ MRSA من العينات السريرية كانت 1.1% عام 1990 زادت إلى 17.5% عام 2001، بينما وصلت في عام 2007 إلى 20.3%.^[34، 82]

أظهرت إحدى الدراسات التي أجريت في إسبانيا عام 2006 أن مقاومة الـ S.aureus تجاه الـ methicillin كانت ثابتة (28% عام 2006 مقابل 31% عام 2002)^[83]، كما أظهرت دراسة أجريت في اليونان على 285 من الـ S.aureus المعزولة من الأطفال بأعمار من 0-14 سنة في الفترة من تشرين الأول 2004 إلى تشرين الأول 2006 عانى جميعهم من عدوى جلد ونسج رخوة أن 22.9% من عدوى الجلد والنسج الرخوة المكتسبة في المجتمع كانت بالـ MRSA، وأن 90% من هذه العدوى كانت PVL⁺.^[84]

يبقى انتشار الـ MRSA في الدانمارك عند مستويات منخفضة منذ منتصف السبعينات، ففي عام 2002 كان الحدوث السنوي $\geq 1\%$ من مجموع عزولات الـ S.aureus من الدم، ثم لوحظت زيادة ملحوظة عام 2005 بلغت 2% تقريباً، ومع ذلك يبقى الدانمارك هو البلد الذي يتصف بأخفض معدلات انتشار الـ MRSA في أوروبا.^[63]

أظهرت المجموعة الأسترالية على المقاومة تجاه مضادات الميكروبات (AGAR) أن متوسط الـ MRSA بين عزولات الـ S.aureus كانت 33.6% (27.3%، 41.4%) في جنوب أستراليا وويلز الجديدة على التوالي).^[85]

لقد أظهرت معطيات الترصد في المستشفيات الصينية عام 2001 أن الـ MRSA هي المهدد الأكبر^[68]، حيث أظهرت دراسة أجريت عام 2005 أن متوسط انتشارها عبر الصين كان أكثر من 50%، وأن المعدل في شنغهاي لوحدها كان أعلى من 80%^[86]، بينما تشكل الـ MRSA في معظم المستشفيات الرئيسة في تاوان 53-83% من عزولات الـ S.aureus.^[45]

أثبتت المعلومات المجمع من قبل برنامج مدعوم بمنظمة الصحة الأمريكية الشاملة (PAHO) أن انتشار الـ MRSA في أميركا اللاتينية عام 2004 كان: 42% في الأرجنتين، 36% في بوليفيا، 80% في تشيلي، 47% في كولومبيا، 58% في كوستاريكا، 6% في كوبا،

25% في الإكوادور، 64% في غواتيمالا، 12% في هندوراس، 52% في المكسيك، 20% في نيكاراغوا، 44% في بارغواي، 80% في البيرو، 59% في الأرجواي، 25% في فنزويلا^[87]، وعلاوة على ذلك أظهرت المعطيات من برنامج الترصد SENTRY زيادة في نسبة الـ MRSA في مراكز أميركا اللاتينية من 33.8% في 1997 إلى 40.2% في 2006، منها 41% في البرازيل فقط.^[88]

تغيب المعطيات حول طبيعة وانتشار الـ S.aureus في المستشفيات في معظم البلدان الأفريقية، لكن المعطيات المتوفرة من بعض البلدان تشير إلى أن هناك معدلات حمل تفوق بشكل عام 20%^[36]، ففي نيجيريا وكينيا والكاميرون بلغ معدل انتشار الـ MRSA حوالي 21-30% عام 2003.^[68]

لوحظ في المملكة العربية السعودية في الفترة الواقعة بين عامي 1995 و 2004 زيادة هامة في الـ MRSA، فقد ازدادت من 6.9% إلى 33% وهذا ينذر بتفشيتها في المملكة، كما أظهرت دراسة أجريت خلال عام (2003-2004) على 119 عزولة من الـ S.aureus في مختبر المستشفى العسكري بالرياض أن 77 (64.7%) عزولة كانت MSSA و 42 (35.3%) عزولة كانت MRSA، وأن جميع العزولات (MRSA، MSSA) كانت حساسة تجاه الـ VAN والـ TEIC.^[89]

أجري في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق عدد من الدراسات لكشف تواتر العزولات الجرثومية إيجابية وسلبية الغرام بما فيها عزولات الـ S.aureus، ودراسة حساسيتها تجاه عدد من المضادات الحيوية بما فيها الـ VAN والـ TEIC، لكن لم يتم حتى الآن دراسة تواتر عزولات الـ ORSA إلا بشكل هامشي في تلك الدراسات التي أجريت في الأعوام 2008، 2009، 2010، 2011، والتي أظهرت أن الـ S.aureus كانت تحتل المرتبة الأولى بين إيجابيات الغرام، وأن معدلات انتشار الـ MRSA كانت 38%، 27%، 18%، 9.5% على التوالي، إضافة إلى أن عزولات الـ S.aureus الحساسة والمقاومة تجاه الـ OXA كانت حساسة 100% تجاه الـ VAN والـ TEIC عدا دراسة عام 2009 أظهرت أن نسبة المقاومة تجاه الـ VAN كانت 3%^[90-93].

يمكن أن يحدث انتقال مستعمرات الـ MRSA من خلال نقل المرضى أو العاملين في الرعاية الصحية بين المستشفيات، لكن الدراسة التي أجريت في منطقة الـ Euregio Meuse-

Rhin (EMR) أظهرت أن انتقال المرضى من بلد إلى آخر يمكن أن يساهم أيضاً في نشر الـ MRSA لاسيما عندما ينتقل المرضى من بلد بانتشار عال نسبياً إلى بلد بانتشار منخفض^[94]، كما أظهرت دراسة أخرى أجريت في الإمارات العربية المتحدة على 50 عزولة MRSA أن 26% من العزولات كانت مماثلة للنسيلة E-MRSA15 في الـ UK و 12% مماثلة للنسيلة USA100 في الـ USA، وقد عزت الدراسة الإماراتية ذلك إلى أن المرضى الذين تلقوا رعاية طبية خارج الإمارات يمكن أنهم كانوا كمصادر محتملة لانتقال مستعمرات الـ MRSA^[95]، وقد سُهِّلَ إيضاح آلية الانتشار الجغرافي لمثل هذه المستعمرات بشكل كبير باستعمال التقنيات الجزيئية^[96]، وأن احتمال حمل نسل الـ MRSA إما بواسطة المرضى أو العاملين في الرعاية الصحية بين القارات والبلدان يدعو إلى تنسيق الجهود بشكل جيد بين السلطات للحد من الانتشار الإضافي لهذا العامل الممرض.^[95]

تختلف معدلات انتشار الـ MRSA باختلاف شعب المستشفى، ففي بعض البلدان كـ (بولندا، بلغاريا، كرواتيا، اليونان، الـ UK، قبرص، رومانيا) كانت نسبة الـ MRSA عند مرضى الـ ICU أكثر من 60%، وذكرت نسب مماثلة في كل من فرنسا وإيرلندا والبرتغال أيضاً^[97]، بينما ذكر الـ NNIS عام 2004 في الـ USA أن نسبة عزولات الـ MRSA في الـ ICU زادت من 59.5% إلى 64.4%^[68]، كما أظهرت دراسة أجريت في البرازيل في عام 2003 أن الـ MRSA بلغت 64% في الـ ICU، بينما بلغت 93.3% من عداوى الدم بالـ S.aureus في وحدة حديثي الولادة بين عامي 1997 و 1999.^[88]

تختلف معدلات انتشار الـ MRSA باختلاف الجنس فهي تميل لإصابة الذكور أكثر من الإناث، وقد ذكرت عدة دراسات هذا الاختلاف في انتشار الـ MRSA بين الجنسين، منها دراسة أجريت في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق عام 1994 من قبل رؤى المرقبي على 134 عزولة من الـ S.aureus والتي أظهرت أن 60% من عزولات الـ S.aureus كانت من الذكور و 40% كانت من الإناث^[98]، بينما أظهرت 3 دراسات أخرى أجريت إحداها في الهند من قبل Mohankumar وزملائه على 100 عزولة من الـ MRSA^[99]، ودرستان أجريتا في المملكة العربية السعودية الأولى في مستشفى الملك فهد التعليمي من قبل Bukharie وزملائه على 92 عزولة MRSA^[100]، والأخرى في مستشفى جامعة الملك عبد العزيز من قبل Madani وزملائه على 111 عزولة MRSA^[101]، جميعها أظهرت نسب الاختلاف الموضحة في الجدول التالي:

MRSA				الدراسة
إناث		ذكور		
%	عدد	%	عدد	
22	22	78	78	دراسة Mohankumar وزملاؤه (2012) الهند ^[99]
37	34	63	58	دراسة Bukharie وزملاؤه (2000-1998) السعودية ^[100]
41	46	59	65	دراسة Madani TA (1998) السعودية ^[101]

جدول 2. بين نسب توزع الـ MRSA بين الذكور والإناث في دراسة هندية ودراستين سعوديتين

تُعد الـ S.aureus من أكثر الأسباب تواتراً لعداوى الدم والتي لوحظت من قبل معطيات الـ EARSS/EARS-Net خلال فترة 2002-2009^[102]، فقد أظهرت دراسة حديثة في الـ USA أن ذراري الـ MRSA كانت مسؤولة عن 5-19% من عداوى الدم^[22]، كما ذكرت معطيات الـ EARS-Net في أوروبا أن معدل الـ MRSA في عداوى الدم كان من أقل من 1% إلى أكثر من 40%^[70]، إضافةً إلى ذلك وحسب معطيات الـ EARSS فإن 33.9% من 1.240 عداوى دم بالـ S.aureus عام 2008 في إيرلندا كان بالـ MRSA، أنخفضت إلى 28% في الثلاثة أرباع الأولى من عام 2009، حيث تعد انخفاض نسبة منذ ترصد عام 1999.^[57]

أظهرت دراسة مستقبلية أجريت في عدة مستشفيات حكومية في لاهور، باكستان، على 1102 عزولة S.aureus خلال 2003 و 2005 أن 307 (27.9%) عزولة كانت إيجابية الـ mecA (MRSA)، و 795 (72.1%) عزولة كانت سلبية الـ mecA (MSSA)، وأن غالبية العزولات أخذت من السبيل التنفسي 37.1%، فمسحات الجلد والنسج تحت الجلد 32.3%، كما أظهرت أن العدد الأكبر من العزولات كان من وحدات الجراحة 21.8%، فوحدة الرعاية المشددة (الطبية والجراحية) 21.2% وخاصة وحدة الرعاية القلبية 21.1%، وكانت جميع عينات الـ MRSA المدروسة حساسة تجاه الـ VAN.^[103]

أظهرت دراسة أجريت في باكستان أيضاً من قبل Haque N. عام 2007 على 238 من عزولات الـ S.aureus أن 100 عزولة كانت مقاومة تجاه الـ methicillin، وأن أعلى معدل لعزولات الـ MRSA كان من القيح 68%^[104]، بينما أظهرت دراسة إسترجاعية أجريت في الهند أن 64% في عام 2008 و 61% في عام 2009 من عزولات الـ S.aureus تم عزلها بشكل رئيس من عداوى الجلد والنسج الرخوة، تليها بعينات الدم والتنفس^[105]، كما أظهرت دراسة أجريت

في الولايات المتحدة الأميركية من 2005 – 2007 أن معظم عينات الـ S.aureus كانت من الجلد الجروح 57.4%، تليها بالتنفس 20.8%، ثم كانت أقل شيوعاً من الدم 7.3% والبول 7%، كما أظهرت أيضاً أن هناك انتشاراً كبيراً للـ MRSA من عينات الجلد الجروح 56.9%.^[106] ذكر أن هناك نجاحات في إنقاص معدلات الـ MRSA في بعض الأماكن، على الرغم من زيادة معدلاتها في أجزاء كثيرة من العالم، حيث ذكر التقرير السنوي للـ EARSS عام 2010 حدوث نقص هام في معدلات الـ MRSA البشرية في 7 بلدان أوروبية في السنوات الأخيرة.^[62]

[74]

ذكر جهاز الترصد الإلزامي في الـ UK انخفاضاً في معدل عدوى الدم بالـ MRSA بمعدل 56% بين 2004 و 2008، كما لوحظ انخفاضاً مماثلاً في معدل عدوى الـ MRSA الغزوية المرتبطة بالرعاية الصحية في الـ USA أيضاً.^[102، 107، 108]

تعتبر هولندا من البلدان التي انخفضت فيها معدلات انتشار الـ MRSA من 15% في 1971 إلى 0.2% عام 1984^[25]، وهي تشكل حالياً أقل من 1% من المقبولين في المستشفيات الهولندية^[52، 78]، كما أظهرت بلدان كسلوفانيا وفرنسا نقصاً ثابتاً على مدى السنوات الست السابقة لعام 2005 من 21% عام 1999 إلى 10% عام 2005، ومن 33% عام 2001 إلى 27% عام 2005 على التوالي^[97]، بينما سُجل في إيطاليا إنخفاضاً متوسطاً ثابتاً في فترة 2001-2007 حيث وصل هذا الإنخفاض إلى معدل متوسط 33.7% في عام 2007.^[109]

يُعزى الإنخفاض في معدلات الـ MRSA في تلك البلدان إلى السياسة الوطنية الصارمة (Search and destroy)، والتي تتمثل أركانها الأساسية بالعزل الصارم للمرضى الحاملين للـ MRSA (بحث فعال للحملة عن طريق المسح ومعالجتهم)، تحري المرضى عند القبول في المستشفى، إجراءات النظافة النوعية في المستشفى وأخيراً تحديد استعمال المضادات الحيوية في أماكن الرعاية الصحية.^[110]

أظهرت دراسة حديثة أجريت في 9 أماكن من الولايات المتحدة الأميركية (عدا واشنطن) خلال 2004-2005 أن حوالي 85% من عدوى الـ MRSA الغزوية أو الخطيرة أرتبطت بالرعاية الصحية، وأن حوالي 14% حدثت عند أشخاص بدون تعرض واضح للرعاية الصحية.^[111]

تستعمل المصطلحات الـ CA-MRSA والـ HA-MRSA للفت الإنتباه إلى الاختلافات الجينية لعزولات معينة من الـ MRSA، إضافةً إلى الخصائص الوبائية والسرييرية للعداوى المسببة بها، وبالتالي يمكن أن يخلق هذا التبادل الرخو في المصطلحات خلطاً في بعض الأحيان، حيثُ أصبحت هذه المصطلحات شائعة في الأدب الطبي حالياً^[69، 72] ومن خلال معرفة هذه المصطلحات يمكن أن تُصنّف الـ MRSA حسب مكان الانتشار إلى نوعين:

■ العداوى المكتسبة في المستشفيات (HA-MRSA)

تظهر عداوى الـ HA-MRSA كنتيجة لمدخلات الرعاية الصحية سواء عند المرضى الخاضعين لهذه المداخلات أو عند موظفي الرعاية الصحية ذوي العلاقة بهذه المداخلات^[24]، وهي تُكتسب بعد 48 ساعة بعد القبول في المستشفى أو بعد الاتصال مع مؤسسة الرعاية الصحية (وحدة الرعاية اليومية، دور المسنين)، ويمكن أن تحدث سواء بالجراثيم الحساسة أو المقاومة تجاه المضادات الحيوية، كما يمكن أن تُكتسب من الفلورا الطبيعية عند المريض (داخلية المنشأ) أو من مرضى أو أفراد آخرين كأيدي موظفي الرعاية الصحية، أو من بيئة الرعاية الصحية (خارجية المنشأ).^[112-114]

ذُكرت الـ HA-MRSA بشكل أولي في السبعينات، ولُوحظت العداوى في كل أجزاء الجسم (التنفس، الدم، الجلد، العظم.. الخ)، وانتشارها في المجتمع محدود، ويمكن تمييزها بغياب الـ PVL^[113، 115]

تُشكل الـ HA-MRSA حوالي 5-10% في البلدان المتطورة و10-30% في البلدان النامية وتختلف المعدلات من بلد إلى آخر وضمن البلد نفسه من مكان إلى آخر أوحثى ضمن المستشفى نفسها من قسم إلى آخر نتيجة الخلط المعقد للمرضى والمعالجات الشديدة والممارسات المحلية.^[112]

تميل الـ HA-MRSA لأن تكون متعددة المقاومة الدوائية وتعدي وتستعمر المرضى لاسيما المضعفين والمسنين أثناء الاستشفاء أو في مؤسسات الرعاية طويلة الأمد وبعد المعالجة الجراحية أو تالية للاتصال مع شخص لديه عدوى بالـ MRSA أو يكون حاملاً لها.^[88، 116]

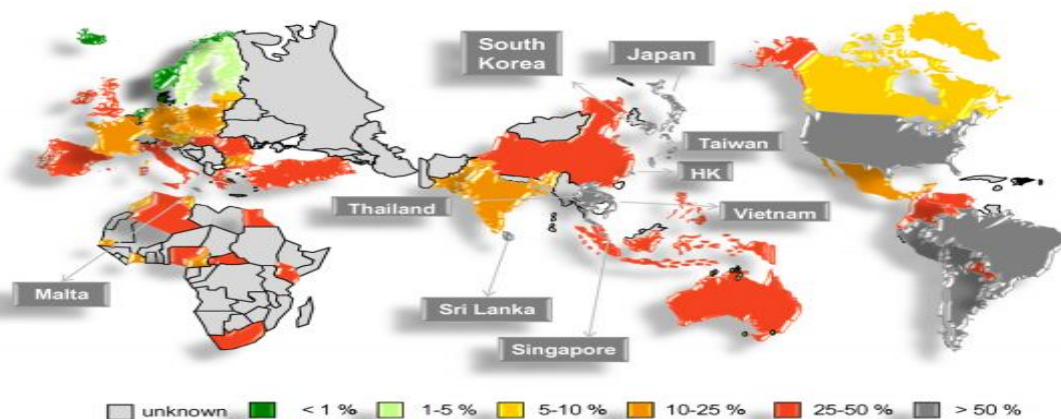
ذكر النقشي الدوري لعداوى المستشفيات حيث كانت تستعمل مستويات عالية من الـ methicillin أو الـ OXA في بيئة العناية المشددة^[88]، ففي عام 1974 سببت الـ MRSA (2%) من العدد الكلي لعداوى الـ S.aureus، ومنذ منتصف الثمانينات أصبحت

الـ HA-MRSA المهدد الهام للصحة المحلية، بينما في عامي 1995 و 2004 بلغت معدلاتها 22% و 63% على التوالي [30]، حيث سببت عدوى كثيرة بدايةً في المستشفيات الكبيرة ولاحقاً في مستشفيات المجتمع الصغيرة [88]، وهناك دلائل على أنها تزيد معدلات المراضة والوفيات بين المرضى الذين تطور لديهم تجرثم دم بنسب مرتفعة وصلت إلى 20 – 50% [77، 117]، كما أنها تزيد من التكاليف، وتسبب أيضاً معاناة وضرراً نفسياً ومالياً للمرضى أنفسهم. [4]

دُكرت معدلات مختلفة لعدوى الـ HA-MRSA في كثير من البلدان، حيث بلغت 5.9\1000 قبول في فرنسا، و 4.7\1000 قبول في هونج كونج، و 0.76\1000 قبول في كندا و 0.53\1000 قبول في تايوان و 1.7\1000 قبول في الولايات المتحدة. [25]

شكلت الـ HA-MRSA متعددة المقاومة مشكلة متنامية في أميركا اللاتينية، حيث أظهرت معطيات الرابطة الأميركية الشاملة للأمراض الإنتانية في 2006 أن معدلات الـ HA-MRSA كانت كما يلي: 51% في الأرجنتين، 55% في بوليفيا، 54% في البرازيل، 29% في تشيلي، 25% في الإكوادور، 32% في المكسيك، 28% في بناما، 30% في البرغواي، 24% في الأرجواي و 27% في فنزويلا. [87، 88]

نقصد في السنوات الأخيرة معدلات انتشار الـ HA-MRSA في بعض البلدان الأوروبية كالنمسا وفرنسا وإيرلندا والمملكة المتحدة واليونان، بينما بقيت معدلات الانتشار ثابتةً في بلدان أوروبية أخرى، ومع ذلك دُكرت معدلات انتشار عالية للـ MRSA في بلدان شرق آسيا لاسيما في سيرلانكا 86.5%، كوريا الجنوبية 77.6%، فيتنام 74.1%، تايوان 65%، تايلاند 57% وهونغ كونغ 56.8%، وعلى نقيض ذلك فإن المعدلات كانت أكثر انخفاضاً في الهند 22.6% والفلبين 38.1%. [118]



شكل 8. يبين معدلات انتشار الـ HA-MRSA في بلدان شرق آسيا

يرتبط ظهور وانتشار الـ HA-MRSA عادة بعدد من عوامل الخطورة التي تسهم في قابلية هذه الجراثيم للانتشار في المستشفيات والتي تميزها من الـ CA-MRSA^[119] وتتضمن ما يلي:

- الاستشفاء أو الحجز في الأماكن التي تكون فيها الـ MRSA مستوطنة
- الاستشفاء المتعدد والإقامة طويلة الأمد في المستشفيات
- المرضى المسنين < 65 سنة، والبقاء مدة أطول في مؤسسة الرعاية طويلة الأمد
- الأدوات الباضعة (القناطر، الأنابيب المعدية والרגامية، المنازح،..الخ)
- الآفات الجلدية والجروح المفتوحة
- الأمراض المستبطنة الشديدة كأمراض (الرئة، الكبد، الكلية المزمنة، السكري، الخباثة)
- المعالجة المتعددة بالمضادات الحيوية واسعة الطيف
- القرب الشديد من المرضى المستعمرين أو المُعدين بالـ MRSA
- مرضى وحدات الرعاية المشددة والحروق وأقسام الجراحة.^[72، 88، 103]

تؤدي عداوى الـ HA-MRSA إلى حدوث النتائج التالية:

- طول مدة الإقامة التي تختلف باختلاف المكان وتزيد في عداوى الرئة والجروح
- زيادة معدلات المراضة والوفيات
- نتائج فيزيائية وعصبية طويلة الأمد
- زيادة التكلفة المباشرة وتكلفة الرعاية (السرير، الاختبارات الدموية والكيميائية الحيوية والميكروبيولوجية والشعاعية وغيرها، المضادات الحيوية وغيرها من الأدوية، الإجراءات الجراحية الإضافية، ساعات العمل).^[56، 120]

تُظهر بعض حالات العداوى بالـ MRSA خصائص الـ HA-MRSA والتي تُصبح ظاهرة عند القبول في المستشفى نتيجة اكتساب الـ HA-MRSA خلال الإقامة السابقة في المستشفيات، وتمثل هذه العزولات بداية ظهور MRSA المجتمع المرتبطة بالمستشفيات، ومنذ أواخر التسعينات ظهرت الـ MRSA بشكل مستقل عن أماكن الرعاية الصحية في كثير من البلدان حول العالم، وخاصةً في الولايات المتحدة وأستراليا والتي سميت بالـ CA-MRSA.^[72، 113، 119]

■ العداوى المكتسبة في المجتمع (CA-MRSA)

عرّف الـ CDC عام 2000 عداوى الـ CA-MRSA بأنها أية عداوى بالـ MRSA تشخص عند المرضى غير المقيمين أو خلال 48 ساعة من الاستشفاء مع غياب عوامل الخطورة

لأجل الـ HA-MRSA خلال سنة سابقة، وبالتالي يُستعمل هذا التعريف بشكل أولي لتحديد عدوى الـ MRSA التي تحدث بين الأشخاص الأصحاء (خاصة الأصغر سناً) في المجتمع بدون التعرض لرعاية صحية [72، 116، 121]، وحتى فترة قريبة، كان الاستعمال العام لمصطلح MRSA يعني ضمناً الـ HA-MRSA، خاصةً في الولايات المتحدة الأميركية، حيث كان الـ CDC أول من وضع معايير تساعد في التمييز بين الـ MRSA المكتسبة في المستشفى وتلك المكتسبة في المجتمع، والتي ما تزال تستخدم حتى اليوم وتتضمن هذه المعايير مايلي:

- MRSA مشخصة عند مريض غير مقيم أوبإيجابية زرع الـ MRSA خلال 48 ساعة من القبول في المستشفى
- عدم وجود قصة طبية لعدوى أو استعمال بالـ MRSA
- عدم وجود قصة طبية خلال سنة سابقة لـ:

- استشفاء
- قبول في دار المسنين، أو مؤسسة الرعاية الماهرة أودار العجزة.
- ديال
- جراحة
- عدم وجود قناطر أو أدوات طبية مستقرة تعبر خلال الجلد إلى الجسم. [69]

تكون ذراري الـ MRSA المكتسبة في المستشفى متعددة المقاومة تجاه الأدوية بشكل نموذجي، بينما لا تكون ذراري الـ MRSA المكتسبة في المجتمع متعددة المقاومة، إضافةً إلى أن خطر الموت الناتج عن الـ CA-MRSA يمكن أن يساوي خطر الموت الناتج عن قوى الطبيعة (الحرائق، الزلازل، العواصف، درجات الحرارة الشديدة). [122، 123]

تُصنف عدوى الـ CA-MRSA إلى مجموعتين هما:

- وجود عوامل خطورة مرتبطة بالرعاية الصحية، تميل لأن تكون بشكل عام وثيقة الصلة جينياً بذراري الـ HA-MRSA من ذراري الـ CA-MRSA
- عدم وجود عوامل خطورة مرتبطة بالرعاية الصحية، وتمثل عدوى الـ CA-MRSA الحقيقية، وتطورت من الـ CA-MSSA التي اكتسبت ميزات نمط جيني نوعية متضمنة عنصر الـ SCCmec IV [88]

تُعد الـ MRSA بشكل تقليدي الجراثومة المكتسبة والمسؤولة عن الغالبية العظمى من العدوى المكتسبة في المستشفيات، لكن مع بداية التسعينات زاد القلق من انتشارها بين أشخاص كانت البداية لديهم في المجتمع ولم يكن لديهم تعرض مسبق لمؤسسات الرعاية الصحية، وسُميت هذه العدوى بالـ MRSA المكتسبة في المجتمع^[51، 77، 113]، لكن التمييز بينها وبين الـ HA-MRSA أصبح ضبابياً، حيث يمكن أن تكون إحداها منبعاً للأخرى، وقد تحتويان على عناصر الـ SCCmec نفسها، وبالتالي فإن كلاً منها يمكن أن تدور في المستشفى والمجتمع مسببةً عدوى تبدأ في الرعاية الصحية أو تبدأ في المجتمع (CO-MRSA أو HO-MRSA)^[31، 72، 114]، وقد ذكرت تقارير عديدة انتقال الـ CA-MRSA في أماكن الرعاية الصحية، منها ما ذكر في المملكة العربية السعودية وتحديدًا في وحدة الرعاية المشددة للولدان عن انتقالها من أب إلى طفله، وفي أتلانتا، USA، انتقلت ضمن وحدة الرعاية المشددة للولدان أيضاً، وأصبحت الـ CA-MRSA مسيطرة مرتبطة بالرعاية الصحية في كاليفورنيا، USA، إضافةً إلى ذلك ذكر أول تقرير عن انتقالها عند 4 أطفال وشخص من الطاقم في وحدة الولدان في برمنجهام، UK، كما ذكر انتقال 8 حالات من الـ CA-MRSA إيجابية الـ PVL عند أفراد في مستشفى في وسط UK الغربي.^[69]

كانت التقارير حول تفشي الـ CA-MRSA حتى فترة قريبة غير شائعة، لكن الكثير من البلدان ذكرت أن هذا التفشي يشكل مشكلة متنامية، فقد كانت New Zealand واحدة من أول البلدان التي تواجه الـ CA-MRSA، فمن أصل 683 مريضاً شكل مرضى المستشفيات 42.8% بينما شكل مرضى المجتمع 57.2%^[74]، كما ذكر التفشي بازدياد متواتر أيضاً في عموم الولايات المتحدة وولاية نيويورك في أماكن مختلفة من المجتمع، خاصةً عند وجود تماس طبي وثيق أو ظروف معيشية مغلقة.^[51]

نُشر أول تقرير عن عدوى الـ CA-MRSA في أميركا اللاتينية في البرازيل، حيثُ وصفت ثلاث ذراري عُزلت من مرضى بعدوى الجلد والنسج الرخوة (SSTIs) وبالتهاب مفاصل إنثاني عام 2003 أخفت جينات الـ SCCmec نمط IV والـ PVL والذيفان المعوي وحالة الدم β ، وذكر في ليما والبيرو عام 2002 أن 27% من العزولات المجمعة من 30 عدوى مكتسبة في المجتمع كانت مقاومة تجاه الـ methicillin، وفي فنزويلا أيضاً كان 12.4% من 845 عزولة من الـ S.aureus مقاومة تجاه الـ oxacillin، كما ذكرت حالتين من عدوى الـ SSTIs بذراري الـ CA-MRSA في بوغوتا وكولومبيا عام 2006، إضافةً إلى ذلك أظهر تقرير الشبكة

الكولومبية لترصد المقاومة زيادة في الـ CA-MRSA من 1% في 2001 إلى 5.4% في 2006، لكن بعضها كان عند أشخاص عادوا من مدن في الأرجواي أو البرازيل تُعد ذات حدوث مرتفع للـ MRSA.^[87، 88]

تقترح بعض الدراسات أن الـ CA-MRSA تحُجب HA-MRSA في المستشفيات، وتُدعم هذه الدراسات بفرضية الاستبعاد التنافسي (ذرية الـ MRSA بنسبة توالد كبيرة تنافس الذرية الأخرى وتصبح مهيمنة في المستشفى، بينما تخمد الذرية الأخرى)، ووفقاً لهذه الفرضية، فإن المريض الواحد لا يستعمر أبداً مشاركة بالـ HA-MRSA والـ CA-MRSA، وعلى النقيض من ذلك، فإن دراسات حديثة تقترح أن المرضى يمكن أن يُستعمروا مشاركة بذراري مختلفة من الـ MRSA بشكل متواقت، كما يمكن للمريض الواحد أن يُستعمر مشاركة بالـ MRSA وأنواع جرثومية أخرى، وهذا الاستعمار المشترك يمكن أن يقود إلى مشاكل خطيرة نظراً لأن جينات المقاومة تجاه مضادات الميكروبات يمكن أن تُنقل بشكل أفقي بين الأنواع الجرثومية المختلفة مؤديةً إلى ذراري جديدة عالية المقاومة.^[116، 124]

تنتشر للـ CA-MRSA عادةً عند المجموعات الآتية:

- الرياضيون في الألعاب الرياضية التنافسية (كرة القدم، المصارعة)
- نزلاء المؤسسات الإصلاحية (السجون)
- المجندون العسكريون
- الأطفال في مؤسسات الرعاية اليومية (رياض الأطفال، دور الحضانة) والمراكز المؤسسية الأخرى (أطفال المدارس)
- مستعملوا الأدوية وريدياً ومطبقي الوشم
- الذكور المثليون (الرجال الذين يمارسون الجنس مع الرجال)
- المشردون وساكنو النزل
- تنتشر حالياً في عموم السكان^[28، 4، 125]

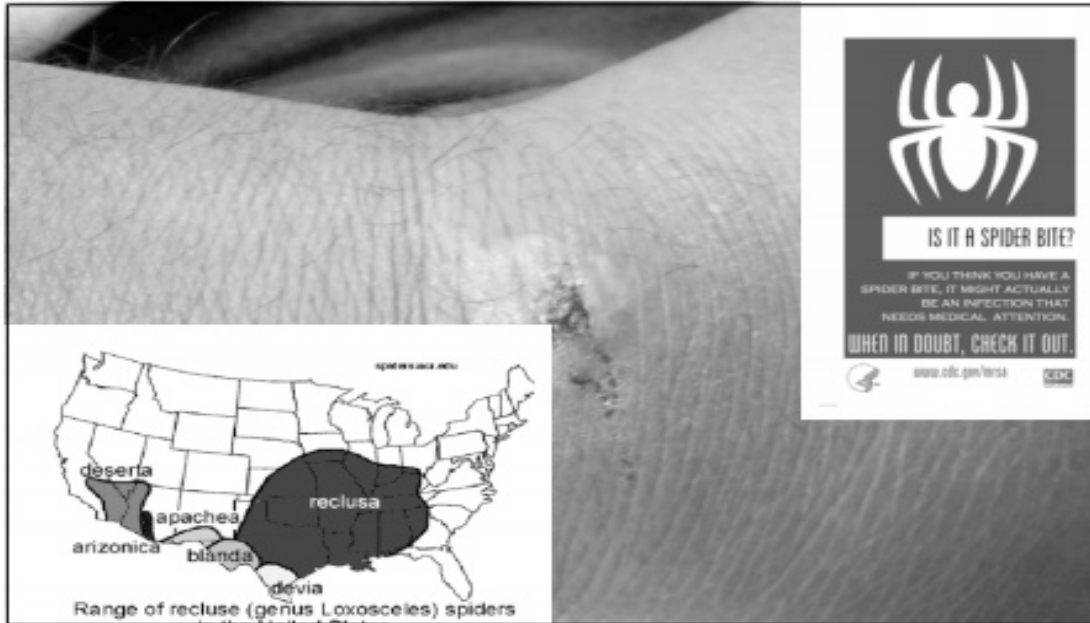
يمكن للـ CA-MRSA أن تُحدث التظاهرات السريرية الآتية:

1. عداوى الجلد والنسج الرخوة (95%)، تختلف شدتها من عداوى سطحية خفيفة إلى خراجات عميقة متوضعة كالعناقيد أو عضة العنكبوت حيث تبدو المنطقة المصابة متورمة،

محمرة، مؤلمة، مملوءة بالقيح، إضافةً إلى علامات جهازية وكثرة الكريات البيضاء، لكن غالباً ما تغيب الحمى [31، 114، 126] وتشمل هذه العدوى ما يلي:

- الدمل وهي الأكثر شيوعاً
 - الخراجات الجلدية العميقة
 - التهاب الجريبات
 - التهاب الهلل (التهاب النسيج الضام الخلالي)
 - القوباء والجمرة والداخس
2. عدوى غزوئية (5%)، تحدث بشكل بدئي دون عدوى سابقة أو عوامل خطورة أو بشكل ثانوي (مضاعفة للـ SSTs سابقة أو عدوى فيروسية في السبيل التنفسي) وتشمل:

- التهاب اللفافة الناحر
- التهاب العظم والنقي
- التهاب الشغاف
- التهاب رئوي ناخر
- خراجات رئوية وكلوية
- التهاب المفاصل الإنتاني
- التهاب العضلات القيحي [31، 114، 126]



شكل 9. يبين خراج يشبه عضه العنكبوت في عدوى الـ CA-MRSA

يكون التمييز بين عدوى الـ CA-MRSA بنوعيهما (مع أودون عوامل خطورة مرتبطة بالرعاية الصحية) وعدوى الـ HA-MRSA ذي أهمية كبيرة كون هذه العدوى تُسببُ بذراري تُظهر اختلافاً سريرياً وميكروبيولوجياً وتفرداً جينياً وسلوكيات علاجية.^[88]

يمكن تمييز عدوى الـ CA-MRSA عن عدوى الـ HA-MRSA بما يلي:

- علاقتها بالمجتمع

- غياب عوامل الخطورة الوبائية المذكورة سابقاً للـ HA-MRSA

- احتوائها على الصفات الفريدة الآتية:

- ✓ نوع نسيلي بواسطة PFGE-USA 300/400

- ✓ أنماط جينية لا تشابه العزولات من المستشفيات المحلية (تحتوي بشكل

- مسيطر SCC mec IV أو V)

- ✓ حملها لجينات عامل فوعة يسمى الذيفان المبيد للكريات البيض (PVL)

- الاحتفاظ بحساسيتها تجاه مضادات حيوية غير الـ β - Lactams

- تسبب في غالبية الحالات عدوى جلد ونسج رخوة^[4، 69، 77]

ذكرت بعض الدراسات الباكورة أن الطرائق المتوفرة لتنميط الـ S.aureus اقتصرت على طرائق التنميط الظاهري (phage typing، biotyping، تنميط الإنزيمات والذيفانات، اختبار التحسس تجاه المضادات الحيوية)، حيث نمطت طريقة الـ biotyping عزولات الـ S.aureus من البشر والحيوانات إلى أنماط حيوية نوعية المضيف (البشر أو الحيوانات) أو غير نوعية المضيف (البشر والحيوانات)، ثم أثبتت الطرائق البيولوجية الجزيئية هذه الموجودات الباكورة مظهرة أن تلك الخلفية الجينية الخاصة (نسائل أو سلالات) ارتبطت بالمضيفات الثديية الخاصة، ويُعد تنميط الـ S.aureus جينياً في كثير من البلدان جزءاً من أنظمة الترصد المستمر وأداة هامة في دراسة منشأ الذرية، ووبائيات النقشي سواء في المستشفيات أو المجتمعات.^[21، 70، 127]

إن تسمية ذراري الـ S.aureus غير معيارية تماماً، وهناك على الأقل 3 طرائق جينية مختلفة حالياً تستعمل لتصنيف وتسمية عزولات الـ MRSA (لهذا السبب يمكن أن تأخذ العزولة الواحدة أسماء متعددة)^[25] تتضمن:

- الـ Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)، أصبحت الطريقة المختارة في

أواخر التسعينات، حيث أثبت الـ CDC بالاعتماد على نماذج الـ PFGE بشكل نهائي

نظام التسمية التي كانت شائعة في الـ USA لـ 8 عزولات أصلية من USA100 إلى USA800، وبنفس الطريقة مُيزت في كندا العزولات من CMRSA1 إلى CMRSA10، كما نشأت تسمية ثالثة لأنواع الـ Epidemic MRSA في الـ UK، إضافةً إلى التسمية الأصلية لأكثر ذرية انتشرت في إنجلترا وويلز في بداية الثمانينات (الـ EMRSA) والتي سُميت مؤخراً بالـ EMRSA1 تم تمييز الـ EMRSA2 إلى الـ EMRSA14، لكن في بعض الأحيان قد تكون عزولات MRSA متماثلة أو غير مميزة ولديها أكثر من إسم، فعلى سبيل المثال الـ CMRSA10 تكون غير قابلة للتمييز من الـ USA300، والـ CMRSA2 تماثل الـ USA100، والـ CMRSA8 مماثلة للـ EMRSA15، وبعض العزولات لاسيما الذرية ST398 المرتبطة بالماشية تكون غير قابلة للتمييز بالـ PFGE.^[25]

- الـ Multilocus Sequence Typing (MLST)، اكتسبت شعبيةً مؤخراً، وتكون التسمية بالـ MLST هي ST متبوعة برقم كالـ ST398، وتُستعمل أيضاً في تجميع الـ MRSA إلى المعقدات النسلية (CC) Clonal Complexes (CC) كالـ CC398 تحتوي أنماط الـ ST ذات العلاقة الجينية (مثلاً تحتوي الـ CC8 عزولات الـ ST8)
- تمييز بروتين العنقوديات A (spa typing) اكتسبت شعبيةً مؤخراً أيضاً، وتكون التسمية بالـ spa typing "t" متبوعة برقم كالـ t011، وهي مفيدة لأنها تقدم تمييزاً أفضل بين العزولات مقارنة بالـ PFGE أو الـ MLST خلال الاستقصاءات الوبائية، لكن مشكلتها أن تلك السلالات غير ذات العلاقة يمكن أن تحوي أنماطاً spa متماثلةً، فعلى سبيل المثال (الـ CMRSA5 والـ CMRSA9 والـ CMRSA10 كلها تحوي spa النمط t008)، ولأجل الوصف التام يمكن أن تُميز العزولات بمشاركة عدة طرائق فمثلاً الـ MRSA ST8 t064 SCCmec IV هو نمط جيني وجد عند بعض الخيول.^[21، 25، 127]

يقترح كشف سلالات الـ MRSA المتباعدة بتقنيات التمييز الجزيئي المختلفة، أن الـ MRSA تنشأ من إدخال عنصر جيني متحرك كبير يُسمى الـ SCCmec إلى ذرية الـ MSSA، حيث يتوضع الـ mecA الذي يرمز الـ PBP2a ذات الألفة الناقصة تجاه الـ β -Lactams.^[4، 77]

أظهر تحليل أكثر من 3,000 عزولة من جنوبي أوروبا والولايات المتحدة وأميركا الجنوبية أن 70% تقريباً من العزولات يعود إلى 5 نسائل وبائية رئيسة وصفت بالنسائل الأيبيرية

(ST247-MRSA-IA)، والبرازيلية (ST239-MRSA-IIIA)، والهنغارية (-MRSA-ST239) (III)، نيويورك\يابان (ST5-MRSA-II)، والأطفال (ST5-MRSA-IV).^[109] أصبحت الـ (USA400، USA300) التسمية الشائعة حالياً للـ CA-MRSA، بينما تسمى الـ HA-MRSA بالـ (USA100، USA200)، كما أصبحت النسيلة USA300 واسعة الانتشار، حيث أظهرت دراسة لأطفال Houston أنها تشكل 90% من العزولات، بينما وُجدت النسيلة USA400 في حالات الالتهاب الرئوي النادر.^[128-130] مُيزت الأنواع الباثية من الـ MRSA في إنكلترا وويلز حتى 1995، وعلى الرغم من ذلك، كانت الـ (UK EMRSA-3، UK EMRSA-15، UK EMRSA-16) لا تزال تُذكر حتى القرن الماضي، حيث أظهرت الـ UK EMRSA-15 والـ UK EMRSA-16 السلوك الأكثر ديناميكية.^[4]

عُرف في نيوزلندا عام 2009 ثمانية ذراري مهيمنة من الـ MRSA، شكلت 85.7% من كل عزولات الـ MRSA ضمت الـ (AK3 MRSA، AKh4 MRSA، EMRSA-15، WR/AK1، USA300 MRSA، Queensland clone MRSA، EMRSA-16، WSPP MRSA، MRSA)، ووُجد أن الذراري (AK3 MRSA، WSPP MRSA، WR/AK1 MRSA) ارتبطت بشكل أكثر شيوعاً مع الأشخاص في المجتمع، بينما ارتبطت الـ EMRSA-15 مع مرضى المستشفيات.^[74]

تم تحديد عدد كبير من جينات الفوعة للـ Staph بواسطة الـ PCR باستعمال مبدأت primers مصممة لتضخيم الأهداف النوعية، والتي تضم الـ nuclease (nuc)، الـ coagulase (coa)، البروتين A (spa)، الـ femA، الـ femB، الـ Sa442، الـ 16S rRNA، الـ 23S rRNA، جينات البروتين الرابط للفيبرونوجين، جين ذيفان الصدمة السمية tst، جينات الذيفانات المعوية SEs، جينات الذيفان التقشري ET، الجينات المرمزة للـ PVL، كما تم كشف الجين المقاوم تجاه الـ methicillin (mecA)، إضافة إلى جينات مقاومة تجاه مضادات حيوية أخرى.^[11، 113]

يوجد الـ PVL عند أقل من 5% من الـ S.aureus بشكل عام ولكنه يُعد الصفة الشائعة للـ CA-MRSA، وهو الجين الذي يُنتج سلسلة من المواد الكيميائية التي تجعل الـ MRSA غزوية إضافةً لكونها مقاومة، ويترافق بعداوى الجلد والنسج الرخوة SSTIs، والالتهاب الرئوي

الذي يبدأ في المجتمع عند الأطفال والشباب، وقد تم وصفه لأول مرة من قبل Van de Velde عام 1984. [72، 113، 131، 132]

يحدث الـ PVL موت الكريات البيضاء عديدة النوى (PMNLs) عن طريق إحداث ثقوب تؤدي إلى النخر أو الموت الخلوي، كما يؤدي إلى التهاب موضعي وجذب كيميائي وانتشاح بالمعدلات، وإفراز الإنزيمات المخربة، وتوليد أيونات فوق الأكسيد التي تسبب تخر النسيج، وتنتج كل هذه التأثيرات عن الفعل التآزري للبروتينين (LukF-PV و LukS-PV)، وهكذا تُعتبر الـ CA-MRSA ذات فوعة عالية. [126، 125، 113]

سببت الـ CA-MRSA إيجابية الـ PVL قلقاً للصحة العامة بسبب فوعتها وقدرتها على التفشي في الأسر ومجموعات الاتصال الاجتماعية وانتشارها السريع في الكثير من البلدان، إضافةً لذلك فإنه منذ 2003 انتشرت بعض ذراري MRSA (تحمل الـ SCCmec نمط IV و V أيضاً) بين الماشية مبديةً إمكانية المنشأ الحيواني للـ MRSA، وسُميت هذه الذراري بالـ (LA-MRSA) Livestock-Associated MRSA. [27]

عُرف مؤخراً سيطرة بعض ذراري الـ MRSA إيجابية الـ PVL في مناطق معينة من العالم كالـ ST8-MRSA-IV (USA300) في الولايات المتحدة الأميركية، الـ ST80-MRSA-IV (النسيلة الأوروبية) في أوروبا والشرق الأوسط، الـ ST59-MRSA-V في تاوان، الـ ST93-MRSA-IV (نسيلة Queensland) في أستراليا، الـ ST30-MRSA-IV (نسيلة أوقيانوسيا) والـ ST772-MRSA-V في الهند، كما ذُكرت بشكل متزايد حالات أخرى خارج هذه المناطق، وقد عُرِى هذا في جزء منه إلى التنقلات البشرية. [27]

أظهرت عدة دراسات وبائية في الـ USA أن حمل جينات الـ PVL ارتبط بشكل وثيق بعداوى مسببة بذراري الـ CA-MRSA (60 – 100%)، فقد أظهرت دراسة في Minnesota عام 2000 أن 77% من عداوى الـ CA-MRSA عند المرضى كانت PVL^+ وأن 4% فقط من عزولات الـ HA-MRSA كانت PVL^+ ، كما أظهرت دراسة أخرى في تكساس عام 2003 أن 66% من 45 ذرية MRSA مُستعمرة أو مسببة لعداوى عند 812 مجند عسكري كانت PVL^+ ، إضافةً إلى أن أكثر من 70% من عزولات الـ MRSA من مساجين مقاطعة سان فرانسيسكو كانت PVL^+ ، وأن 69% من عزولات الـ MRSA من العيادات المتخصصة بمعالجة الـ SSTIs في عام 2000 كانت PVL^+ أيضاً. [72]

أثبتت دراسات من كثير من البلدان الأوروبية ظهور ذراري الـ CA-MRSA إيجابية الـ PVL والمولدة للـ SCCmec نمط IV، حيث وجد أن 22.2% (54/12) فقط من العزولات من مرضى بالـ CA-MRSA قدموا إلى المختبر الإيرلندي المرجعي في (1999-2005) كانت PVL⁺ [72]، كما أظهرت دراسة في ألمانيا على 4815 عزولة MRSA أرسلت بواسطة 145 مختبر إلى مركز مرجعي ألماني للعنقوديات في 2005 و 2006 وجود الجينات المرمزة للـ PVL بمعدل 1.8% و 3.1% على التوالي [82]، كما أظهرت دراسة في إيرلندا أن 1.8% (1,389 \ 25) من الـ CA-MRSA كانت PVL⁺ [125]، بينما أظهرت دراسة أجريت في فرنسا في الفترة من 1999 - 2001 على 593 عزولة S.aureus استلمت بواسطة French Reference Center for Staphylococcal Toxemia (FRCST) من المستشفيات الفرنسية، أن 83 عزولة من الـ S.aureus كانت PVL⁺، منها 14 عزولة كانت إيجابية الـ mecA والـ PVL معاً [133].

ذكر في تاويوان أن 28% من 204 من عزولات الـ MRSA مستعمرة للمنخرين عند الأطفال الأصحاء في 2005-2006 كانت PVL⁺ [72]، كما ذكر في كوريا الجنوبية في (2004-2005) أن عزولة واحدة فقط من 138 عزولة MRSA من المرضى بعدوى الـ CA-MRSA كانت PVL⁺، بينما ذكر في الصين أن 25 (12.8%) من 195 عزولة S.aureus من العينات السريرية وحيدة المركز في 2005-2006 كانت PVL⁺، وأن 30% (73\22) عزولة MRSA وجدت في مستشفيات الأطفال في 5 مدن صينية في 2005-2006 كانت PVL⁺ [72]، إضافةً لذلك أظهرت دراسة أجريت في 16 مؤسسة في كل أنحاء اليابان (2008-2009) على 857 عزولة سريرية من الـ MRSA أن 2% من الذراري كانت PVL⁺ وأن معظم العزولات كانت حساسة تجاه الـ VAN والـ TEIC [134].

وصف في أميركا اللاتينية 3 نسائل من الـ CA-MRSA الوبائية إيجابية الـ PVL هي الـ (MRSA ST30-IV، MRSA ST5-IV، MRSA ST8-IV) كُشفت الأولى والثانية في جنوبي أميركا الجنوبية أما الثالثة ففي شمالها [114].

أظهرت دراسة أجريت في نيجيريا على 68 عزولة S.aureus (60 سريرية، 8 أنفية) بين كانون الثاني ونيسان 2009 أن 57 عزولة كانت MSSA، بينما كانت 11 عزولة مقاومة تجاه الـ oxacillin تم إثبات أنها MRSA بالكشف عن جين الـ mecA، وكانت جميع العزولات

حساسية تجاه الـ VAN والـ TEIC، كما أظهرت أن 40.3% (57\23) من عزولات الـ MSSA كانت PVL⁺ (معظمها من الجروح)، بينما عزولات الـ MRSA كانت كلها PVL⁻ [135].

تم تمييز 720 حالة من الـ S.aureus إيجابية الـ PVL (224 في 2005، 496 في 2006) من عزولات المختبر المرجعي في إنجلترا وويلز يعود 62% منها لعزولات MSSA إيجابية الـ PVL. [126]

تحمل الـ MRSA المكتسبة في المجتمع أيضاً الموضع المقاوم تجاه الـ methicillin المسمى الـ SCCmec IV في كثير من الحالات، بينما تُظهر مستوى منخفضاً من المقاومة تجاه الـ oxacillin بالمقارنة مع الـ HA-MRSA، حيث أبدت الـ CA-MRSA أنها تنشأ من الـ MSSA إيجابية الـ PVL باكتساب الـ SCCmec. [113]

الـ (SCC) Staphylococcus Cassette Chromosome، هو عنصر DNA متحرك، قادر على مراقبة تكامله وحذفه من مواضع في المجين، يمكن أن يُنقل من جرثومة إلى أخرى مما يجعل الـ S.aureus تطور مقاومة تجاه المضادات الحيوية، وعندما يحتوي على الجين المقاوم تجاه الـ methicillin (mec) يُعرف بالـ SCCmec [46، 136] الذي يتكون من 3 مناطق هي:

- معقد الـ mec الحامل للـ mecA وجيناته التنظيمية (mecI، mecR1)
- معقد الـ ccr الحامل لجينات الـ cassette chromosome recombinases
- سلسلة الـ Junkyard المتغيرة أو المناطق J. [81]

لا يزال منشأ الـ SCCmec غير واضح لكن ذكر Weilders وزملاؤه أن الـ MRSA تتشكل بالانتقال الأفقي للـ mecA أثناء المعالجة بالمضادات الحيوية بين الـ S.epidermidis والـ S.aureus، وهذا يقترح أن الـ S.epidermidis هي مستودع الـ SCCmec. [4، 77]

العنصر mec، هو الجين المقاوم تجاه الـ methicillin، وهو جزء من غرز الـ DNA في صبغي الـ S.aureus، وسُلسل بشكل كامل من ذرية يابانية واحدة (N315)، وبالتالي يكون الـ mec عنصراً وراثياً متحركاً متميزاً من الـ integrons والـ transposons والجزر الممرضة والعناصر المتحركة الشبيهة بالعائية. [12]

تتألف سلسلة الـ *mec* الرئيسية من جين بنيوي ينتج الـ PBP2' هو الـ *mecA*، ومتولينين تنظيميتين أحدهما محرض يسمى الـ *mecR1* والآخر مثبط يسمى الـ *mecI*، وهي سلاسل مجانية على الجين تنظم تعبير الـ *mecA*، مع ترجمة زائدة للـ *mecA* محرضة بالتعرض للـ β -Lactams، حيث ذكر وجود تماثل بمعدل 60% تقريباً بين الـ (*mecI*، *mecR1*) والجينين *blaI*، *blaR1* (يتحكمان بتعبير الـ β -Lactamase عند الـ *S.aureus*). [12، 72، 137]

يكون جين الـ *mecA* وعناصره التنظيمية معقداً للـ *mec*، الذي طُور منه أصناف مختلفة أدت إلى ظهور ذراري MRSA بـ:

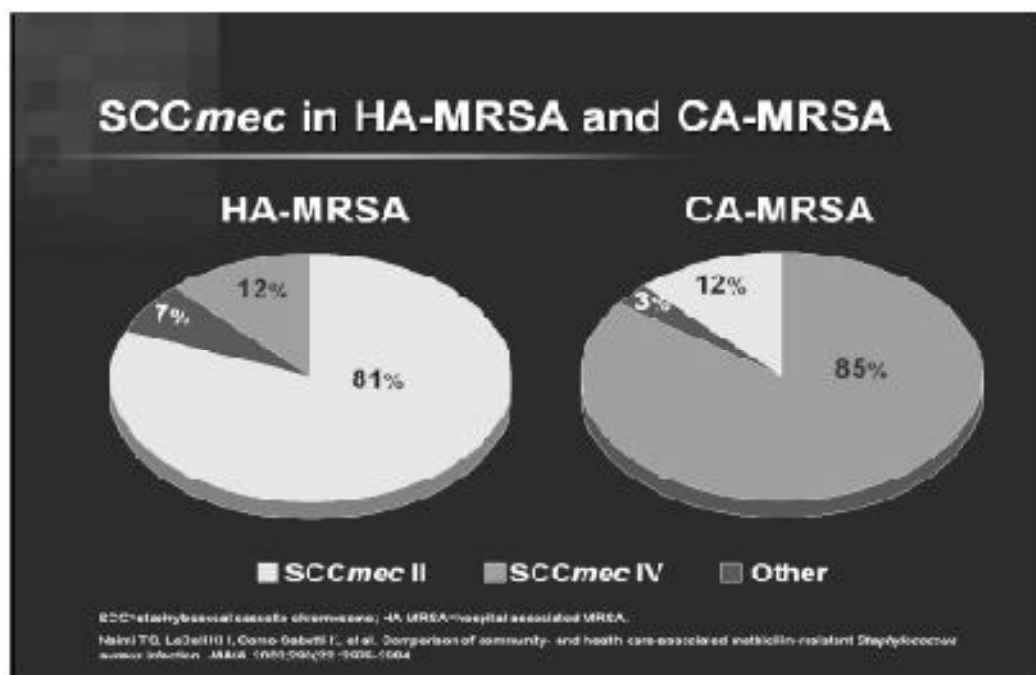
- معقد *mec* صنف A (يُظهر الـ PBP2a فقط عندما تُعرض بالـ β -Lactams)
- معقد *mec* صنف B (يُظهر بشكل جوهري الـ PBP2a)
- معقدين *mec* إضافيين صنف C و D [72]

يمكن لجين الـ *mecA* أن ينشأ عند أنواع من العقنوديات ترتبط بشكل وثيق بالـ *S.sciuri* (مكورات عنقودية حساسية تجاه الـ methicillin عند القوارض والثدييات البدائية الأخرى). [4، 70]

عُرف حتى التاريخ 9 أنماط رئيسية (ذكر موقع مجموعة العمل الدولية 11 نمط) من الـ SCCmec (VIII – I والـ V_T) تختلف وفقاً لمنشأ الذرية كما تختلف في الحجم (21kb – 67kb)، إضافة إلى ذلك وُصف عدد من الأنماط الفرعية استعمال الـ PCR لاسيما للـ IV (IVa، IVb، IVc) تختلف بسلاسل الـ DNA المتنوعة في منطقة بعد الجين downstream من الـ *mecA* [20، 70، 72]، وهذه التسمية التوافقية لأنماط الـ SCCmec أعدت من قبل لجنة من الخبراء الدوليين عام 2009، حيث يمكن أن يُساعد تمييز نمط الـ SCCmec في حالات تفشي الـ MRSA على تحديد فيما إذا كانت العدوى مكتسبة في المستشفى أو المجتمع. [72]

أظهرت ذراري الـ MRSA المرتبطة بالمستشفى والمجتمع تميزاً جينياً واضحاً فيما يتعلق باحتوائها على أنماط SCCmec، حيث يمكن أن تسبب الأنماط IV، V، VI، VII فقط مقاومة تجاه المضادات الحيوية من مجموعة الـ β -Lactam (CA-MRSA)، بينما تسبب الأنواع I و II و III مقاومة تجاه أصناف متعددة من المضادات الحيوية (HA-MRSA) نتيجةً لجينات مقاومة إضافية متكاملة مع الـ SCCmec (بمعنى آخر بلازميدات وينقولات transposon متكاملة)، إضافة لذلك

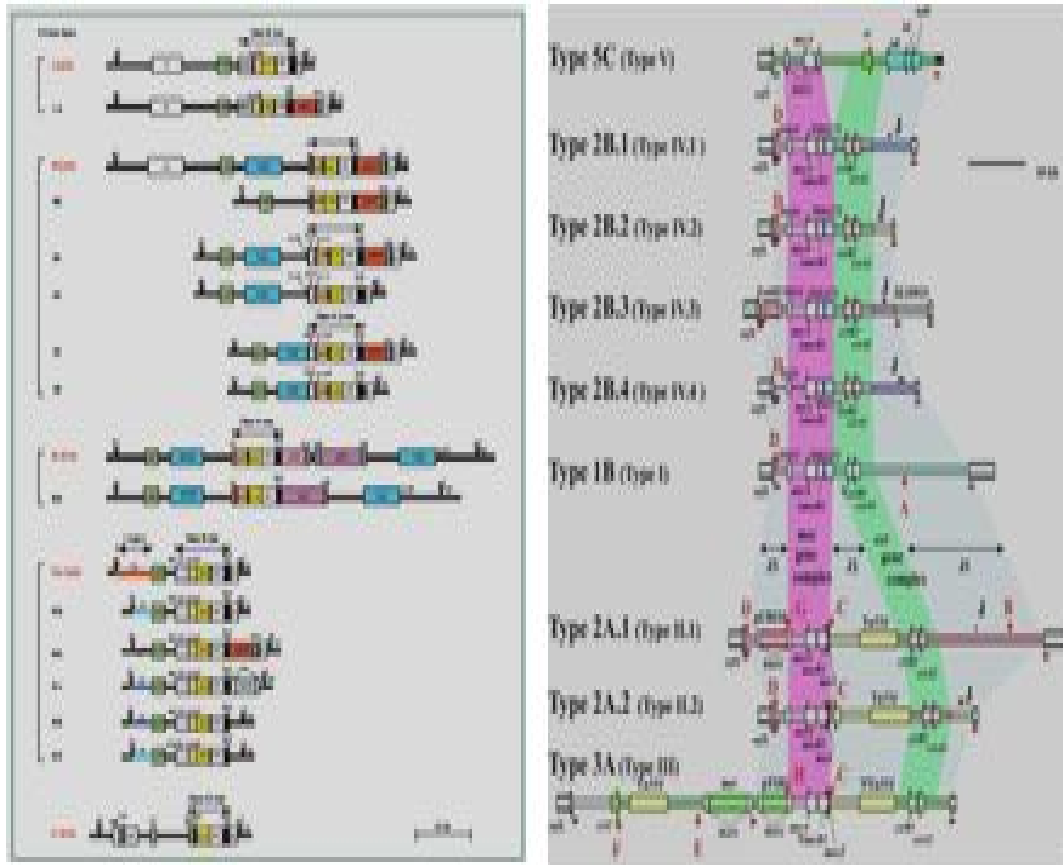
يحمل الـ SCCmec معقد الجين *ccr* (*ccrA*، *ccrB*، *ccrC*) الذي يرمز الـ recombinases المسؤولة عن حركية الـ SCCmec (الاستئصال والدمج إلى صبغي مضيف)^[27، 77]، وبشكل عام فإن أقل من 5% من ذراري الـ *S.aureus* التي تحمل أنماط الـ SCCmec (III-I) تحمل أيضاً جين الـ PVL مع بعض الاستثناءات، و 40 – 90% من الـ *S.aureus* التي تحمل النمط IV تحمل أيضاً جين الـ PVL.^[25، 45، 128]



شكل 10. يبين الـ SCCmec عند الـ HA-MRSA و الـ CA-MRSA

لاحظت عدة دراسات أن الـ CA-MRSA يمكن أن تخفي أيضاً الـ SCCmec (I، II، III)، بالرغم من أن غالبية عزولاتها تخفي الـ SCCmec (IV، V أو VII)، ومع ذلك استنتجت أغلب الدراسات أن وجود الـ PVL سوية مع الـ SCCmec (IV أو V)، إضافةً إلى خلفية جينية نوعية تُعد الوصفة الوراثية Genetic Marker لأجل الـ CA-MRSA.^[77]

تكون قابلية التغير شائعة مع عناصر المقاومة المرتبطة بالأنماط I، II، III، بينما لم تشاهد هذه القابلية في التغير مع الأنماط V، IV،^[27، 58، 77] حيث تقترح التغيرات الشديدة للخلفية الجينية عند ذراري الـ CA-MRSA، والحجم الصغير (20-24Kb) لأنماط الـ SCCmec (IV، V) قابلية الانتقال للأنماط الأليلية للـ SCCmec بين العنقوديات في المجتمع (من ذراري MRSA أو حتى CoNS إلى ذراري MSSA) بشكل أسرع من أنماط الـ SCCmec الكبيرة الحجم (34-67 Kb).^[72، 77]



شكل 11. يبين رسم تخطيطي يبين التنظيم الجيني لأنماط الـ SCCmec (V-I) ومغايراتها

تتضمن الأنماط II و III مواقع تُسمى ببعض مناطق الـ junkyard لغرس الجينات المانحة أنماطاً ظاهرية للمقاومة تجاه المضادات الحيوية غير الـ β -Lactams إلى ذراري الـ S.aureus ولذلك تترافق بشكل أكثر شيوعاً مع الأنماط الظاهرية للمقاومة متعددة الأدوية، بينما وجود النمط IV والذي يفقد الجينات المانحة للمقاومة تجاه المضادات الحيوية غير الـ β -Lactams، يمكن أن يعلل لأجل تناقص احتمالية أن تكون ذراري الـ CA-MRSA متعددة المقاومة تجاه الأدوية.^[72]

يمكن أن يكون لدى الأطفال خطورة أعلى للعدوى بالعزولات المولدة للـ SCCmec نمط IV من البالغين، فقد أظهرت إحدى الدراسات التي أجريت في مستشفيات جامعة شيكاغو في (2004-2005) أن الأطفال كان لديهم إمكانية أكثر من البالغين للعدوى بالذراري التي حملت النمط IV وجينات الـ PVL وبالذراري التي كانت حساسة تجاه المضادات الحيوية غير الـ β -Lactam، كما أثبت الترصد في أحد مستشفيات كوريا الجنوبية في (2003-2005) أن الأطفال كان لديهم إمكانية أكثر للعدوى بالذراري المولدة للنمط IV (68% من الذراري ST72

المولدة للنمط IV، و6.8% من الذراري ST5 المولدة للنمط II)، بينما كان لدى البالغين إمكانية أكثر للعدوى بالذراري المولدة للنمط II (12% ذراري ST72، 58% ذراري ST5).^[72] كان التركيز في السنوات الأخيرة على العدوى المسببة بالـ MRSA لاسيما تأثيراتها السريرية والاقتصادية مقارنةً مع عدوى الـ MSSA، باعتبار أن عدوى الـ MRSA يُمكن أن تكون أعلى وأصعب معالجةً من عدوى الـ MSSA، كما أدى الظهور السريع للعدوى المسببة بالـ CA-MRSA إلى الاهتمام بالـ MRSA دون التركيز على الـ MSSA، والتي تُعد السبب الأكثر شيوعاً لتجرثم الدم من الـ MRSA في أجزاء مختلفة من العالم^[138]، فقد ذكرت دراسة أجريت في إيران من تموز إلى تشرين الثاني عام 2006 في مستشفى Namazi معدلات بلغت 42.4%، و23.5% من الـ MRSA والـ MSSA على التوالي عند مرضى كان لديهم عدوى بالـ S.aureus.^[37]

يمكن لذرية الـ MSSA إيجابية الـ PVL أن تُشابه الـ CA-MRSA في قدرتها على إحداث تفشي لعدوى الجلد في المستشفيات والمجتمع، إذ يمكن لعدوى الـ MSSA أن تتصف بخصائص وبائية وسريرية مشابهة لعدوى الـ MRSA، وبالرغم من أن وجود جينات الـ PVL تعد ظاهرة حديثة لكنها غير مُحددةٍ للـ MRSA فقط، فإن عزولات الـ MSSA تاريخياً (جائحة Oxford staphylococcus في الخمسينات والستينات) أخفت جينات الـ PVL.^[139] أظهرت دراسة أجريت في الصين على 466 عزولة من الـ S.aureus (302 من الـ MRSA و164 من الـ MSSA) بين كانون الثاني 1994 وكانون الأول 2008 أن عزلتين من الـ MRSA و9 عزولات من الـ MSSA كانت PVL⁺^[86]، إضافةً إلى أن عدداً كبيراً من التجارب السريرية الوطنية التي أجريت خارج الولايات المتحدة أظهرت أن عزولات الـ S.aureus إيجابية الـ PVL يمكن أن تكون MSSA أكثر من كونها MRSA، لكن تبقى وبائية الـ MSSA إيجابية الـ PVL غير معروفة والكمون الممرض هو بشكل محتمل دون التقدير.^[139]

وأخيراً يمكن أن نُجمل أهم الاختلافات بين الـ HA-MRSA والـ CA-MRSA^[69، 125، 126] في الجدول التالي:

الخصائص	الـ HA-MRSA	الـ CA-MRSA
التظاهرات السريرية الرئيسية	عداوى الجروح بعد العمليات الجراحية، التهاب العظم والنقي، التهاب رئوي، تجرثم دم.	عداوى الـ SSTIs (مسيطرة)، خراجات، التهاب رئوي ناخر، التهاب اللقافة ناخر، الصدمة الإنتانية، تجرثم دم
الأنماط الجينية: نمط الـ SCCmec وجود جين الـ PVL نمط جيني agr	كبيرة I، II أو III نادر (>5%) II (مسيطر)	صغيرة IV (رئيس)، V (أحياناً) متواتر (<95%) I، III (مسيطرة)
الميكروبيولوجية: الحساسية للـ methicillin الحساسية لمضادات حيوية أخرى	No No	No Yes (غالبية الحالات)
عوامل الخطورة	أدوات أو قثاطر مسـتـقـرة indwelling، قثاطر، استشفاء طويل الأمد، استعمال طويلة الأمد للمضادات الحيوية	التماس مع أفراد معدين، الآليات السحجية، النظافة العامة السيئة كمشاركة المناشف
السكان المتأثرون	مرضى المستشفيات، مرضى الرعاية الصحية، مرضى دور المسنين، الخدج، منقوصي المناعة	الصغار الأصحاء في المجتمع، من ليس لديهم عوامل خطورة لاكتساب الـ HA-MRSA، المسجونين، أفراد الجيش، الرياضيين، الذكور المثليون، العرق (الهنود الأمريكيون الأصليون، سكان جزر هاواي وألاسكا الأصليون)
الانتقال	- انتشار شخص لشخص: طاقم الرعاية الصحية (ممرضات، أطباء، جراحون، معالجون طبيعـيون)، الزوار، المرضى - انتشار من البيئة إلى المريض كأدوات المستشفى	- انتشار شخص لشخص - الأدوات المشـتركة (رياضة، مناشف،... الخ) - انتشار من البيئة إلى شخص
الوقاية	التقصي عند أوقـبـل القبول في المستشفى، معالجة الاستعمار، إجراءات النظافة في مؤسسات الرعاية الصحية.	غسيل الملابس، أغطية الأسرة والمناشف لدرجة حرارة فوق 60°م قدر الإمكان، معالجة الاستعمار

جدول 3. يبين مقارنة بين الـ HA-MRSA والـ CA-MRSA

تُعد معالجة العدوى المحدثه بالـ MRSA مكلفة جداً، حيث يُعد طول فترة الإقامة في المستشفى العامل الرئيس الذي يُساهم في زيادة التكاليف، ففي الولايات المتحدة تقترح دراسات حديثة أن تكاليف المستشفى الزائدة هي بين 1.5 - 4.2 بليون دولار، وأن التكاليف الطبية المباشرة لكل مريض هي بين 27,000 و 35,000 دولار، بينما قدرت التكاليف الإجمالية للمستشفى في الـ UK لانتشار الـ MRSA بإجمالي 403,600 جنيه استرليني.^[42]

أشارت دراسات حديثة من أوروبا إلى أن متوسط التكاليف الزائدة لكل مريض إيجابي الـ MRSA هي بين 5,700 و 10,000 يورو، كما أن العدد الكبير من حملة الـ MRSA في أوروبا والولايات المتحدة الأميركية يضيف أعباءً ماليةً للرعاية الصحية في هذه المناطق تُقدر ببلايين اليوروات أو الدولارات، إضافةً إلى التكاليف الإضافية التالية للخروج من المستشفى والتي يختلف تقديرها من مكان لآخر.^[27، 42]

نظراً لما تسببه عدوى الـ MRSA من أعباءٍ اقتصاديةٍ تنعكس على الفرد والمجتمع، تُعد دراسة انتشارها باستعمال طرائق دقيقة وسريعة وإثبات التحسس تجاه العوامل المضادة للميكروبات أساسية لأجل للعلاج المناسب والتنفيذ الناجح لإجراءات المراقبة والسيطرة على العدوى، إضافةً إلى إنقاص معدلات المراضة والوفيات، ومع كل ذلك تبقى الطريقة المثالية للكشف صعبة.^[140، 141]

الطرائق المعتمدة للكشف عن الـ MRSA:

يمكن أن نُميز مجموعتين من طرائق الكشف عن الـ MRSA:

أولاً: الطرائق التقليدية Traditional Methods

يعتمد تمييز الـ MRSA بشكل تقليدي على الزرع، حيث تُلقح مسحات العينات على أوساط انتقائية أو غير انتقائية مع أو دون مرق مغذي، كما يجب إجراء التمييز اللاحق واختبارات الحساسية لمستعمراتها.^[142]

تعمل جميع طرائق اختبارات التحسس عن طريق تعريض الذرية الجرثومية المختبرة إلى تراكيز مختلفة من المضاد الحيوي كي يتم تقييم التركيز الأدنى الذي يُثبط الميكروب بعد 24 ساعة من الحضانة^[143]، وهناك عدد كبير من اختبارات التحسس المتوفرة لدى المختبرات لأجل الكشف عن المقاومة تجاه الـ (MRSA\ORSA) methicillin\oxacillin، تختلف بحساسيتها ونوعيتها نذكر منها:

▪ اختبار المرق الممدد (BMD) Broth Microdilution، هو الاختبار المعياري لقياس الـ MICs للمضادات الحيوية.^[143]

▪ الانتشار القرصي (DD) Disc Diffusion، يُستخدم لقياس التحسس تجاه المضادات الحيوية، لكنه لا يعتبر الآن مثالياً، ولا يقيس الـ MIC بشكل مباشر، وبالرغم من توفر بعض الأنظمة التجارية للكشف عن المقاومة تجاه الـ methicillin واستعمال الطرائق الآلية بشكل متزايد، إلا أن طرائق الانتشار القرصي تبقى الأكثر استعمالاً في المختبرات السريرية الروتينية^[11، 143]، والتي نذكر منها مايلي:

- الـ (ODD) Oxacillin Disc Agar Diffusion

- الـ (CDD) Cefoxitin Disc Diffusion، يكون أكثر وثوقية من اختبار قرص

الـ oxacillin تجاه عزولات الـ MRSA

- الـ E-test، يملك دقة أكبر من طرائق الانتشار القرصي الأخرى سامحاً بتحقيق

الـ MIC الدقيق، وهو مناسب أيضاً لأجل الـ Glycopeptides، والجزئيات

الضخمة من المضادات الحيوية الأخرى^[143]

- الـ (OSS) Oxacillin Salt Screening test^[11، 46، 140]

▪ الـ (MSLA) MRSA Screen Latex Agglutination، طريقة بسيطة وسريعة، لا

تتطلب أدوات نوعية، وهي مناسبة لتأكيد المقاومة أو الاختبارات الملتبسة في المختبرات

الروتينية، لكنها تظل غالية الثمن في البلدان النامية مقارنةً مع الطرائق التقليدية

الأخرى.^[11، 140]

يبقى الزرع الجرثومي واختبارات التحسس بطرائق النمط الظاهري الطرائق الشائعة للكشف

عن المقاومة تجاه مضادات الجراثيم في المختبرات السريرية لاسيما في البلدان النامية.

تستهلك الطرائق التقليدية الكثير من الوقت والزمن الكلي طويل من 2-5 أيام (على الأقل 48

ساعة)، وهذا يعني انقضاء معظم الوقت الحرج بالنسبة للمرضى، الذين لا يتم عزلهم في كثير من

البلدان إلا عندما يكونوا إيجابيين الـ MRSA فقط، وبالتالي يكون خطر انتقالها مرتفعاً، لكن هذه

الطرائق تتطلب خبرة أقل، وهي رخيصة الثمن نسبياً مقارنةً مع الطرائق الجزيئية.^[142، 144، 145]

تبقى هذه الطرائق صعبة في كشف الذراري التي تُظهر مقاومة ذات مستوى منخفض تجاه

الـ oxacillin نظراً لأن الـ ODD والـ OSS لا يمكنها تمييز العنقوديات الذهبية المقاومة

الحدية BRSA من الـ MRSA، ولأنها تُظهر في كثير من الذراري مقاومةً متغيرةً (نسبة من الخلايا تظهر مقاومة بينما تبقى أخرى حساسة)، كما أنها تتأثر بظروف الزرع (درجة حرارة الحاضنة، كثافة اللقيحة الجرثومية، الوسط، الـ pH، تركيز الـ NaCl)، إضافةً إلى أن بعض اختبارات التحسس يمكن أن تُفُطر في تقدير المقاومة تجاه الـ methicillin (يمكن أن تظهر العزولات التي لا تحمل الـ mecA أنها مقاومة بشكل ظاهري تجاه الـ methicillin). [140، 25، 6]

نظراً لأن بعض العزولات تؤدي إلى نتائج متضاربة كالعزولات إيجابية الـ mecA متغيرة المقاومة، والعزولات بآليات مقاومة غير الـ mecA التي تؤدي إلى مقاومة منخفضة المستوى تجاه الـ oxacillin، فإن الكثير من المختبرات يُمكن أن تستعمل عدة اختبارات بشكل مترام كإجراء مقارنة طرائق النمط الظاهري المتوفرة حالياً مع طرائق كشف جين الـ mecA باستعمال الـ PCR. [147، 146، 11]

■ أوساط الزرع الانتقائية، تستخدم العديد من أوساط الزرع الانتقائية للتحري عن الـ MRSA كالـ Manitol salt agar مع الـ oxacillin، والـ Chromogenic media، فهي تُنقص زمن تمييز الـ MRSA من (2-3 أيام) إلى 16 ساعة مقارنةً مع الزرع التقليدي، كما يمكن أن تتحسن حساسيتها عندما تطول مدة الحضانة من 24-48 ساعة، وهي رخيصة نسبياً، وتتطلب خبرة تقنية أقل من الاختبارات الجزيئية ويمكن أن تكون مفيدة في حالة العدوى المختلطة بالـ MSSA والـ MRSA والتي يمكن أن تلتبس باستعمال أوساط الغراء غير الانتقائي. [148، 142، 46]

■ الطرائق الآلية Automated methods، تتضمن أنظمة تلقائية كالـ: (الـ Vitek GPS-SA card، الـ Phoenix، الـ Rapid ATB Staph system، الـ Rapid Microscan Panel system)، وهي تكشف المقاومة تجاه الـ methicillin والـ OXA مع حساسية موثوقة تصل إلى أكثر من 96%، وتزود بنتائج بعد 3.5-11 ساعة تقريباً، لكنها تبقى من طرائق النمط الظاهري التي يمكن أن تتأثر دقتها بانتشار الذراري التي تُعبر عن المقاومة المتغيرة. [143، 110]

يمكن أن يقود الخطأ في الكشف عن الـ MRSA باستعمال الطرائق التقليدية إلى عواقب سريرية غير مرغوبة، فالنتائج الكاذبة في كشف الحساسية تقود إلى فشل المعالجة، وانتشار

الـ MRSA نتيجة فشل إجراءات المراقبة المناسبة، بينما يمكن أن تؤدي النتائج الكاذبة في كشف المقاومة إلى زيادة تكاليف الرعاية الصحية، وفرط استعمال العوامل المضادة للميكروبات.^[140]

يمكن لاختبارات التحسس تجاه الـ methicillin/oxacillin أن تعطي نتائج ملتبسة، لذلك فهي بحاجة للإثبات والتمييز بواسطة طرائق بديلة تكون مناسبة كتطوير مقاييسات سريعة وحساسة معتمدة على الـ DNA، ولهذا كله فإن الطرائق المعيارية الذهبية حالياً للكشف عن المقاومة تجاه الـ methicillin هي التي تعتمد على الـ PCR أو الـ DNA hybridization في الكشف عن جين الـ mecA، وهذا يقودنا أولاً إلى تعريف الـ PCR.^[11]

الـ PCR، هو تقنية مخبرية تم اكتشافها عام 1987 بواسطة Kary Mullis (ربح جائزة نوبل) وشركاؤه، تعمل على تضاعف نسخ الـ DNA في الزجاج، وبالتالي فهو تقنية هامة لاستتساخ قطعة محددة من الـ DNA وتكثير إنتاجها كي يتسنى إجراء اختبارات وفحوصات إضافية عليها.^[149]

ثانياً: الطرائق الجزيئية Molecular methods

تكشف الطرائق الجزيئية ذراري الـ MRSA اعتماداً على كشف جين الـ mecA الذي يرمز الـ PBP2a ويُقص ألفتها تجاه الـ β -Lactams باستعمال الـ PCR، وهي طريقة معيارية دقيقة وسريعة وفورية، ويمكنها كشف الـ MRSA خلال 2-4 ساعات، ومع ذلك فهذه الطريقة متوفرة فقط في بعض المختبرات الخاصة وتتطلب أشخاصاً ماهرين، كما أنها غالية الثمن نسبياً، مما أجبر الكثير من البلدان النامية على إعادة تقييم الاختبارات التقليدية المختلفة والمتوفرة لاختيار الأفضل لاستعمالها مكان الكشف عن الجين mecA.^[6، 120، 140]

ليس بالضرورة أن جميع العزولات التي تكون مقاومة بالطرائق التقليدية حاوية جين الـ mecA، فقد تكون مقاومة ومحتوية أو مقاومة وغير محتوية^[150، 151]، ومع ذلك، فمن الواضح في الوقت الحاضر أن أعباء التكاليف الإضافية لهذه الاختبارات والأعداد الكبيرة ومجال العينات السريرية التي تصل إلى المختبرات التشخيصية جعل الطرائق الجزيئية تستعمل فقط للتمييز والإثبات النوعي للـ S.aureus عندما تُعطي الطرائق الأخرى نتائج ملتبسة أو مع العينات السريرية حيث هناك شك كبير من عدوى بالـ MRSA.^[11]

تعتمد طريقة الكشف عن الـ MRSA باستخدام جهاز الـ PCR على تحضير عينة من الـ DNA، وخلطها مع مبدآت خاصة تُضخّ باستخدام جهاز الـ PCR، ثم تتم عملية إظهار منتجات التفاعل باستخدام مواد خاصة سوف تُذكر لاحقاً في القسم العملي.^[152]

طورت العديد من مقاييسات الـ PCR للكشف عن ذراري الـ MRSA نذكر منها:

- مقاييسات الـ Multiplex PCR، أصبحت مقاييسات التحري السريعة والملائمة لتضخيم أكثر من موقع بشكل متواقت في كل من المختبرات السريرية والبحثية^[46، 153]
- مقاييسات الـ Quadriplex PCR، تستهدف جينات الـ 16S rRNA، الـ nuc، الـ mecA، الـ mupA لتمييز الـ S.aureus من الـ CoNS، ولكشف المقاومة تجاه الـ methicillin والـ mupirocin
- مقاييسات الـ Triplex PCR، تستهدف جينات (nuc، mecA، 16S rRNA) لأجل الـ MRSA من مزارع الدم^[89، 144]
- مقاييسات الـ Duplex PCR، تكشف جينات (femB، mecA)^[154]
- مقاييسات الـ Real-time PCR، أنقصت الوقت اللازم لكشف الـ MRSA مقارنةً مع مقاييسات الـ PCR المعتمدة على الهلام وطرائق الـ Chromogenic agar، كما أن خطورة التلوث تكون أقل^[39، 144، 152]
- مقاييسات الـ BD GeneOhm MRSATM PCR، كانت تسمى سابقاً بالـ IDI-MRSATM، وهي مقاييسات الـ real-time multiplex PCR، يمكنها الكشف عن الـ MRSA مباشرة من عينات المنخريين الأمامين^[46، 141، 145]
- الـ MRSA GENEXPE^{RT®}، هي مقاييسات الـ real-time PCR جيل ثاني جديدة متكاملة وآلية بشكل كامل لكشف الاتصال SCCmec-orfX، وهي حالياً الأكثر سرعة من كل الطرائق التجارية، وتكشف عن الـ MRSA من عينات المنخريين الأمامين^[46، 141، 142]
- الـ Geno Type MRSA Direct، مقاييسات للكشف المباشر عن الـ MRSA من مسحات الأنف والبلعوم والجلد والجروح، والنسخة المحدثّة منها هي مقاييسات الـ GenoQuick MRSA dipstick التي تُنقص الزمن من 4 ساعات إلى ساعتين و20 دقيقة.^[46]

التدابير العلاجية المتبعة

تتطلب عدوى الـ *S.aureus* الخطيرة معالجة شديدة متضمنة الشق والنزح للآفات السطحية (دمامل، خراجات)، إضافةً إلى مضادات حيوية جهازية، وهناك صعوبة في اختيار المضادات الحيوية نتيجة ظهور المقاومة المتكررة تجاهها من قبل هذه الجراثيم. [72، 126]

يعد الـ VAN المضاد الحيوي المختار لمعالجة عدوى الـ MRSA، كما يمكن معالجة الكثير من العدوى الخفيفة ونجاح بالـ trimethoprim-sulfamethoxazole إذا تم إثبات الحساسية باختبار الزرع والتحسس الجرثومي. يجب تجنب الاستعمال غير الضروري للمضادات الحيوية عند كل المرضى كون الاستعمال غير الضروري يؤدي إلى زيادة ظهور مقاومة الـ MRSA والجراثيم الأخرى تجاه المضادات الحيوية. [72]

يمكن للمكافحة البيولوجية أن تكون طريقة جديدة لمكافحة الـ *S.aureus*، حيث أشارت دراسة في 2011 أن استعمار سطوح الجسم لا سيما الأنف بالـ *S.epidermidis* (الذرية المثبطة JK16) يُضعف نشأة الـ *S.aureus*. [155]

يمكن أن يؤدي التخلص من الحمل الأنفي سواء في المجتمع أو المستشفيات إلى إنقاص خطر العدوى اللاحقة، إضافةً إلى أنه يمكن أن يُبطئ من انتشار ذراري الـ *S.aureus* المقاومة تجاه الأدوية. [156]

يُعد الـ mupirocin مضاداً جرثومياً موضعياً بفعالية مضادة للعنقوديات، وهو العامل المختار لاستئصال استعمار الأنف بالعنقوديات عند المرضى والعاملين في الرعاية الصحية أثناء تفشي الـ MRSA المستعمرة، حيث يجب أن يطبق مرهم الـ mupirocin مرتين يومياً في المنخرين الأمامين لمدة 3 – 5 أيام، كما يمكن أن يستعمل في المعالجة الموضعية للقوباء أيضاً. يقوم الـ mupirocin بربط الـ isoleucyl tRNA synthetase (IRS) الجرثومية، وبالتالي يُثبط اصطناع البروتين. [4، 156، 157]

يمكن لعودة الاستعمار بالـ *S.aureus*، وإمكانية تطور المقاومة تجاه الـ mupirocin أن تحدث بشكل شائع أثناء معالجة الاستعمار بالـ mupirocin، حيث يمكن أن تُقسم المقاومة تجاهه إلى منخفضة المستوى تتعلق بالتبدلات في IRS المضيف (تُرمز بالطفرات في جين ileS) وعالية المستوى (تُرمز بالجين mupA) وتحمل على بلازميدات مختلفة في الحجم. [77، 157، 158]

البنسيلينات المضادة للعنقوديات (ال- penicillinase- resistant penicillins)

هي ال- Penicillins المقاومة للانحلال بال- Penicillinase، وتضم ال- (methicillin، nafcillin، oxacillin)، وتُستعمل لمعالجة عداوى العنقوديات المنتجة لل- Penicillinase. تثبط ال- β -Lactams إنزيمات ال- Penicillin binding proteins (PBPs) المسؤولة عن الارتباط التصالبي لطبقة ال- peptidoglycan في جدار الخلية الجرثومية، مما يؤدي إلى عزز الخلية عن مقاومة المدروج التناضحي بين داخلها وبيئتها، وبالتالي إنحلالها وموتها. [25، 159، 160]

تُمتص هذه العوامل بشكل سريع ولكن غير كامل 30-80% من السبيل الهضمي، ويكون الامتصاص أكثر فعالية على معدة فارغة (يفضل إعطاؤها قبل ساعة أو بعد ساعتين من الطعام) وترتبط مع ألبومين البلازما بنسبة 90-95%، ولا تُزال من الدوران بالتحال الدموي.

تُطرح ال- β -lactams بشكل رئيس عن طريق الكلية وبشكل ثانوي عن طريق الصفراء، ويترأخ نصف عمرها بين 30-60 دقيقة ولا تحتاج لضبط الجرعة في القصور الكلوي. [160]

يُعد ال- methicillin مضاد حيوي من مجموعة ال- β -Lactams محدود الطيف من صنف ال- penicillins، أُدخل عام 1959 كأول penicillin مقاوم لل- Penicillinase. [46]

استعمل ال- methicillin سابقاً لمعالجة عداوى العنقوديات المنتجة لل- β -Lactamase، لكنه لم يُسوق طويلاً بسبب سميته واستعمال penicillins (oxacillin، flucloxacillin، dicloxacillin) مماثلة أكثر استقراراً طبياً [46]، وعلى الرغم من أن ال- methicillin لم يعد يُستخدم حالياً في المعالجة فإنه كان يُعد أول penicillin مقاوم لل- Penicillinase عُرف في ذلك الوقت كأكثر عامل ثقة لاختبارات التحسس الروتينية، ثم استعمل لاحقاً ال- oxacillin كبديل عنه في اختبارات التحسس، مما أدى إلى ظهور مصطلح جديد هو العنقوديات الذهبية المقاومة تجاه ال- oxacillin (ORSA)، وهكذا استخدمت هذه التسميات بشكل متبادل في الأدب. [11]

يُستعمل ال- methicillin وال- oxacillin كمُشعرات عن المقاومة تجاه كل عوامل ال- β -Lactams، بينما تُشير ال- S.aureus إيجابية ال- PBP2a أو إيجابية ال- mecA إلى ال- MRSA أو ال- ORSA، كما أن وجود الجين mecA يكون مطلوباً بشكل مطلق لل- S.aureus كي تُعبر عن المقاومة تجاه ال- methicillin. [27، 161]

تعتمد آلية مقاومة الـ *S.aureus* تجاه الـ methicillin على اكتساب واحد من عناصر الـ SCCmec العديدة التي تحمل جين الـ *mecA* الذي يرمز الـ PBP2a ذات الألفة المنخفضة تجاه المضادات الحيوية من مجموعة الـ β -lactam [163، 162، 46].

تنتمي الـ PBP2a (الـ transpeptidase) إلى مجموعة إنزيمات الاصطناع الحيوي المسؤولة عن تركيب مكون الـ Peptidoglycan في جدار الخلية الجرثومية، حيث تقوم بمساعدة موقع الـ transglycosylase في الـ PBP2 (إنزيم ثنائي الوظيفة بفعالية الـ transpeptidase والـ transglycosylase) في الاصطناع الحيوي لجدر الـ *S.aureus*.

عندما تتعرض الـ MRSA للـ methicillin، فإن وظائف الـ PBP2 تماثل فعالية الـ transglycosylase، بينما الـ PBP2a تقدم فعالية الـ transpeptidase لكي تمنح مقاومة تجاه جميع المضادات الحيوية من مجموعة الـ β -Lactam تقريباً، وبالتالي فإن إزالة وظيفة الـ transglycosylase من الـ PBP2 يمنح حساسية تجاه الـ β -Lactams [158، 53].

يمكن أن تشارك عوامل جينية إضافية في التعبير عن المقاومة تجاه الـ methicillin، وهي جينات خدمة وتنظيف مسؤولة عن اصطناع جدار الخلية الطبيعي، وقد مُيز منها ما هو مرتبط بشكل وثيق بنيوياً بالـ femA، والـ femB، حيث يكون البروتين FemB مسؤولاً عن ربط الـ glycines (4 و 5) إلى الجسر بين الببتيد، بينما يكون الـ FemA مسؤولاً عن إضافة الـ glycines (2 و 3). [11، 12، 159]

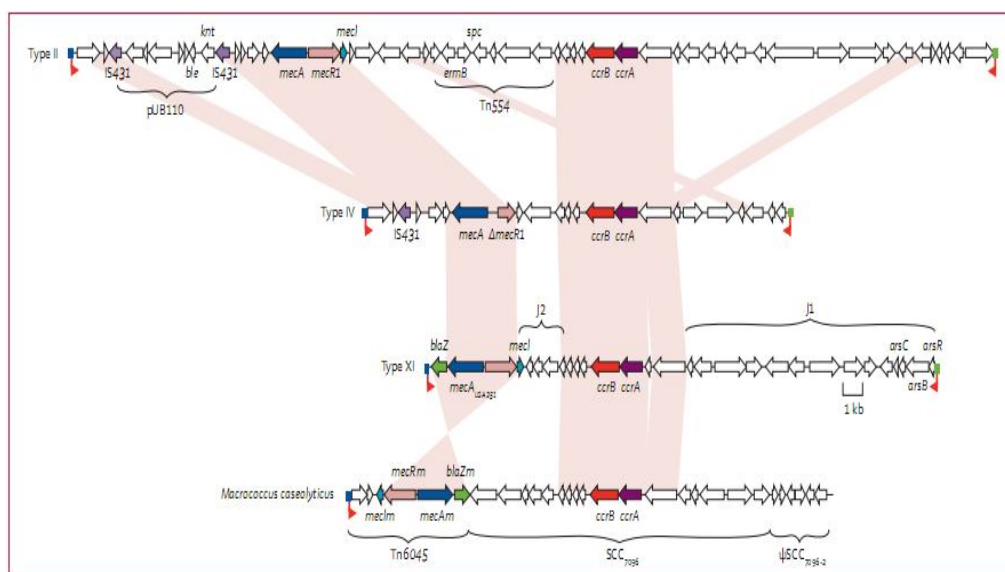
تحمل الذراري الحساسة من حين لآخر *mecA* غير وظيفي أو غير تعبير (يمكن أن يكشف أيضاً)، لكن وجوده عموماً يجب أن يأخذ بعين الاعتبار إمكانية المقاومة، كما وصفت عناصر SCCmec جديدة إضافية يمكن أن تشير إلى إمكانية تطور مستمر للمقاومة تجاه المضادات الحيوية عند الـ *S.aureus*. [11، 27]

اكتشفت مؤخراً ذراري *S.aureus* عند جمهرة من البشر والبقر في الـ UK والدنمارك كانت ظاهرياً مقاومة تجاه الـ methicillin لكنها كانت سلبية جين الـ *mecA* بالـ PCR، وقد عزيت المقاومة عند هذه الذراري إلى حملها لمماثل جديد لجين الـ *mecA* سمي بالـ *mecA*_{LGA251} مرمز في شريط جديد من الـ SCCmec نمط XI.

يُبدى الـ *mecA* الجديد (*mecA*_{LGA251}) فقط 70% تطابق عند مستوى الـ DNA و 63% تطابق عند مستوى البروتين لجين الـ *mecA* الموصوف سابقاً، وهو غير قابل للكشف

بطرائق الـ PCR الروتينية الخاصة بالـ *mecA* واختبارات الـ Slide agglutination لكشف الـ PBP2a، وعلى الرغم من أن الزرع الروتيني واختبارات الحساسية تجاه مضادات الميكروبات يمكنها أن تميز ذراري الـ *S.aureus* إيجابية الـ *mecA*_{LGA251} كعزولات مقاومة تجاه الـ methicillin، فإن الطرائق المؤكدة المتوفرة حالياً لتمييزها كـ MRSA، وهذا يمكن أن يقود إلى تشخيص خاطيء للـ MRSA على أنها حساسة للـ methicillin، لكن استعمال مبدأت PCR جديدة وإنتاج أضداد وحيدة النسيلة جديدة سوف يعالج هذه المشكلة.

أظهرت النتائج أن معدلات كشف الـ MRSA إيجابية الـ *mecA*_{LGA251} زادت بشكل جوهري بين عامي 2007 و2010، حيث ذكرت وجود المصاهيئ *mecA*_{LGA251} عند 12 و16 عزولة من أسكتلندا، 15 و26 من إنجلترا، 24 و32 من الدنمارك بين عزولات الـ MRSA سلبية الـ *mecA* البشرية، وإن اكتشاف هذا الجين عند عزولات الـ MRSA المزروعة من الدم ومناطق الجروح المعدية هو دليل قوي على أن هذه الكائنات الحية الممرضة قادرة على إحداث المرض السريري وبالتالي فإن معالجتها لا تختلف عن معالجة الـ MRSA إيجابية الـ *mecA* بالـ PCR. [163-165]



شكل 12. رسم تخطيطي يبين مقارنة الـ SCCmec نمط XI للـ LGA251 مع عناصر SCCmec أخرى

يمكن لآليات أخرى غير الـ *mecA* كزيادة إنتاج الـ β -Lactamase أو تغيير في الـ PBP's الفطرية (الأصلية) أن تسبب مقاومة منخفضة المستوى تجاه الـ oxacillin، لكن تبقى الأهمية السريرية للمقاومة تجاه الـ oxacillin بغير الـ *mecA* غير واضحة. [164]

أظهرت دراسة أجريت في الهند من قبل Subarna Roy وزملائه على 70 عزولة من *S.aureus* أن 20 عزولة فقط من بين 31 عزولة كانت مقاومة بالانتشار القرصي امتلكت جين المقاومة *mecA* و 11 عزولة كانت سلبية جين *mecA* [166]، كما أظهرت دراسة أخرى أجريت في Skopje (عاصمة مقدونيا) أن 61 عزولة من 69 عزولة كانت مقاومة تجاه *methicillin* بطريقة الانتشار القرصي امتلكت جين *mecA* و 8 عزولات كانت سلبية *mecA* [167]، مما يدل على وجود مقاومة تجاه *methicillin* بآليات أخرى غير جين *mecA*.

عرف Tomasz و Coworkers أربعة أصناف مختلفة من المقاومة تجاه *methicillin* على أساس الأنماط الظاهرية للمقاومة (الـ MIC)، وهي الصنف الأول (MIC 1-3 µg/ml)، والصنف الثاني (MIC 6-12 µg/ml)، والصنف الثالث (MIC 50-200 µg/ml)، والصنف الرابع (MIC ≥ 800 µg/ml). [137]

تكون لدى غالبية الخلايا في مزرعة الـ MRSA العائدة إلى الصنفين الأول والثاني مستويات منخفضة من المقاومة تجاه *methicillin*، لكن نسبة صغيرة منها تكون عالية المقاومة، بينما تكون معظم خلايا الـ MRSA في الصنفين الثالث والرابع عالية المقاومة تجاه *methicillin*، وهكذا فإن انتشار العزولات التي تُظهر الأنماط الظاهرية المتغايرة (صنف 1 أو 2) يمكن أن يؤثر على اختبارات الحساسية لأجل الكشف عن الـ MRSA في المختبرات السريرية ويُخل بالوصفة الفورية من المعالجة بمضادات الميكروبات المناسبة. [137]

الـ **Glycopeptides**، هي مضادات حيوية مبيدة للجراثيم بطيئة تعتمد في تأثيرها المبيد على الزمن، وتضم الـ VAN (مصادق عليه فقط في الولايات المتحدة)، والـ TEIC (يتوفر في بعض البلدان الأوروبية)، وهما يعتبران الجيل الأول من الـ Glycopeptides، بينما يُعد الـ oritavancin المرشح الأول في ما يدعى الجيل الثاني من الـ Glycopeptides التي تصنف أيضاً كعوامل Lipoglycopeptides نتيجة لمحتواها الكاره للماء. [82، 161، 168]

يملك الـ VAN والـ TEIC بنية متماثلة وربط للـ N-Acyl-D-Ala-D-Ala بألفة

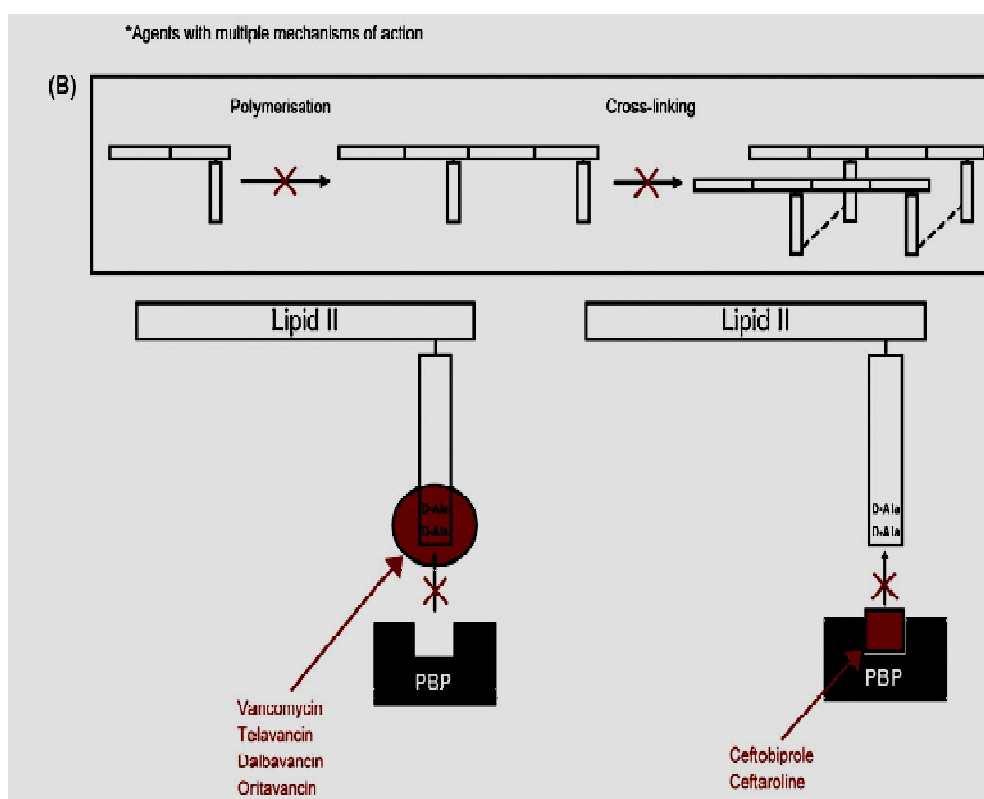
مشابهة، وعلى الرغم من ذلك هناك 3 بنيات مختلفة بشكل واضح:

- الأولى: الأحماض الأمينية 1-3 من الـ aglycons مختلفة

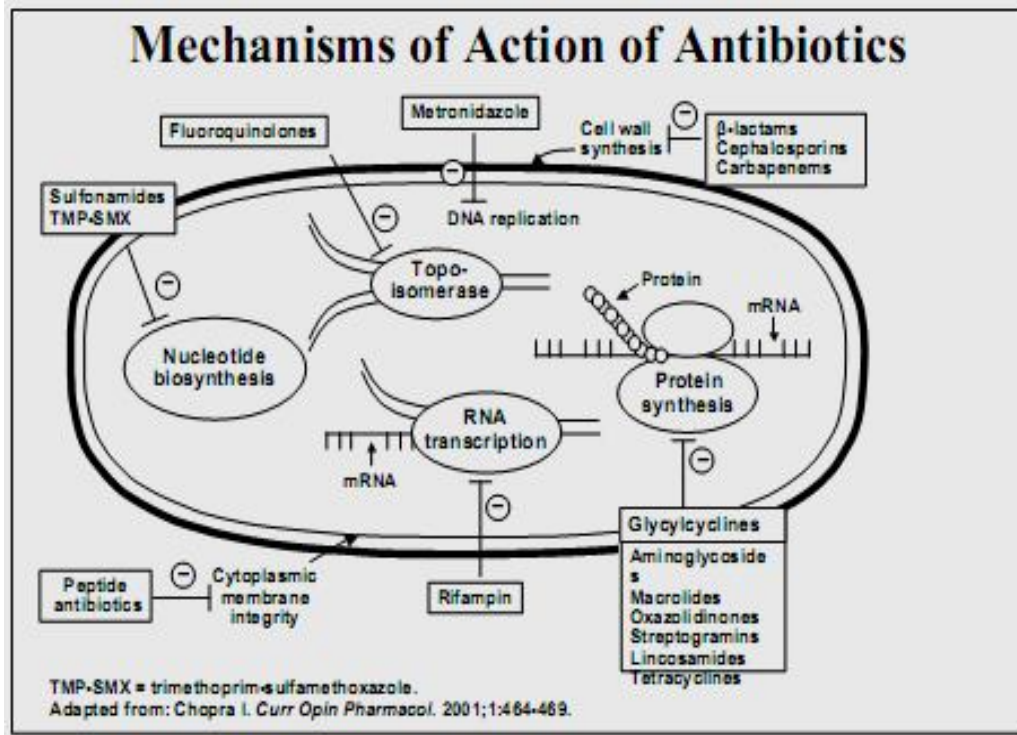
- الثانية: يحتوي الـ TEIC على أحادي السكاريد المحتوي على دسم متعادلة على الحمض الأميني الرابع من الببتيد السباعي، بينما يحوي الـ VAN على ثنائي السكاريد المشحون إيجابياً في الموضع نفسه

- الثالثة: يحوي الـ TEIC على سكريات إضافية على الـ aglycons^[179] يُعد وجود الـ N-acylglucosamine على الحمض الأميني 4 المسؤول عن نصف العمر الحيوي الطويل للـ TEIC.^[170]

تثبط الـ Glycopeptides الاصطناع الحيوي لجدار الخلية الجرثومية بارتباطها القوي والنوعي إلى نهايات الـ D-alanyl-D-alanine من طلائع peptidoglycan جدار الخلية الجرثومية بواسطة تشكيل 5 روابط هيدروجينية، حيث يمنع هذا الارتباط تفاعلات الـ transglycosylation والـ transpeptidation، وبالتالي منع تطويل سلسلة الـ peptidoglycan والتصلب، وهكذا تخضع الجراثيم لعدد من التغيرات الشكلية التي تؤدي إلى موت الخلية الجرثومية في النهاية كنتيجة لحلها.^[159، 169، 170]



شكل 13. يبين مكان ارتباط الـ VAN والـ TEIC إلى الـ D-alanyl-D-alanine



شكل 14. يبين أماكن عمل بعض المضادات الحيوية

يشمل طيف تأثير الـ Glycopeptides الجراثيم إيجابية الغرام (العنقوديات المقاومة والحساسية للـ methicillin، العنقوديات سلبية الـ coagulase، المكورات العقدية الرئوية، المكورات العقدية المخضرة وغير المخضرة، الليستيريا، المكورات المعوية، المطثيات الصعبة Clostridium difficile، الهضمونيات Peptococcaceae)، وهي غير فعالة في معالجة العدوى المحدثة بالجراثيم سلبية الغرام بسبب صعوبة نفوذها خلال الغشاء الهولي الخارجي لهذه الجراثيم كما أنها تتكون من جزيئات قطبية كبيرة لا تستطيع أن تتفد من جدار الجراثيم سلبية الغرام، وبالتالي قلة الاحتمال للوصول إلى مكان الهدف. [160، 169-171]

تبيد الـ Glycopeptides العنقوديات بشكل بطيء عندما يوصى بها لوحدها كأدوية مختارة لمعالجة عدوى الـ MRSA مؤديةً إلى تأخير شفاء المرضى بعدوى مهددة للحياة، وعلى ضوء ذلك لا تؤخذ الـ Glycopeptides كعوامل خط أول لمعالجة عدوى الرئة بالـ MRSA. [29، 172]

اقترحت المعطيات في الزجاج والدراسات التجريبية والسريية أن التأثير المبيد للـ VAN يكون أقل من التأثير المبيد للـ β-Lactams تجاه الجراثيم الحساسة، ولذلك، فإن العزولات

الحساسية تجاه الـ methicillin والـ penicillin يجب أن تعالج بالـ β -Lactams بدلاً من الـ VAN.^[161]

يُعد الـ TEIC أكثر فعالية وتحملًا من الـ VAN فيما عدا فشله في معالجة العدوى الشديدة كالتهاب الشغاف بالجرعات المنخفضة، وهو أقل فعالية من الـ Penicillins في معالجة تجرثم الدم والتهاب الشغاف بالـ MRSA، حيث تكون معدلات الشفاء باستعمال الـ TEIC (60-70%) مقابل (85-90%) باستعمال الـ Penicillins.^[160, 171]

تعد مشاركة الـ VAN مع مضادات حيوية أخرى أكثر فعالية في معالجة الالتهاب الرئوي من استعماله لوحده، كما ذكرت إحدى الدراسات أن مشاركته مع الـ daptomycin تكون أكثر فعالية في معالجة التهاب العظم والنقي الحاد من المعالجة بكل عامل على حدة.^[168, 173]

أظهرت التجارب أن مشاركة الـ TEIC مع الـ (rifampicin و Fluoroquinolones) تؤدي إلى تأثيرات تجميعية تجاه العنقوديات وأحياناً تكون هذه التأثيرات تآزيرية، كذلك يتحسن التأثير المبيد (تأثير تآزيري) للـ TEIC تجاه الـ S.aureus والمكورات العنقودية المخضرة المجموعة D والمكورات المعوية بإضافة الـ Aminoglycosides.^[160, 174]

أدى استعمال الـ Glycopeptides العشوائي والمفرط إلى ظهور عزولات ناقصة الحساسية تجاه الـ VAN والـ TEIC، وأخيراً فإن ظهور وانتشار المكورات المعوية المقاومة تجاه الـ VAN (VRE) يدافع عن الاستعمال المقيد للـ Glycopeptides.^[29]

قاد الانتشار المتزايد للـ MRSA في وحدات الجراحة القلبية إلى زيادة استعمال الـ VAN لمعالجة هذه العدوى الخطيرة والمهددة للحياة، لكن نظراً لظهور العنقودية الذهبية ناقصة الحساسية تجاه الـ Glycopeptides (GISA)، فإن الأطباء أدركوا أهمية التقليل من استعمالها بشكل عشوائي^[48]، وبالتالي يجب تجنب الاستعمال المفرط للـ Glycopeptides لتحقيق نجاعة ممتازة لأجل المرضى المُعدين بالـ MRSA ولمنع انتشار الذراري ناقصة الحساسية تجاهها.^[175]

يتشابه الـ TEIC مع الـ VAN في البنية الكيميائية وآلية العمل وطيف التأثير والحرانك الفارماكولوجية (امتصاص، انتشار، إخراج)^[160, 168, 171]، حيث يظهر الجدول التالي أهم الخصائص لكل من الـ VAN والـ TEIC:

الخصائص	الـ vancomycin	الـ teicoplanin
الحرائك الفارماكولوجية	امتصاص سيء، ارتباط بروتينات البلازما 55%، انتشار جيد في سوائل الجسم وشبه معدوم في الـ CSF (سحايا سليمة) و7-30% (التهاب سحايا)، حجم توزع من 0.3-0.43 ل/كغ، نصف عمر إطراحي 6 ساعات، لا يستقلب وي طرح 90% من الجرعة بالرشح الكبي (75% خلال 24 ساعة)، يجب ضبط الجرعة عند مرضى القصور الكلوي، يمكن تصفيته من البلازما بالتحال الدموي	امتصاص سيء، جاهزية حيوية 94%، ارتباط بروتينات البلازما 90-95%، انتشار سريع إلى النسيج والعدلات ولا ينتشر في الدم والكريات الحمراء والـ CSF، حجم توزع في مرحلة الثبات بين 0.94 و1.4 ل/كغ، نصف عمر إطراحي نهائي طويل (70-100 ساعة)، يطرح 97% في البول بدون تغير، لا يمكن أن يزال بالتحال، ومعالجة فرط الجرعة تكون أعراضية.
طيف التأثير	الجراثيم إيجابية الغرام (MSSA، MRSA، CoNS، المكورات العقدية، العقدية الرئوية، المكورات الرئوية، الليستيريا، المطثيات الصعبة)، غير فعال تجاه سلبات الغرام، المتقطرات والكلاميديا	الجراثيم إيجابية الغرام (MSSA، MRSA، CoNS، المكورات العقدية المخضرة وغير المخضرة، العقدية الرئوية، الليستيريا، المطثيات الصعبة، الهضمونيات)، تأثير مُثبط للمكورات المعوية.
الاستطباب	- عدوى الـ Staph التحويلة عند مرضى التحال البريتواني أو الدموي - التهاب الشغاف بالـ Staph والعقديات المخضرة عند مرضى يتحسون على الـ penicillin - العدوى بالجراثيم الوندية والمكورات الرئوية المقاومة للـ penicillin - التهاب القولون الغشائي الكاذب بالمطثيات الصعبة - وقائياً في الجراحة (القلبية الوعائية، العصبية، العظمية)	- عدوى الجلد والنسج الرخوة - عدوى السبيل البولي - عدوى السبيل التنفسي السفلي - عدوى العظام والمفاصل - إنتان الدم - التهاب الشغاف بالـ (MRSA، المكورات العقدية، المكورات المعوية) - التهاب الصفاق المتعلق بالتحال البريتواني الجوال المستمر - وقائياً (جراحة العظام، خطر عدوى بجراثيم إيجابية الغرام)
التأثيرات غير المرغوبة	- تفاعلات تحسسية (طفح جلدي بقعي، تآق، قشعريرة، حرارة) - التهاب الوريد وألم مكان الحقن الوريدي - متلازمة العنق الحمراء أو الرجل الأحمر (حمى، تفاعلات شروية، تبيغ، تسرع قلب، هبوط ضغط) تنتج من تأثير	- تأثيرات موضعية، حمى، ألم، التهاب وريد خثري، خراج موضع الحقن - فرط حساسية، طفح، حكة، حرارة، تشنج قسبي، صدمة تأقية، شري، وذمة وعائية، التهاب جلد تقشري (نادراً) - معدية معوية، غثيان، إقياء، إسهال - دموية، الحمضات، الصفائح، العدلات، ندرة

سمي مباشر على الخلايا البدينة مما يؤدي إلى إطلاق الهيستامين - اضطرابات دموية، ↓العدلات، ↓الصفائح الدموية، ↑الحمضات، ندرة المحببات، وكلها تتراجع بعد وقف الدواء - آلام نابضة في عضلات الظهر والعنق (يمكن تجنبها بتسريبه خلال 30 دقيقة) - سمية أذنية، لاسيما بالتراكيز البلازمية العالية جداً (60-100 مكغ ١ مل) سمية كلوية، التهاب كلية خالي، فشل كلوي، ↑المشاركة مع أدوية ذات سمية كلوية محتملة (Aminoglycosides)	المحببات (نادر وعكوس) - عصبية، دوار، صداع، ضعف السمع، طنين، شفع، اضطرابات الرؤية - كبدية، ↑الترانس أميناز البلازمية، الفوسفاتاز القلوية - كلوية، ↑عابر في كرياتينين المصل، فشل كلوي - سمية أذنية، ↓سمع، طنين، اضطرابات دهليزية (نادراً) - عداوى إضافية (نموكائنات حية غير حساسة له) باستعماله المديد
لا يعطى في وجود فرط تحسس له، تجنب الحقن السريع، لا يستعمل عند مرضى مصابين بنقص السمع، لا يسرب بالتزامن مع التخدير، لا يعطى أثناء الحمل أو الارضاع	لا يعطى في وجود فرط تحسس له أو للـ VAN (تحسس متصالب)، لا يشارك مع الأدوية المعروفة بسميتها الكلوية والأذنية، لا يعطى أثناء الحمل أو الارضاع
وريدي فقط، عداوى السبيل المعدي المعوي بالمطثيات الصعبة فيعطى عن طريق الفم بلعاً	بالطريق الوريدي، وبالطريق العضلي أيضاً خلافاً للـ VAN
يتداخل مع مضادات حيوية أخرى، ↑فعالية مضادات التخثر ولذلك يجب مراقبة الـ INR	ليس له تداخلات، ↑فعل مضادات التخثر ولذلك يجب مراقبة الـ INR

جدول 4. يبين مقارنة لخصائص الـ vancomycin والـ teicoplanin

أدخل الـ VAN في عام 1972، ومع بداية العام 1987 ظهرت المكورات المعوية المقاومة تجاهه (VRE) في أوروبا والولايات المتحدة ثم انتقلت هذه المقاومة إلى جراثيم أشد شراسة هي العنقوديات، وبالتالي أصبح ظهور المقاومة تجاه الـ Glycopeptides عند العنقوديات يشكل قلقاً وتحدياً مستمراً يواجه الأطباء. [5، 144، 176، 177]

يعود تاريخ أول تقرير عن الـ S.aureus ناقصة الحساسية تجاه الـ VAN إلى عام 1997 في اليابان عندما وصف Hiramatsu وزملاؤه ذراري الـ Mu50 (VISA) والـ Mu3 (hVISA)، والتي عُرلت من مرضى بالتهاب رئوي غير مُستجيب للـ VAN، كما ذُكرت أيضاً

في عام 2000 في كوريا من قبل Kim وزملائه، ثم ذُكرت تقارير عن 100 حالة تقريباً ناجمة عن عداوى الـ VISA ظهرت في مواقع جغرافية متنوعة من أوروبا وآسيا وأمريكا الجنوبية والولايات المتحدة الأمريكية.^[143، 178]

يمكن تصنيف الـ MRSA ناقصة الحساسية تجاه الـ Glycopeptides إلى:

- متغايرة المقاومة تجاه الـ VAN (الـ hVISA)
 - متوسطة الحساسية تجاه الـ VAN (الـ VISA)
 - مقاومة بشكل كلي تجاه الـ VAN (الـ VRSA)^[179]
- تُستعمل المصطلحات (VISA، TISA، GISA) لأجل العزولات بمقاومة متجانسة منخفضة المستوى، بينما تستعمل الـ (hVISA، hTISA، hGISA) لأجل العزولات بمقاومة متغايرة منخفضة المستوى، أما الـ VRSA فيستعمل لأجل العزولات مع مستويات عالية من المقاومة تجاه الـ VAN.^[11]

استعمل مصطلح الـ GISA للتعبير عن الذراري متوسطة الحساسية تجاه الـ VAN والـ TEIC، لكن ونظراً لأن ليس كل ذراري الـ VISA متوسطة الحساسية تجاه الـ TEIC، إضافة إلى عدم توفر الـ TEIC في الولايات المتحدة، فإن مصطلح الـ VISA هو الأكثر مناسبة والأوسع استعمالاً.^[180-182]

تتضمن عوامل خطورة تطور عداوى الـ S.aureus ناقصة الحساسية تجاه الـ VAN:

- الاستعمال المسبق ولفترة طويلة للـ VAN
 - عدوى سابقة بالـ MRSA (في وجود الـ VAN) قبل 2-3 أشهر من العدوى الحالية
 - الحالات الصحية المستبطنة (مرض كلوي، داء سكري... الخ)^[179، 183]
- تنقص الحساسية تجاه الـ VAN تحت التعرض المستمر وتحسن على إزالة الضغط الانتقائي، وبالتالي، فإن مثل هذا الاستعمال المتزايد للـ VAN لمعالجة عداوى الـ MRSA المتفشية سوف يقود إلى زيادة انتشار المقاومة تجاهه.^[168]

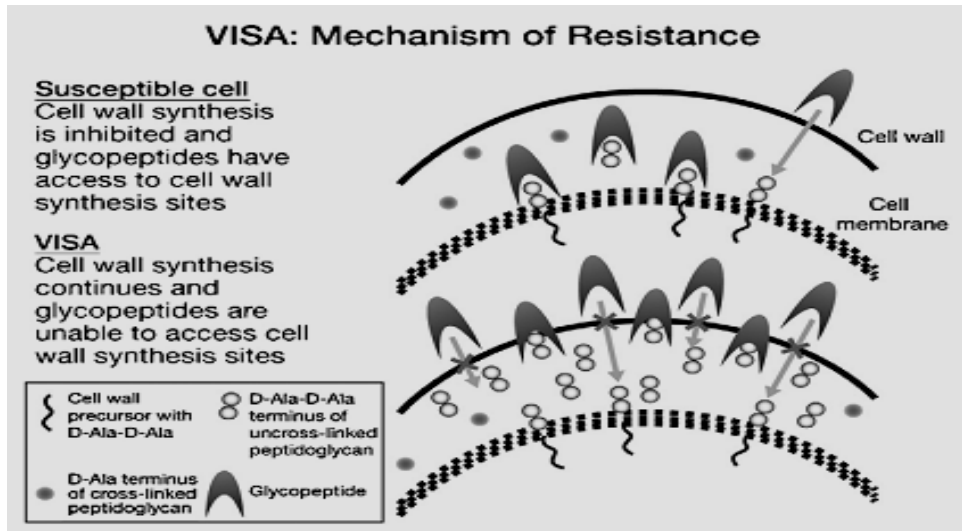
يمكن أن يكون الـ SCCmec غير مستقر ويمكن أن يُستأصل عند بعض ذراري الـ MRSA في بعض الظروف النوعية (أثناء غياب ضغط المضاد الحيوي الانتقائي)، كما يمكن أن يقود تعرض الـ MRSA للمضادات الحيوية من مجموعة الـ Glycopeptides إلى إسْصال

الـ mecA أيضاً، وبالتالي فإن الـ S.aureus كما ذكر Noto وزملاؤه يمكن أن تُعاض بتطوير حساسية ناقصة تجاه الـ VAN بحذف كل أجزء من الـ SCCmec.^[81]

ذُكرت العزولات السريرية الأولى من الـ VRSA من مريض في Michigan وآخر في Pennsylvania في الولايات المتحدة الأميركية في حزيران وأيلول 2002 على التوالي، ثم ذُكرت الذرية الثالثة في NewYork، ولحسن الحظ فإن 11 من الـ VRSA فقط ذُكرت في العالم فيما بعد، منها 9 في الولايات المتحدة (معظمها في Michigan) و2 في الهند وإيران على التوالي، ثم بعد ذلك كُشفت هذه العزولات في كل أنحاء العالم.^[168, 179, 180]

تختلف آليات المقاومة التي مُيزت لأجل ذراري الـ VISA والـ VRSA تماماً ولم تُفهم بشكل كامل، فقد اقترحت آليتان متميزتان^[11] هما:

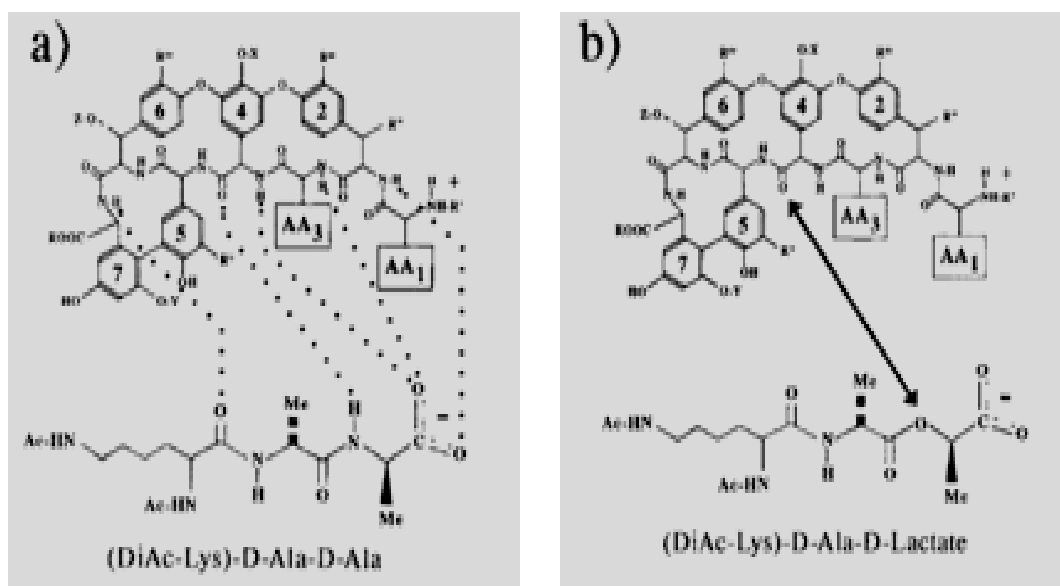
- تطور الـ VISA مقاومة منخفضة المستوى بواسطة آليات داخلية معقدة غير معروفة بشكل كامل^[182]، وهي مثال نموذجي للمقاومة المكتسبة بالطفرات^[11, 1]، وتحدث نتيجة زيادة ثخانة جدار الخلية الجرثومية (طبقات ببتيدوغليكان متعددة)، وبالتالي فإن ارتباط الـ VAN إلى بقايا الـ D-alanyl-D-alanine الكثيرة ضمن طبقات الببتيدوغليكان الإضافية يحجز الـ VAN ضمن الجدار فلا يستطيع الوصول إلى هدفه على سطح الغشاء السيتوبلازمي الجرثومي، وبالتالي عدم تنشيط الاصطناع الحيوي للببتيدوغليكان.^[29, 179, 180]



شكل 15. يبين آلية مقاومة ذراري الـ VISA

- تحدث المقاومة عند ذراري الـ VRSA، نتيجة احتوائها على جين الـ vanA (يُنقل بالبلازميدات) الذي يرمز تبدل الهدف، حيث يُحرض جين الـ vanA تبديلاً في نهاية الـ D-alanyl-D-alanine إلى الـ D-alanyl-D-lactate في طلائع جدار الخلية والذي يكون

لديه ألفة منخفضة (1000 مرة) تجاه الـ Glycopeptides، وبالتالي تتناقص ارتباط الـ VAN إلى هدفه فلا يستطيع أن يقوم بوظيفته (تنشيط اصطناع جدار الخلية الجرثومية).^[29، 158، 183] أظهرت إحدى الدراسات التي أجريت في الهند أول تقرير عن VRSA محتوية على معقد جينات يضم الـ mecA والـ vanA معاً^[184]، كما ذكر وجودهما معاً أيضاً عند عُزلتين مستقلتين من مكانين مختلفين في الولايات المتحدة الأمريكية.^[180]



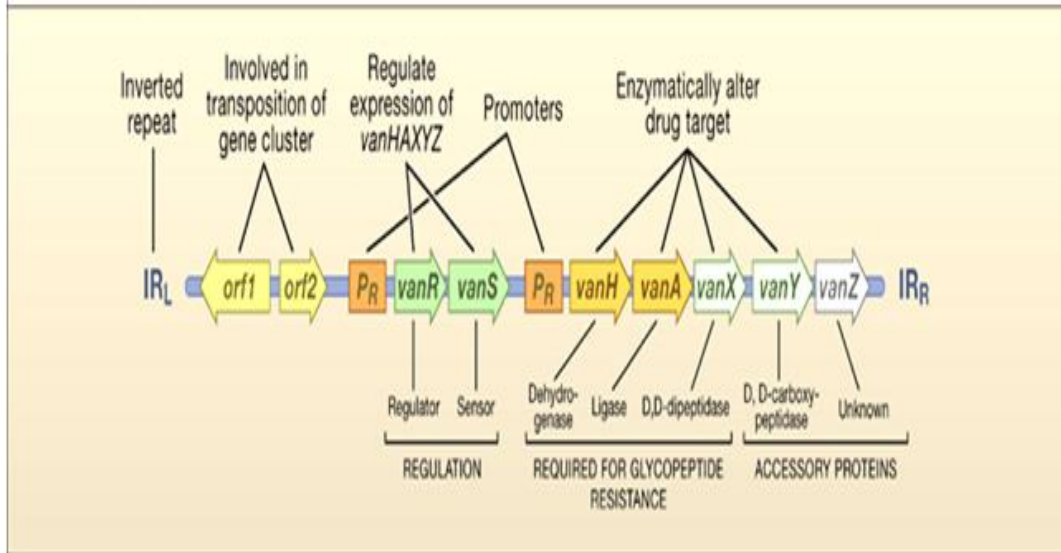
شكل 16. يبين آلية مقاومة ذراري الـ VRSA تجاه الـ Glycopeptides

تختلف المقاومة تجاه الـ Glycopeptides باختلاف المكان (الجغرافيا) والزمن وحسب الأنواع الجرثومية أيضاً، ويُعد التعرض المسبق للـ Glycopeptides لاسيما التعرض المتكرر أو المديد اختطاراً كبيراً لتطور عدوى بالـ S.aureus ناقصة الحساسية.^[183]

إن آلية مقاومة العنقوديات تجاه الـ TEIC غير واضحة، لكنها يمكن أن تظهر في ذرية متحسسة سابقاً في سياق المعالجة، بينما آلية مقاومة المكورات المعوية تجاهه مشابهة لآلية المقاومة تجاه الـ VAN.^[160]

تكون بعض ذراري العنقوديات والمكورات المعوية والكائنات الحية الأخرى المقاومة تجاه الـ VAN مقاومة أيضاً تجاه الـ TEIC (مقاومة متصالبة)، فقد ذكرت دراسات سابقة أن هناك نسب موثقة عن المقاومة المتصالبة بين الـ TEIC والـ VAN بلغت حوالي 40% بين عزولات الـ MRSA من الدم، في حين وجد أن الـ TEIC لا يُظهر مقاومة متصالبة مع المضادات الحيوية الأخرى.^[181، 182]

تنتج المقاومة تجاه الـ Glycopeptides عند المكورات المعوية من اكتساب واحد من عنقودين من الجينات ذات العلاقة والتي تسمى بالـ VanA والـ VanB، والتي ترمز الإنزيمات التي تنتج نهايات طلائع ببتييدوغليكان معدلة (D-Ala-D-Lac) بدلاً من الـ D-Ala-D-Ala، إضافةً إلى ذلك، هناك أشكال أخرى نادرة من عناقيد جينات المقاومة تضم الـ VanC، الـ VanD، الـ VanE والـ VanG. [159، 158، 53]



شكل 17. يظهر عنقود جين الـ vanA

تختلف أنواع الـ vanA والـ vanB في تنظيم تعبيرها وخاصة استجابتها تجاه الـ VAN والـ TEIC كمحرضات، حيث أن الذراري التي تحوي الـ VanA تكون مقاومة تجاه كل من الـ VAN والـ TEIC، بينما تلك التي تحوي الـ VanB والأنماط الأخرى تكون مقاومة فقط تجاه الـ VAN (بسبب أن الـ TEIC لا يحرض التعبير في الذراري الحاوية على الـ VanB). [170، 169، 159]

الإجراءات الوقائية:

يجب أن تنفذ إجراءات العزل (وضع المرضى المُعدين في غرف خاصة أضمن مجموعات لديهم حالات العدوى نفسها)، وفقاً لنوع عدوى الـ MRSA أو الاستعمار بها. [126، 27]

يجب أن تستمر إجراءات العزل المعتمدة على النقل طالما أن لدى المقيم إفرازات ورشح مستمرة (لا يمكن احتواؤها)، بينما يجب أن تُعدل أو تُوقف عندما تكون ظروف عزل المقيم مسيطراً عليها (نز جراحى). [77]

استنتج Cooper ومساعدوه من خلال المراجعة المنهجية أن مشاركة عزل المريض مع إجراءات السيطرة الأخرى يمكن أن تُنقص انتشار الـ MRSA.^[4، 77] يجب أن تُلبس قفازات أثناء القيام بالرعاية الصحية للمرضى إيجابي الـ MRSA لاسيما أثناء الاتصال الشخصي (تغيير الملابس، المراحيض، الاستحمام) أو الاتصال مع الأدوات المُعدية التي يمكن أن تكون ملوثة بالـ MRSA.

يجب أن يُلبس السربال Gown إذا كانت ملابس مقدم الرعاية الصحية على تماس كبير جداً مع مقيم إيجابي الـ MRSA أثناء تقديم الرعاية له.^[4، 77]

هناك عدم توافق في استطبابات ارتداء القناع عند العناية بالمرضى المستعمرين أوالمُعدين بالـ MRSA، حيث أوصت التعليمات من هولندا وجمعية علم الأوبئة في الرعاية الصحية في أمريكا بارتدائه، بينما أوصت تعليمات أخرى باستعمال القناع فقط عند تعرض موظفي الرعاية الصحية للقطرات الكبيرة والإفرازات الضبوبية بالـ MRSA في الإفرازات التنفسية السفلية.^[4]

يجب الحفاظ على برامج نظافة اليدين الصارمة، فيجب أن يغسل الطاقم والزوار أيديهم بصابون مضاد للجراثيم بعد إزالة القفازات وبعد العناية بالمريض وقبل مغادرة غرفة المقيم إيجابي الـ MRSA، كما يجب غسل الأيدي بعد التماس مع سوائل الجسم وإفرازاته والأدوات الملوثة، ويجب أن تُجفف الأيدي بواسطة مناديل ورقية نبوذة وجافة، كما يجب إغلاق الحنفيات باستخدام مناديل ورقية أيضاً.^[4، 77]

أظهرت عدة دراسات أن الربط بين تحسين ممارسات نظافة الأيدي ومزارع الترصد وإجراءات الاتصال يؤدي بشكل كبير إلى إنقاص نقل الـ MRSA، كما أن مشاركة تمييز المرضى والعاملين في الرعاية الصحية المستعمرين بالـ MRSA مع احتياطات الاتصال وتحسين نظافة الأيدي يملك نجاحاً في إنقاص النقل والسيطرة على الانتشار أيضاً.^[185]

يختلف التواتر المذكور عن دورالسطوح البيئية الملوثة من نسب مئوية قليلة في معظم الدراسات إلى نسب عالية (67-74%) في دراسات أخرى، لذلك يجب أن يجرى التنظيف الروتيني لمحيط الإقامة يومياً لإنقاص حمل الجراثيم، حيث أوصت تعليمات الـ CDC لأجل العزل المستشفيات بالإجراءات الكافية لأجل العناية الروتينية والتنظيف والتطهير للسطوح البيئية والأسرة وقضبانها وأدوات جانب السرير و سطوح التماس الأخرى.^[4، 77]

يجب أن يُكرس تنظيف تجهيزات غرفة المقيم المصاب بالـ MRSA والتخلص من كل التجهيزات النبوذة الملوثة بعد مغادرة المقيم من الغرفة وخفض التجهيزات النبوذة في الغرفة إلى الحد الأدنى، كما يجب أن تُدخل على الغرفة فقط المواد التي يمكن مسحها بالمطهرات (البلاستيك، الفايثيل، الأثاث المغطى بالجلد)، كما يجب أن تتنظف وتطهر أحواض الحمامات وأحواض المعالجة المائية بعد كل استعمال.

يجب أن يتلقى كافة أفراد الطاقم العامل في مؤسسة الرعاية طويلة الأمد التعليم والتدريب المتعلق بالـ MRSA وأهمية السيطرة، ويجب أن يقدم التعليم وفقاً لقواعد منظمة كأن تكون سنوية على الأقل، إضافةً إلى التدريب أثناء الخدمة لأجل السيطرة على العدوى في استجابة لأي زيادة في تواتر الـ MRSA ضمن المؤسسة.^[4]

يمكن أن يُعرّف التفشي بحدوث المرض أوظروفه بشكل مفرط عن المتوقع، ويجب أن تُراقب كل حالة MRSA عند المقيم بشكل وثيق كما ذكر سابقاً، ومع ذلك يجب أن يُجرى ما يلي في حالات التفشي:

- لا يجب التبليغ عن حالات الـ MRSA الفردية إلى أقسام المراكز الصحية، بل يجب التبليغ في حالات التفشي

- يجب تعزيز إجراءات مراقبة العدوى في كامل المؤسسة كإجراءات العزل وغسل اليدين
- يجب أن يحدد طاقم العناية بمجموعة من المقيمين إيجابي الـ MRSA فقط
- يجب إجراء الزرع عند كل المقيمين في الوحدات المعدية، وكل الطاقم بأعراض وعلامات عدوى بالعنقوديات، كما يجب الزرع عند الطاقم اللاعراضي والذي هو بتماس مع المقيمين إيجابي الـ MRSA أيضاً

- تُخصص إجراءات العزل المناسبة والفورية لمجموعة إيجابية الـ MRSA
- لا يوصى بإزالة استعمار المقيمين أو الطاقم بشكل روتيني حيث لم يُظهر أنه إجراء فعال عند عدد كبير من السكان لأن عودة الاستعمار يمكن أن تحدث، ومع ذلك ففي حالة التفشي وخاصة إذا تمّ تمييز فرداً كمصدر محتمل للنقل (مقدمو الرعاية الصحية، مرضى لديهم ذراري متماثلة من الـ MRSA وتنميط عاثوي phag typing للذرية المتفشية مع هؤلاء العاملين الصحيين)، فإنه يجب أن يُعزل من العمل بينما تُبذل جهود لإنجاز إزالة الاستعمار إذا كان ذلك سوف يؤدي إلى تحقيق نزع الاستعمار^[186]

القسم العملي

أهداف الدراسة

1. الكشف عن مدى انتشار جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المقاومة تجاه الـ methicillin (MRSA) في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق
2. دراسة مقاومة جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للـ methicillin تجاه الـ Glycopeptides (الـ vancomycin، الـ teicoplanin) باستعمال التحسس الجرثومي اليدوي (Disk diffusion)
3. كشف وتحري جينات المقاومة تجاه الـ methicillin باستعمال جهاز الـ PCR، ثم مقارنة نتائج التحري مع نتائج التحسس الجرثومي اليدوي
4. وضع توصيات عملية تهدف لمحاولة منع انتشار ومكافحة هذا النمط من الجراثيم المقاومة.

مكان الدراسة

أجريت هذه الدراسة في مختبر مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق ومختبر البحوث والاستشارات الوراثية (كلية الطب - جامعة دمشق) على جميع عينات الزرع الجرثومي للـ S.aureus المأخوذة من المرضى الأطفال المقيمين وغير المقيمين بأعمار من يوم واحد وحتى 13 سنة.

حجم العينة

شملت الدراسة 100 عينة أخذت من زروعات الـ S.aureus المأخوذة من المصادر المختلفة (قيح، دم، بول، CSF، مفرزات قصبية،..الخ)، للكشف عن مدى انتشار الـ MRSA ودراسة مقاومتها تجاه الـ Glycopeptides (الـ VAN، الـ TEIC)، وبغض النظر عن زمن اكتساب العدوى أو توقيت أخذ الزروعات (عدوى موجودة عند القبول أو بعد 48-72 ساعة من القبول).

مدة الدراسة

أجريت هذه الدراسة خلال سنتين ونصف من 2011\9\12 إلى 2014\3\31

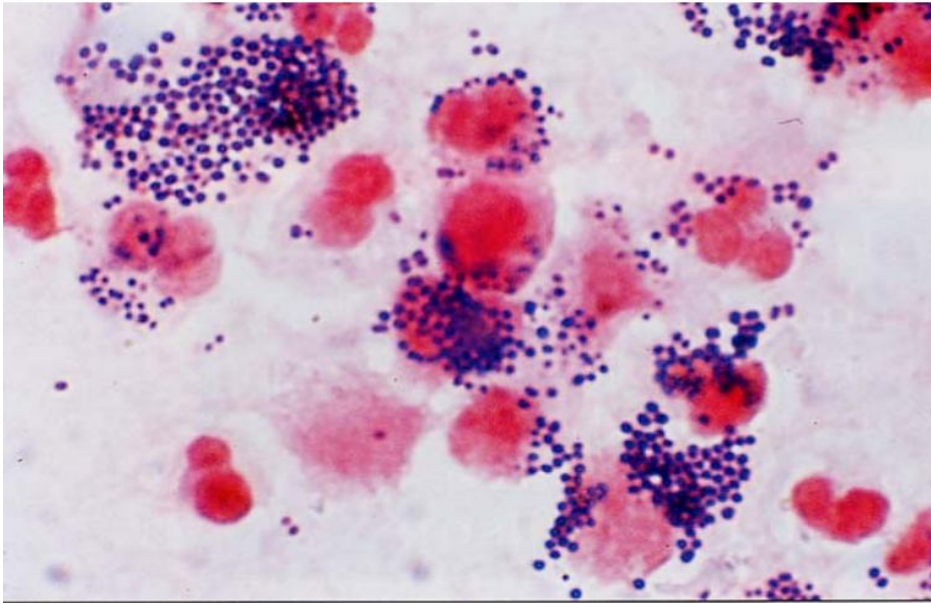
المواد والطرائق

أولاً: الإجراءات المتبعة في تحضير العينات في مستشفى الأطفال:

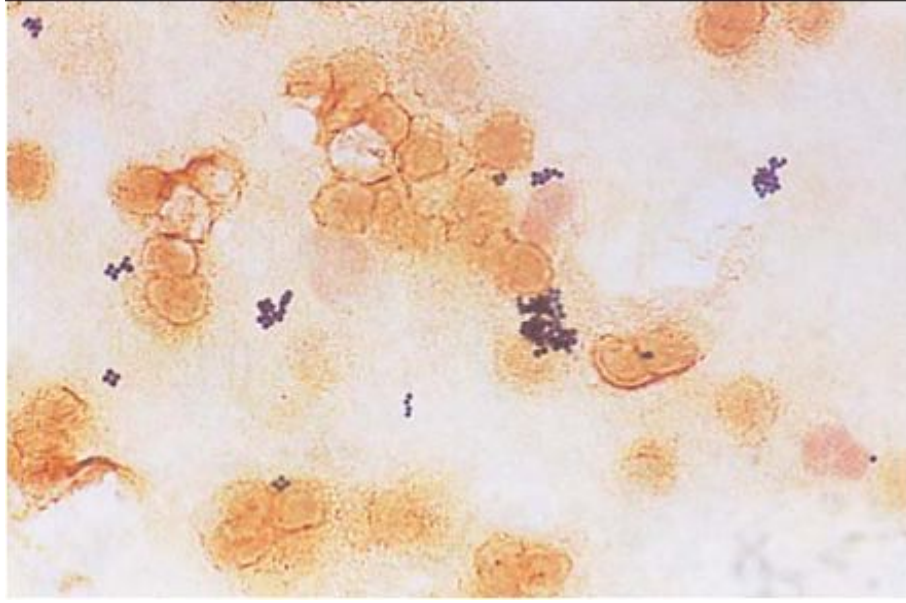
1) عزل وتشخيص الـ S.aureus

تم التشخيص الجرثومي للـ S.aureus مسبقاً وبشكل موثق من قبل مختبر مستشفى الأطفال باستعمال الاختبارات الجرثومية الاعتيادية (تلوين غرام، زرع جرثومي)، والاختبارات الكيميائية الحيوية كاختبار الـ Catalase، إضافة إلى اختبار الـ Coagulase، وغيرها وذلك وفقاً للخطوات التالية:

- أخذت العينات المرضية من المرضى الأطفال من المصادر المختلفة التي شملت (قيح، قشع، دم، CSF، مفرزات قصبية، سائل جنب، سائل حن، مسحات من الأنف أو البلعوم أو الجروح أو الجلد أو ملتحمة العين، بول، براز،.....الخ)
- تُحضر لطاخة من العينة المرضية على شريحة وتُفحص تحت المجهر بعد تلوينها بملون غرام، فتظهر الـ S.aureus على شكل مكورات إيجابية الغرام بلون بنفسجي، غير متحركة، متجمعة بشكل مزدوج أو رباعي أو بشكل عناقيد، وفي بعض الأحيان تكون هذه المكورات داخل الكريات البيضاء



شكل 18. يبين جراثيم المكورات العنقودية بتلوين غرام



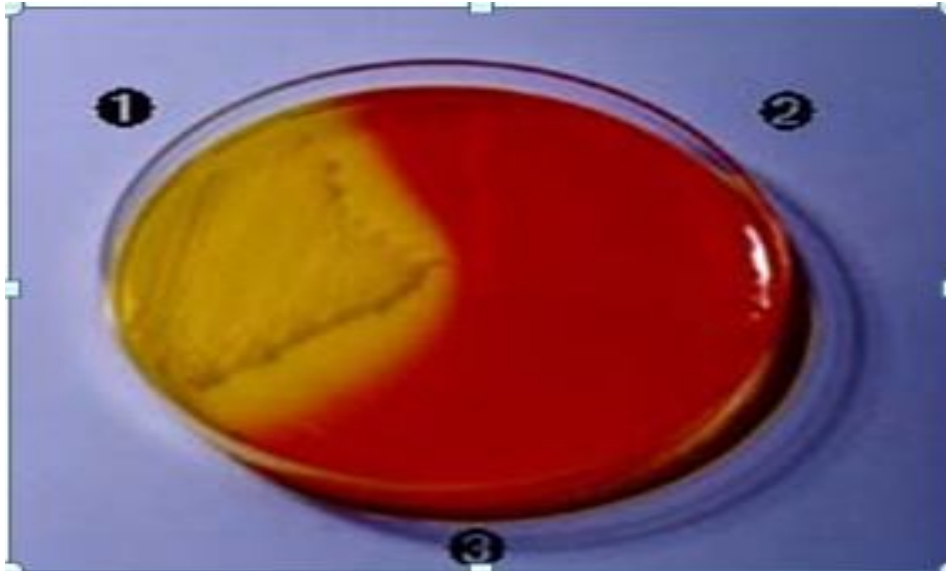
شكل 19. يبين تلوين غرام للـ *S.aureus* من عينة دم بأشكال مختلفة (مزدوج، رباعي، عناقيد العنب)

يمكن أن يوجهنا الفحص المباشر وبشكل سريع نحو التشخيص المبدئي أو نحو الأنماط الزرعية الواجب استخدامها، لكن لا يمكن الاعتماد عليه في التشخيص حيث تصعب أحياناً رؤية الجراثيم الممرضة حقيقياً، وهو غير كافٍ للتمييز بين الأنواع والأجناس، ويبقى الزرع الجرثومي هو الأساس في التشخيص.

يتم إجراء الزرع الجرثومي للعينات المرضية وفقاً لـ 3 خطوات:

1. الزرع على أوساط سائلة كـ Nutrient Broth أو مصل فيزيولوجي يحوي على 10% من NaCl في أنابيب تُحضن بدرجة 35 - 37 °م تحت ضغط 3-5 % CO₂، ومراقبة النمو كل 12 ساعة بمراقبة العكر، حيث يُقَيَّم نمو المستعمرات على الوسط السائل حسب العكر وشكل المستعمرات، فإذا لم يحصل عكر لمدة 5 أيام فالمزروع عقيم، أما في حال حدوث عكر فيتم الانتقال إلى الخطوة التالية.
2. العزل الأولي، ويتم بزرع العينات مباشرة على وسطين صلبين انتقائيين لعزل جراثيم الـ *S.aureus* هما:

- وسط شابمان Chapman Agar، الحاوي على 7.5% من الـ NaCl (يعمل على تثبيط جميع أنواع المكورات باستثناء الـ *S.aureus*)، ومشعر أحمر الفينول (في حال تخمر سكر المانيتول فإن المشعر سوف يتغير لونه من الأحمر إلى الأصفر)

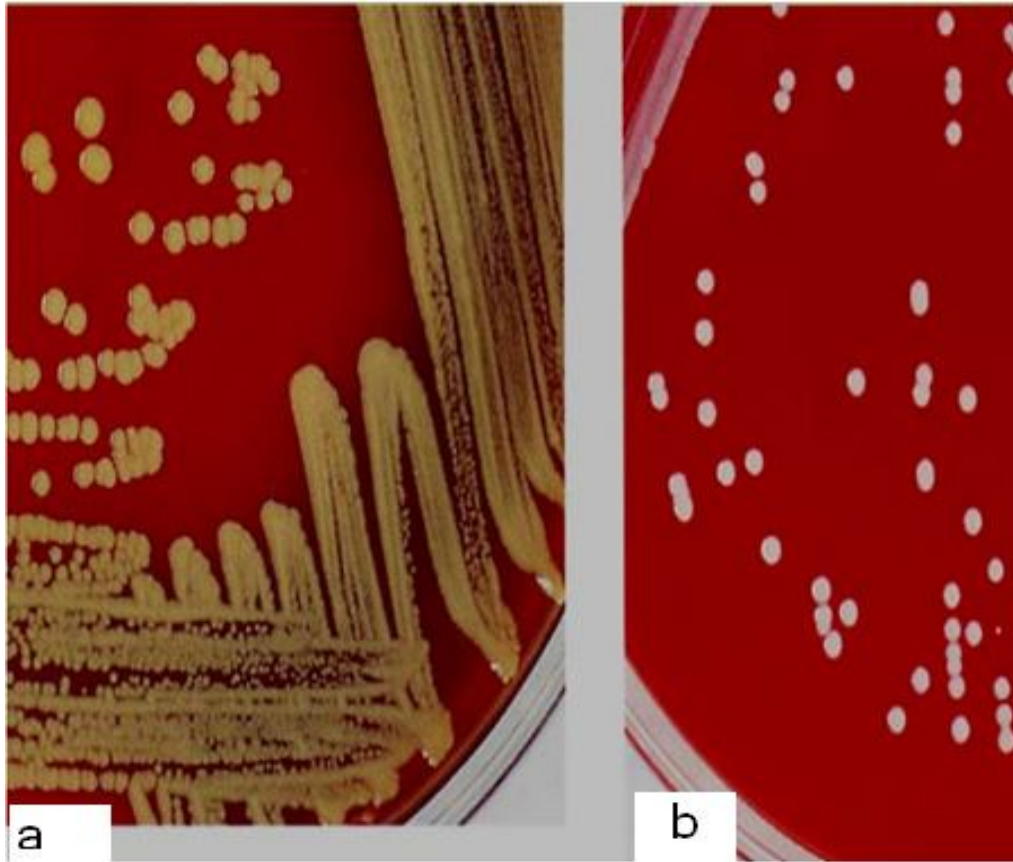


شكل 20. يبين تغير اللون على وسط آغار Chapman



شكل 21. يبين نمو الـ *S.aureus* على آغار ملح المانيتول الذي يميزها من المكورات إيجابية الغرام إيجابية الـ Catalase الأخرى كالـ *S.epidermidis*

- وسط أغار بيرد باركر Baird Parker Agar: يُنمّي فقط جرثومة الـ *S.aureus* ويحتوي على مح البيضه EggYolk وماده تيلوريت البوتاسيوم، فالمستعمرات النامية والتي يتشكل حولها هالة انحلال هي المستعمرات المطلوبة
- 3. يتم في هذه الخطوة إجراء ما يلي:
- تقييم الأطباق المزروعة في الخطوة الثانية، تُقيّم المستعمرات الملقحة على الأوساط الصلبة من حيث لونها (فيما إذا تغير لون أحمر الفينول في وسط Chapman وأصبح لون المستعمرة أو ما حولها أصفر، أو تشكل هالات الانحلال المحيطة بالمستعمرات النامية على وسط Baird Parker Agar)، وشكلها، وحجمها، حيث تبدو المستعمرات مدورة الشكل، منتفخة، عاتمة، ملساء السطح، بقطر 1-3 مم، بيضاء في بادئ الأمر لا تلبث بعد 24-36 ساعة أن تتلون بألوان مختلفة حسب نوع المكورات العنقودية، حيث تبدو مستعمرات الـ *S.aureus* بلون أصفر ذهبي

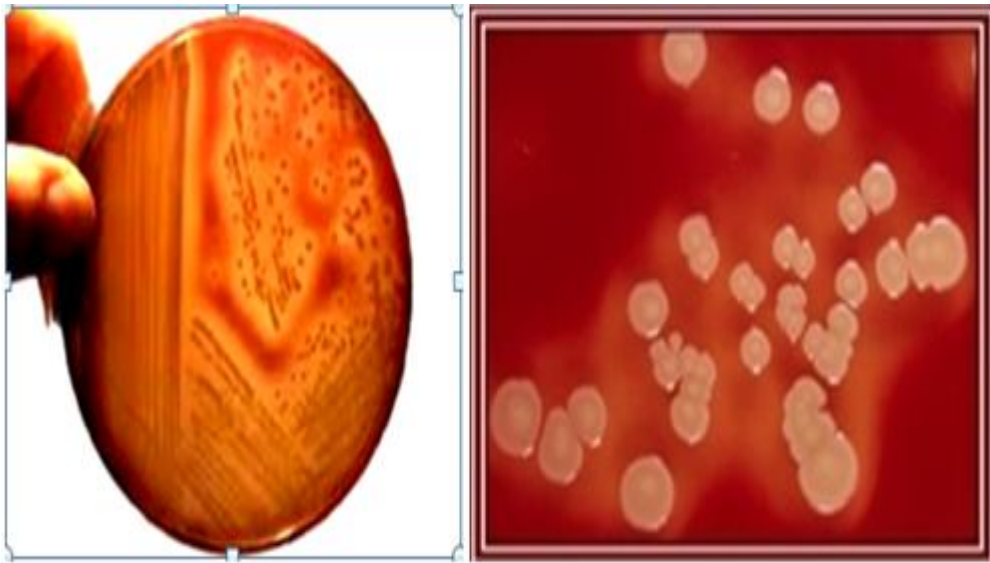


شكل 22. يبين مقارنة بين العنقودية الذهبية (a) والبشرية (b) من ناحية لون المستعمرة



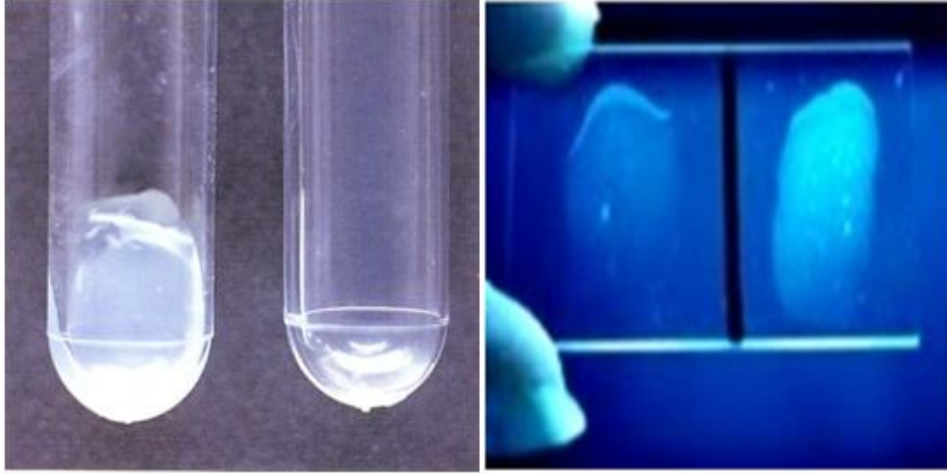
شكل 23. يبين مستعمرات فنية لجراثيم الـ *S.aureus*

- تلقيح العينات النامية على وسط الآغار الدموي Blood Agar Base، للتأكد من إفراز إنزيم α الحال لكريات الدم والمتمثل بانحلال الدم من نمط β ، حيث تبدو مستعمرات الـ *S.aureus* شفافة مرتفعة، مكتملة الحواف ملساء ومتألثة، وبلون يتراوح من الرمادي إلى الأصفر الذهبي الغامق



شكل 24. يبين انحلال الدم الناتج عن مستعمرات الـ *S.aureus* على غراء الدم

- البحث عن إنزيم الـ Coagulase، تُفرز الـ S.aureus إنزيم الـ Coagulase الذي يُخثر بلاسما الأرنب بوجود الأوكسالات، ويحدث تخثر البلاسما بمدة تتراوح بين نصف إلى 24 ساعة وبالتالي تصبح البلاسما المخثرة عبارة عن كتلة هلامية متصلبة



شكل 25. يبين اختبار الـ Coagulase بواسطة الشريحة والأنبوب

- اختبار الـ DNase، تكون معظم المكورات إيجابية الـ Coagulase قادرة على إمالة Hydration الـ DNA، حيث يتم تلقیح المكورات على وسط خاص يدعى أغار اختبار الدناز DNase Test Agar، والحضن لمدة تتراوح من 18- 24 ساعة، ومن ثم تتم ملاحظة تغير لون الوسط من الأخضر إلى الأصفر وتدرجاته



شكل 26. يبين تحول لون الوسط من الأخضر إلى الأصفر وتدرجاته

(2) دراسة التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه المضادات الحيوية

بعد التأكد من التشخيص الجرثومي للـ S.aureus، يتم إجراء اختبار التحسس الجرثومي للعينات المعزولة تجاه المضادات الحيوية كالـ (teicoplanin، vancomycin، oxacillin) باعتماد طريقة الانتشار القرصي (طريقة Kirby-Bauer)، الطريقة المستخدمة حالياً في معظم المختبرات الطبية العامة والخاصة، والتي تعد الطريقة الأفضل فيما إذا أجريت بعناية كافية وضمن الشروط التي حددها Kirby-Bauer.

تهدف طريقة الانتشار القرصي إلى معرفة سعة منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول قرص دائري من ورق نشاف قطره 6 ملم أشبع سلفاً بكمية معينة ودقيقة من مضاد حيوي معين بالميكروغرام (مكغ) وذلك بعد تثبيته على سطح أغار مفروش بالجرثومة الهدف.

تشير سعة منطقة التثبيط إلى سرعة انتشار المضاد الحيوي ضمن الأغار، ويمكن أن يجري التحسس عادةً لـ 8 – 15 قرصاً على طبق بتري من غراء موللر هنتون Mueller Hinton (M-H)، ولا بد في هذه الطريقة من أيدٍ متدربةٍ ودقيقةٍ، كما يجب الانتظار 18-24 ساعة.

حدد Kirby-Bauer معايير العوامل المؤثرة على قياس منطقة التثبيط الآتية:

- قطر دائرة التثبيط الجرثومي
- حجم الزرعة المأخوذة من الجرثومة المدروسة
- تركيز المضاد الحيوي في قرص التحسس المستخدم
- عمق وسط التحسس (4 ملم)
- سرعة انتشار المضاد الحيوي ضمن الأغار (وظيفة الوزن الجزيئي للمضاد الحيوي)
- مدة الحضان
- مواصفات أغار موللر هنتون (pH - تركيز الأغار - تركيز الشوارد - درجة الرطوبة..الخ)

استعملت في هذه الإجراءات الأجهزة والمواد التالية:

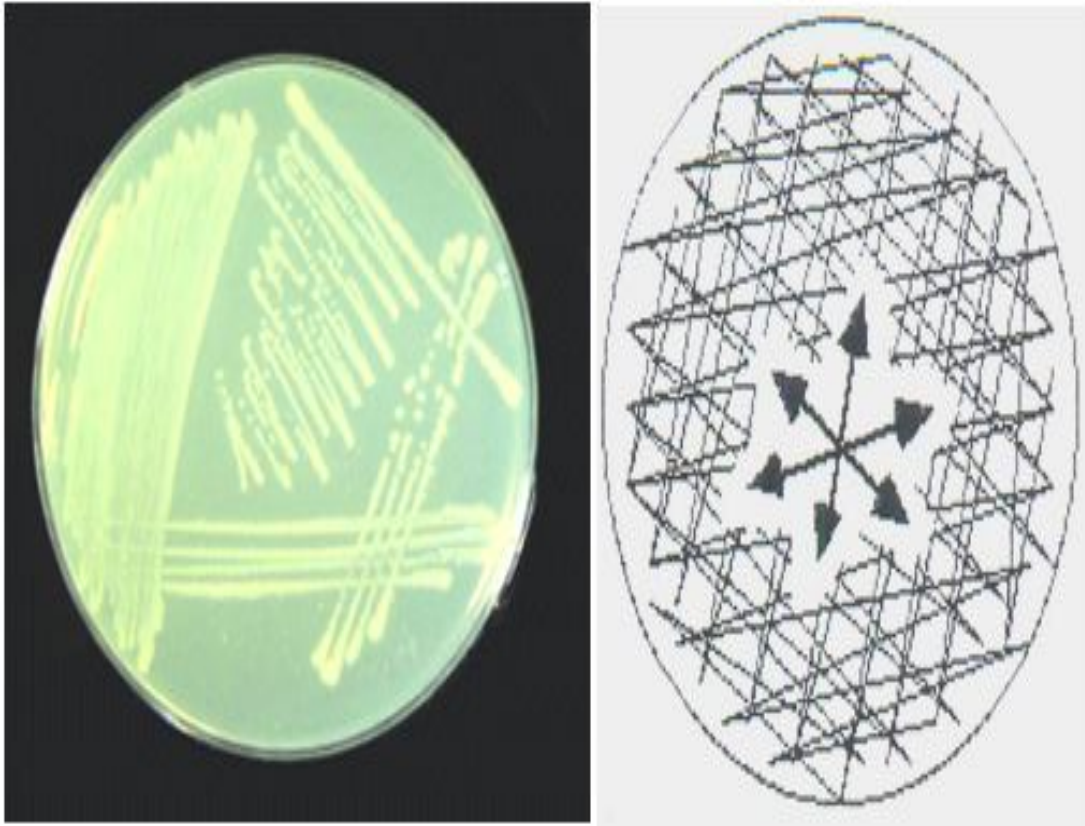
- زروعات الـ S.aureus المعزولة من قبل مختبر مستشفى الأطفال
- مواد إجراء التحسس الجرثومي اليدوي (الانتشار القرصي) تضمنت:
 - ماسحات قطنية معقمة
 - علب بتري معقمة
 - غراء مولر هنتون M-H (وسط تحسس جرثومي) منتج من قبل شركة Abtek Biologicals Ltd، ليفربول، UK
 - أقراص التحسس الجرثومي لكل من:
 - الـ oxacillin، يحوي كل قرص 10 مكغ من الـ OXA
 - الـ vancomycin، يحوي كل قرص 30 مكغ من الـ VAN
 - الـ teicoplanin، يحوي كل قرص 30 مكغ من الـ TEIC
- أنتجت هذه الأقراص من قبل شركة Abtek Biologicals Ltd، ليفربول، UK.



شكل 27. يبين الأقراص التي استخدمت في التحسس الجرثومي اليدوي للـ S.aureus
(بعسة الباحث)

تم إجراء اختبار التحسس الجرثومي بطريقة الانتشار القرصي وفقا لخطة العمل التالية:

- تحضير أوساط الزرع باستعمال أغار مولر هنتون على أطباق بتري عقيمة ضمن ظروف عقيمة مع أخذ الحيطة والحذر لمنع حدوث أي تلوث أثناء تحضير تلك الأوساط
- فرش العينة الجرثومية للـ *S.aureus* (مسبقة التشخيص) بواسطة ماسحة قطنية معقمة على كامل سطح الأغار، حيث تم الفرش على ثلاثة مستويات (أفقي - عمودي - قطري)، ثم دُورت الماسحة القطنية على محيط الأغار وذلك لتأمين تجانس توزيع الجرثومة على سطح الأغار كما يبين الشكل التالي:



شكل 28. يبين كيفية زرع جراثيم الـ *S.aureus* على أوساط الزرع الصلبة

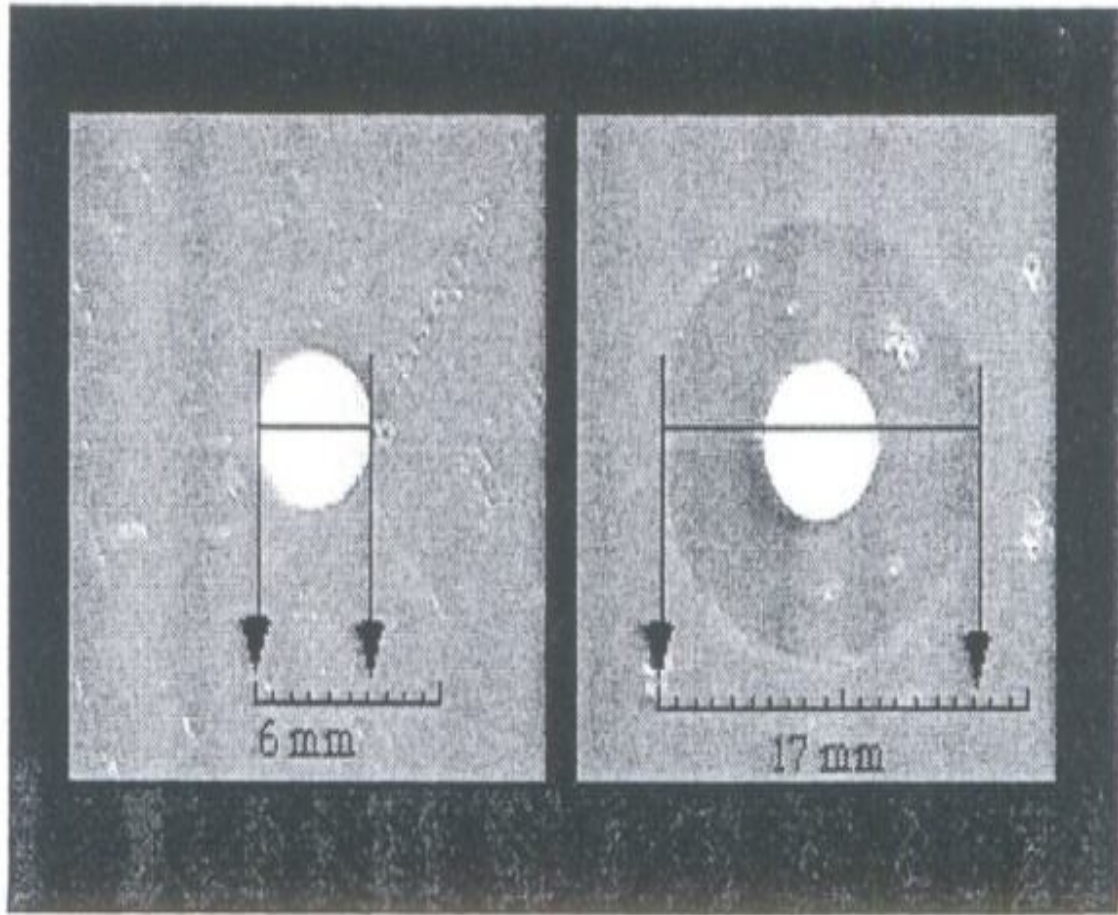
- تطبيق أقراص التحسس الجرثومي (TEIC ، VAN ، OXA) بعد 3 - 5 دقائق بواسطة ملقط معقم مع الضغط على الأقراص بلطف كي تعلق على سطح الأغار (يجب أن تنتهي عملية تثبيت الأقراص خلال 5-10 دقائق على الأكثر من انتهاء الفرش الجرثومي)
- حضن أطباق بتري الحاوية على أقراص التحسس مباشرة بعد قلبها في درجة حرارة 37 °م لمدة 18-24 ساعة



شكل 29. يبين منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول أقراص التحسس الجرثومي

(بعدسة الباحث)

- قراءة النتائج بعد انتهاء فترة الحضانة (18-24 ساعة) بقياس أقطار هالات تثبيط النمو الجرثومي (مناطق التثبيط) حول كل قرص على حدة بالمليمتر (ملم) باستعمال مسطرة مدرجة مناسبة طُبقت على ظهر الطبق بما في ذلك قطر قرص التحسس (6 ملم)، وحُددت نقطة النهاية عند خط التثبيط التام للنمو بالعين المجردة كما هو موضح في الشكل التالي:



شكل 30. يبين كيفية قياس قطر منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول أقراص التحسس الجرثومي

- مقارنة أقطار مناطق التثبيط مع جداول معيارية لتحديد درجة التحسس الجرثومي لكل مضاد حيوي، ويُعبر عن النتائج بالرموز التالية:

- (Sensitive) S، تدل على حساسية الجرثومة تجاه المضاد الحيوي بالمستويات العلاجية في الدم، وتعني أن $90\% <$ من الذراري الجرثومية حساسة تجاه المضاد الحيوي

- (Intermediate) I، تدل على حساسية متوسطة للجرثومة تجاه المضاد الحيوي

- (Resistant) R، تدل على مقاومة الجرثومة تجاه المضاد الحيوي، وتعني أن $50\% <$ من الذراري الجرثومية مقاومة تجاه المضاد الحيوي

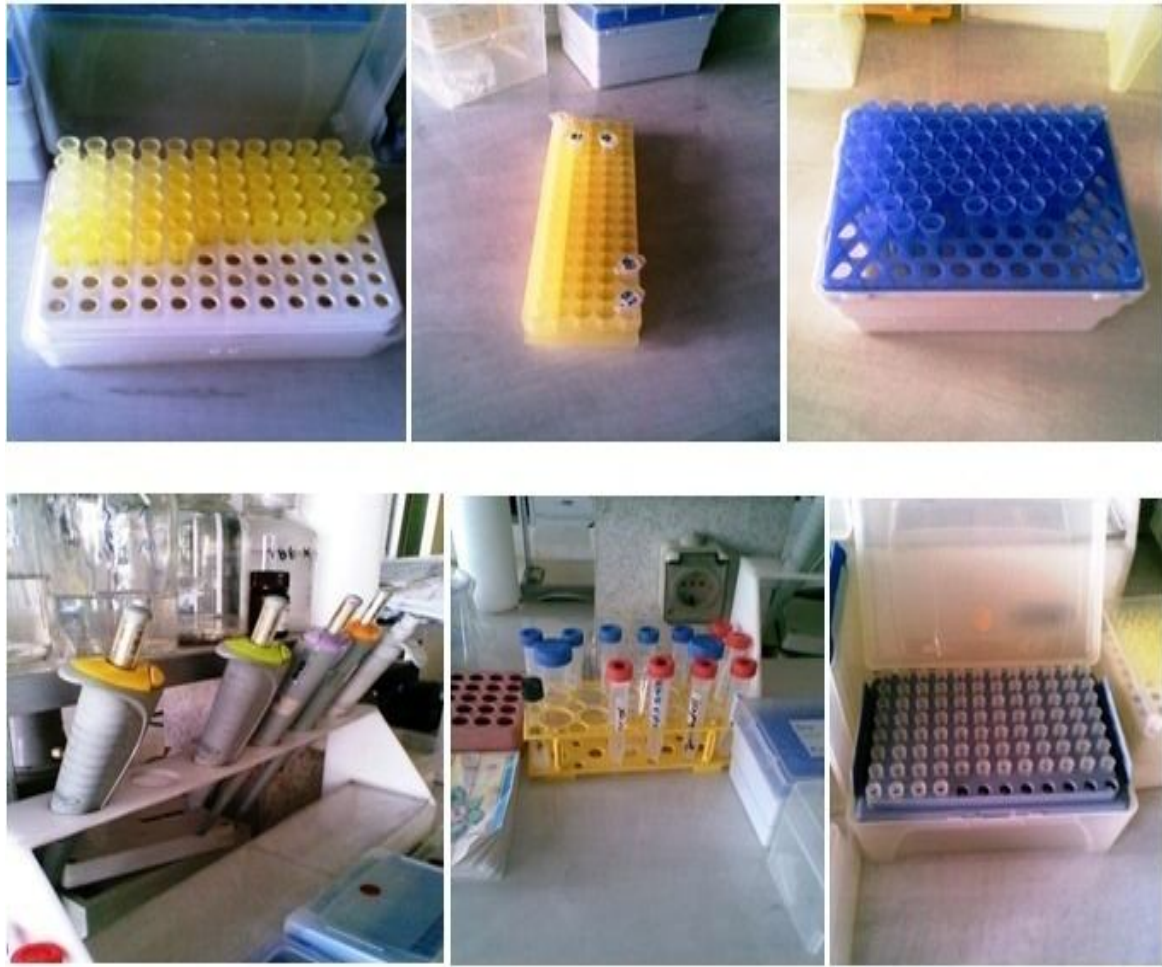
ثانياً: الإجراءات المتبعة في تحري الجينات في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية:

الأجهزة والمواد:

- جهاز التدوير الحراري Thermal cycler (TECHNE, TC-512, UK)
- منبذة (متقلة) Table top centrifuge
- حمام مائي رجاج Shaking water bath/Twin Cubator
- حمام رجاج Shaking platform/Twin Cubator
- حمام مائي Water bath (37 °م)
- حمام مائي Water bath (80 °م)
- حمام مائي Water bath (65 °م) اختياري لأجل إعادة الإماهة السريعة للـ DNA
- أنابيب منبذة Microcentrifuge tubes (1.5 مل).
- ممصات مناسبة Adjustable pipettes (10، 20، 200، 1000) ميكروليتر
- رؤوس ممصات معقمة ونبوذة (10، 100، 1000) ميكروليتر مع مرشحة
- أنابيب PCR (0.2 مل) خالية من الـ DNase والـ RNase
- ميزان حرارة Calibrated thermometer
- ورق نشاف Absorbent paper
- قفازات نبوذة Disposable gloves
- أنابيب اسطوانية مدرجة Graduated cylinder
- مؤقتة Timer
- ملقط Tweezers



شكل 31. يبين جهاز الـ PCR في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية (بعدسة الباحث)



شكل 32. يبين بعض الأدوات التي استعملت في مختبر البحوث الوراثية (ممصات، رؤوس، أنابيب PCR،....الخ)

(بعدسة الباحث)

- مواد استخلاص وتنقية الـ DNA، تمت عملية استخلاص وتنقية الـ DNA باستخدام المواد التالية:

- عتيدة Kit، تسمى الـ Wizard® Genomic DNA Purification (من شركة Promega، USA)، حملت الرقم A1120 تكفي 100 عينة، وصممت لاستخلاص وتنقية الـ DNA من خلايا الدم البيضاء وخلايا زرع النسيج والنسج الحيوانية ونسج النبات والخمائر، إضافةً إلى الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام، وتم تخزين كل مواد العتيدة عند درجة حرارة الغرفة (22 – 25 °م)، وهي تضم المواد الموضحة في الجدول التالي:

Product	Size	Cat. #
Wizard® Genomic DNA Purification Kit	100 isolations	A1120
- 100ml Cell Lysis Solution - 50ml Nuclei Lysis Solution - 25ml Protein Precipitation Solution - 50ml DNA Rehydration Solution - 250µl RNase Solution		

- مواد إضافية ضرورية مساعدة في استخلاص وتنقية الـ DNA وغير

موجودة في عتيدة استخلاص وتنقية الـ DNA ضمت المواد التالية:

- Isopropanol (مخزن بدرجة حرارة الغرفة)
- 70% إيثانول ethanol (مخزن بدرجة حرارة الغرفة)
- 50 ميلي مول من الـ EDTA (pH 8.0)
- 10 ملغ/مل من الـ lysozyme (شركة Sigma،
(USA
- 10 ملغ/مل من الـ lysostaphin (شركة
(USA، Sigma



شكل 33. يبين المواد التي تحتويها عتيدة الـ Wizard® Genomic DNA Purification

(بعدسة الباحث)

- عتيدة الـ GenoTypeMRSA (من شركة Hain Lifescience، ألمانيا)، وتتكون هذه العتيدة من المواد الموضحة في الجدول التالي:

ملاحظات	الكمية		المحتوى	المادة
	عتيدة 96	عتيدة 12		
	96	12	Strips	Membrane Strips coated with Specific Probes
	4ml	0.5ml	Primers نوعية، Nucleotides، صبغ	Primer Nucleotide Mix(PNM)
جاهز للاستعمال	2.4ml	0.3ml	NaOH (>2%)، صبغ	Denaturation Solution(DEN)
جاهز للاستعمال	120ml	20ml	anionic tenside (8-10%)، صبغ	Hybridization Buffer(HYB)
جاهز للاستعمال	120ml	20ml	مركب الأمونيوم الرباعي (<25%)، anionic tenside (>1%)، صبغ	Stringent Wash Solution (STR)
جاهز للاستعمال	360ml	50ml	anionic tenside (>1%)NaCl buffer (>1%)	Rinse Solution (RIN)
يحتاج لتحضير (يخلطان معاً)	1.2ml	0.2ml	Streptavidin-conjugated alkaline phosphatase، صبغ	Conjugate Concentrate (CON-C)
	120ml	20ml	NaCl (>1%)blocking reagent buffer (>1%)	Conjugate Buffer(CON-D)
يحتاج لتحضير (يخلطان معاً)	1.2ml	0.2ml	substrate ،Dimethyl Sulfoxide solution	Substrate Concentrate(SUB-C)
	120ml	20ml	NaCl (>1%)، MgCl ₂ (>1%) buffer	Substrate Buffer(SUB-D)
	4	1		tray
	4	1		evaluation sheet
	1	1		manual
	1	1		template



شكل 34. يبين المواد التي تحتويها عتيدة الـ GenoTypeMRSA (12، 96 عينة)

(بعدسة الباحث)

○ مواد إضافية غير محتواة في عتيدة الـ GenoTypeMRSA استعملت

في تضخيم عينة الـ DNA أيضاً وقد ضمت ما يلي:

- Thermostable DNA polymerase
- 10x polymerase incubation buffer
- $MgCl_2$ solution
- (molecular biology grade) Water

يخزن الـ Primer Nucleotide Mix (PNM) عند درجة حرارة 2-8 °م عند وصول العتيدة معزولاً من أي مصدر محتمل لتلويث الـ DNA، ونظراً لضرورة التخزين لفترة أطول (أكثر من 4 أسابيع)، فإن الشركة المصنعة تنصح بالتخزين عند درجة (-20 °م)، ولتجنب التجميد والذوبان المتكرر، فإنه يجب تقسيم الـ PNM، بينما تخزن بقية محتويات العتيدة الأخرى عند درجة 2-8 °م.



شكل 35. يبين المواد المحتواة في كلا عتيدتي استخلاص وكشف الـ DNA

(بعدسة الباحث)

تعد مقارنة الـ GenoTypeMRSA مقارنة جينية جزيئية للتمييز السريع للمكورات العنقودية المقاومة تجاه الـ methicillin من المادة المزروعة، وهي مقارنة تعتمد على تكنولوجيا DNA•strip (تقنية ذات حساسية ونوعية عالية لعزل وتضخيم ثم كشف الـ DNA أو الـ RNA بالتهجين على شريط غشائي مغلف بمسابير نوعية تهجن مع متواليات الحمض النووي)، تسمح هذه المقارنة بتمييز ذراري الـ *S.aureus* والـ *S.epidermidis*، وفي نفس الوقت يمكن أن تكشف عن جين الـ *mecA* الذي يتوسط المقاومة تجاه الـ methicillin وجينات الـ PVL (مبيدة الكريات البيضاء وعامل الفوعة ثنائي التكوين عند الـ *S.aureus*) أيضاً.

تملك مقايضة الـ GenoType® MRSA الميزات التالية:

- **قدرة التمييز:** تمنح تمييزاً موثقاً للـ S.aureus والـ S.epidermidis باختبار واحد وبالتالي بدء المعالجة والإجراءات الوقائية المناسبة
- **نوعية عالية:** يقدم الكشف المتزامن لجين الـ mecA والـ PVL نتائج واضحة وتمييز موثوق للـ MRSA وبالتالي التمييز بين الـ HA-MRSA والـ CA-MRSA
- **نتائج سريعة:** يزود إجراء الاختبار من مزرعة ليلية بنتائج خلال 4 ساعات فقط وبالتالي فإن هذا الاختبار يضمن تشخيصاً سريعاً

يمكن مراقبة جودة إجراء مقايضة الـ GenoTypeMRSA بشكل صحيح وعمل الكواشف بالشكل المناسب من خلال منطقتين للمراقبة على كل شريط كشف منتج من قبل الشركة المصنعة هما:

- **منطقة الـ Conjugate Control (CC)،** لفحص ارتباط المقترنة conjugate على الشريط والتفاعل المولد للون الصحيح

- **منطقة الـ Universal Control (UC)،** تكشف كل الأنواع الجرثومية
يتم إجراء مقايضة الـ GenoTypeMRSA بشكل عام وفقاً لـ 3 خطوات:

1. استخلاص الـ DNA من المادة المزروعة (جراثيم نامية حديثاً على أطباق الزرع)

2. تضخيم متعدد باستعمال مبدآت مزودة بالبيوتين

3. عملية تهجين عكوسة، وتتضمن عملية التهجين الخطوات التالية:

- **تمسيخ Denaturation** لنواتج الـ DNA المضخم (عملية تسخين شدة

الـ DNA بدرجات حرارة عالية مما يضعف الحلزون المزدوج فيتكك إلى

طاقين مفردين مما يسهل عملية ارتباط البريمرات)

- **تهجين للطاق المفرد**

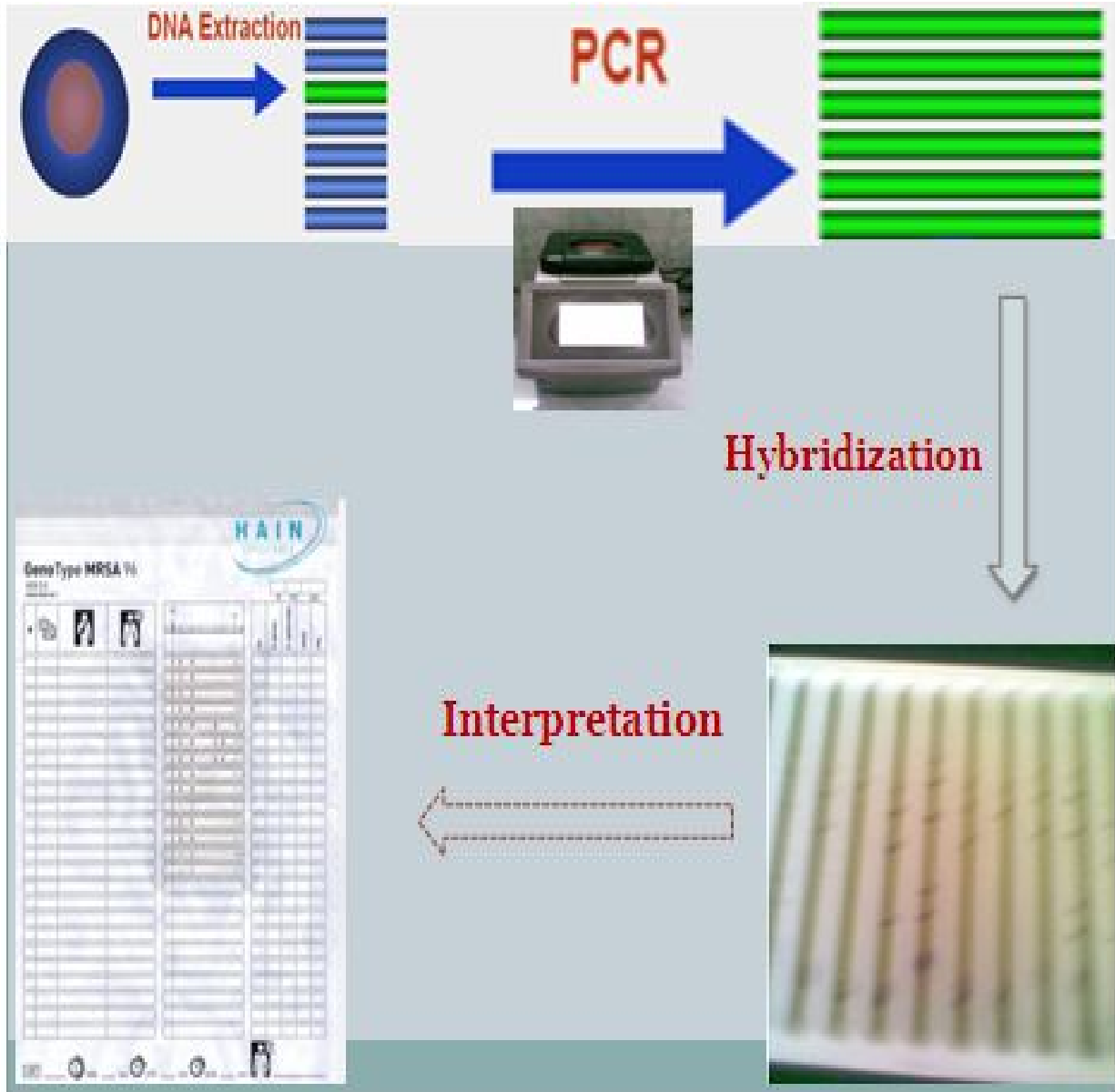
- **وسم حيوي** لنواتج الـ PCR إلى مسبار مرتبط بغشاء على شريط الكشف

- **عملية غسل شديدة**

- إضافة مقترنة الـ Streptavidin/alkaline phosphatase (AP) لأجل الإقتران

- تفاعل التلوين الذي يتوسط بالـ AP

4. قراءة وتفسير النتائج باستعمال قالب (سلم) template مرفقة ضمن محتويات العتيدة، والتي تؤمن تفسيراً سهلاً وسريعاً لنمط النطاقات التي تم الحصول عليها



شكل 36. يبين مراحل تنقية وتضخيم الـ DNA وكشف الجينات في مختبر البحوث والإستشارات الوراثية

خطوات العمل:

1. استخلاص وتنقية الـ DNA: يعتمد استخلاص الـ DNA بشكل عام باستعمال عتيدة

الـ Wizard® Genomic DNA Purification على 4 خطوات عملية هي:

- الخطوة الأولى: حل الخلايا والنوى
- الخطوة الثانية: خطوة الهضم بالـ RNase
- الخطوة الثالثة: إزالة وترسيب البروتينات الخلوية بالملح المرسب، الذي يرسب البروتينات ومخلفاً الـ DNA الجينومي (المجيني) عالي الوزن الجزيئي ضمن المحلول
- الخطوة الأخيرة: تركيز وتحلية الـ DNA الجينومي بالترسيب بالـ isopropanol

تم عزل الـ DNA بشكل سريع وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة باستعمال عتيدة الـ Wizard® Genomic DNA Purification، إضافة إلى خليط من الـ lysozyme والـ lysostaphin (مواد إضافية) لتحقيق حل كامل للخلايا الجرثومية، وذلك وفقاً للمراحل التالية:

1. إضافة 1 مل من مزرعة ليلية إلى 1.5 مل أنبوب منبذة مكروي
2. التنبيد (التفيل) عند 13,000 - 16,000 g x لمدة دقيقتين كي تتكون حبيبة من الخلايا، ثم إزالة الطافي
3. إعادة تعليق الخلايا بشكل كامل بواسطة 480 ميكروليتر من 50 ميلي مول من الـ EDTA
4. إضافة الإنزيم أو الإنزيمات الحالة المناسبة إلى حبيبة الخلايا الجرثومية المعاد تعليقها بحجم كلي 120 ميكروليتر، ثم المزج بلطف وببطء (الغاية من هذه المعالجة التمهيدية هو إضعاف جدار الخلية)، ولذلك فإن حلاً كافياً للخلية سوف يحصل
5. حضن العينة عند درجة حرارة 37 °م لمدة 30 - 60 دقيقة، ثم التنبيد لمدة دقيقتين عند 13,000 - 16,000 g x ، وبعد ذلك إزالة الطافي مرة أخرى
6. إضافة 600 ميكروليتر من المحلول الحال للنوى Nuclei Lysis Solution، وإعادة تعليق الخلايا بلطف باستعمال الممص pipette

7. الحضان عند 80 °م لمدة 5 دقائق لحل الخلايا، ثم التبريد حتى درجة حرارة الغرفة
8. إضافة 3 ميكروليتر من محلول الـ RNase إلى حُلاية الخلايا، وقلب الأنبوب من 2 - 5 مرات لأجل المزج
9. الحضان عند درجة حرارة 37 °م لمدة 15-60 دقيقة، ثم التبريد حتى درجة حرارة الغرفة
10. إضافة 200 ميكروليتر من المحلول المرسب للبروتين Protein Precipitation Solution إلى حُلاية الخلايا المعالجة بالـ RNase، ثم المزج بالـ Vortex بقوة وبسرعة كبيرة مدة 20 ثانية لمزج المحلول المرسب للبروتين مع حُلاية الخلايا
11. حضان العينة في الثلج مدة 5 دقائق
12. التثبيت عند 13,000-16,000 x g لمدة 3 دقائق
13. نقل الطافي المحتوي على الـ DNA إلى أنبوب منبذة مكروي 1.5 مل نظيف يحتوي 600 ميكروليتر من الـ isopropanol بدرجة حرارة الغرفة
14. المزج بلطف وذلك بقلب الأنبوب عدة مرات حتى تُشكّل طاقات الـ DNA التي تشبه الخيط كتلة مرئية
15. التثبيت عند 13,000-16,000 x g مدة دقيقتين
16. صب الطافي بحذر شديد، ثم نزح الأنبوب على ورقة ماصة نظيفة، وإضافة 600 ميكروليتر إيثانول 70% بدرجة حرارة الغرفة وقلب الأنبوب بلطف عدة مرات لأجل غسل حبيبية الـ DNA
17. التثبيت عند 13,000-16,000 x g لمدة دقيقتين، ثم رشف الـ ethanol بعناية وحذر
18. نزح الأنبوب على ورقة ماصة نظيفة والسماح للحبيبة أن تجف بالهواء لمدة 10-15 دقيقة
19. إضافة 100 ميكروليتر من محلول إعادة إماهة الـ DNA إلى الأنبوب وإمهاء Rehydration الـ DNA بالحضان عند درجة 65 °م لمدة 1 ساعة مع خلط المحلول بشكل دوري بالنقر اللطيف على الأنبوب، كما يمكن إعادة إماهة الـ DNA بشكل بديل بحضان المحلول ليلاً عند درجة حرارة الغرفة أو بدرجة حرارة 4 °م
20. تخزين الـ DNA المستخلص عند درجة حرارة من 2-8 °م

2. تضخيم amplification الـ DNA باستعمال الـ PCR، تمت عملية تضخيم شدف الـ DNA وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة باستعمال عتيدة الـ GenoTypeMRSA، وجهاز الـ PCR كما يلي:

- تحضير 45 ميكرو لتر من خليط التضخيم، تم تحضير خليط التضخيم في غرفة خالية من الـ DNA، الذي تألف من خلط (لكل أنبوب PCR) المواد التالية:

- 35 ميكرو لتر من المبدئات PNM
- 5 ميكرو لتر من الـ 10x polymerase incubation buffer
- 3 ميكرو لتر من محلول الـ $MgCl_2$
- 2-1 وحدة (0.4 ميكرو لتر) من thermostable DNA polymerase
- 1.6 ميكرو لتر من الماء المقطر

- إضافة عينة الـ DNA، تمت إضافة 5 ميكرو لتر (20-100 نانوغرام) من محلول الـ DNA المستخلص سابقاً خارج الغرفة الخالية من الـ DNA (مكان منفصل) إلى خليط التضخيم السابق ليصبح الحجم النهائي 50 ميكرو لتر

- برنامج جهاز الـ PCR، تمت برمجة الـ ThermalCycler لأجل:

مرة واحدة	15 دقيقة	95°م
دورة تكرر 22 مرة	20 ثانية	95°م تمسيخ
	30 ثانية	60°م تهجين

- أخيراً، يمكن أن تخزن نواتج التضخيم عند درجة حرارة من +8 إلى -20°م لحين العمل بالمرحلة التالية أو إجراء المرحلة التالية مباشرة دون تخزين



شكل 37. يبين عمل جهاز الـ PCR أثناء تضخم الـ DNA الـ S.aureus

(بعدسة الباحث)

3. **التهجين Hybridization**، تم فصل منتج الـ DNA المضخم باستعمال عتيدة الـ GenoTypeMRSA نفسها التي استعملت سابقاً في التضخيم ووفقاً لتعليمات الشركة المصنعة على النحو التالي:

- التحضير لعملية التهجين، قبل البدء بخطوات التهجين تم إجراء التحضيرات التالية:
 - تسخين مسبق للـ Shaking water bath/TwinCubator حتى 45°م (الانحراف الأعظمي المتحمل من درجة الحرارة الهدف يكون 1-/+°م)
 - تسخين مسبق لمحلول الـ Hybridization buffer (HYB) ومحلول الـ Stringent Wash (STR) حتى 37-45°م قبل الاستعمال
 - تسخين الكواشف المتبقية باستثناء الـ CON-C والـ SUB-C حتى درجة حرارة الغرفة

- باستعمال أنبوب مناسب، تمديد الـ CON-C (برتقالي) بالـ CON-D (buffer خاص)، والـ SUB-C (أصفر) بالـ CON-D (buffer خاص) بنسبة 1:100 وبالكميات الضرورية (مثلاً إضافة 10µl من الركازة concentrate إلى 1 مل من الـ buffer الخاص لكل شريط كشف)، ويتم مزجها جيداً، ثم تحفظ في درجة حرارة الغرفة (يجب أن يمدد الـ CON-C قبل كل استعمال، بينما يبقى الـ SUB-C الممدد ثابتاً لمدة 4 أسابيع إذا خُزن في درجة حرارة الغرفة وفي الظلمة)

• عملية التهجين، تم إجراء التهجين بإتباع خطوات العمل التالية:

- 1- توزيع 20 ميكروليتر من محلول الـ Denaturation (DEN) ذو اللون الأزرق في زاوية كل بئر مستعمل
- 2- إضافة 5-20 ميكروليتر من العينة المضخمة إلى محلول الـ DEN، والخلط الجيد، ثم الحضانة في درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق
- 3- إخراج أشرطة الكشف strips خارج أنبوب الأشرطة بشكل متزامن مع الخطوة رقم 2 باستعمال ملقط، ثم رسمها أو تعليمها باستعمال قلم رصاص تحت العلامة الملونة الموجودة على كل شريط كشف، ويجب دائماً ارتداء قفازات عند مسك أشرطة الكشف
- 4- إضافة 1 مل من محلول الـ HYB (أخضر) إلى كل بئر، ثم هز الصينية tray بلطف حتى يصبح المحلول متجانس اللون، ويجب أثناء الهز أخذ الحيلة حتى لا يفيض المحلول إلى الآبار المجاورة
- 5- وضع شريط كشف في كل بئر بحيث تُغمر بشكل كامل بالمحلول، ويكون الجانب المغلف من الشريط الكاشف (يميز بالعلامة الملونة بجانب النهاية السفلية) إلى الأعلى، ويجب استعمال ملقط لقلب أشرطة الكشف التي يجب أن تُقلب عند غمسها في المحلول، كما يجب غسل الملقط بعناية بعد كل استخدام لتجنب التلوث، والذي يجب أن يطبق أيضاً على كل الخطوات اللاحقة
- 6- وضع الصينية في حمام مائي رجاج، والحضانة مدة 30 دقيقة عند درجة حرارة 45°م، وهنا يجب ضبط تواتر اهتزاز حمام الماء لإنجاز خلط ثابت وكامل للمحلول، كما يجب

أن تُغمس الصينية في الماء على الأقل إلى ثلث ارتفاعها لكي تسمح بانتقال وتوزيع كاف لدرجة الحرارة

7- رشف محلول الـ HYB بشكل كامل، حيث يمكن استعمال ممصة Pasteur موصولة إلى مضخة ماصة suction

8- إضافة 1 مل من محلول الـ STR (أحمر) إلى كل شريط كشف، ثم الحضان لمدة 15 دقيقة عند درجة حرارة 45°م في حمام مائي رجّاج أيضاً

9- إزالة محلول الـ STR بشكل كامل، بحيث يُسكب خارج الصينية في وعاء النفاية وإزالة كل السائل المتبقي بإدارة الصينية إلى الأعلى والأسفل وضربها بلطف على ورق ماص، وهذا يطبق أيضاً على كل خطوات الغسل الأخرى، كما يجب أن يتم العمل في درجة حرارة الغرفة إعتباراً من هذه الخطوة وما بعدها

10- غسل كل شريط مرة واحدة بـ 1 مل من محلول الـ Rinse (RIN) مع الحضان على حمام رجّاج مدة 1 دقيقة، ثم إزالة الـ RIN بالسكب خارج الصينية بعد الحضان

11- إضافة 1 مل من المقترنة Conjugate الممددة إلى كل شريط كشف، ثم الحضان مدة 30 دقيقة على حمام رجّاج

12- إزالة المحلول وغسل كل شريط كشف مرتين مدة 1 دقيقة بمحلول الـ RIN، ثم الغسل بـ 1 مل تقريباً من الماء المقطر مرة واحدة مدة دقيقة على حمام رجّاج، والسكب خارج الصينية للمحلول في كل مرة، كما يجب التأكد من إزالة أي كميات زهيدة من الماء بعد الغسل الأخير

13- إضافة 1 مل من محلول التلوين Substrate الممدد (المحفوظ من الضوء) إلى كل شريط كشف، ثم الحضان بدون هز، واعتماداً على ظروف الاختبار (كدرجة حرارة الغرفة مثلاً)، فإن زمن حضان الـ Substrate يمكن أن يختلف بين 3 و 20 دقيقة، حيث أن زمن حضان الـ Substrate المديد يمكن أن يقود إلى زيادة تلوين الخلفية والذي يمكن أن يخل بتفسير النتائج

14- إيقاف التفاعل بالشطف السريع مرتين باستعمال الماء المقطر

15- إزالة وإخراج أشرطة الكشف من الصينية باستعمال ملقط، ثم تجفيفها بين طبقتي ورقة ماصة ريثما يتم تفسير النتائج في المرحلة التالية

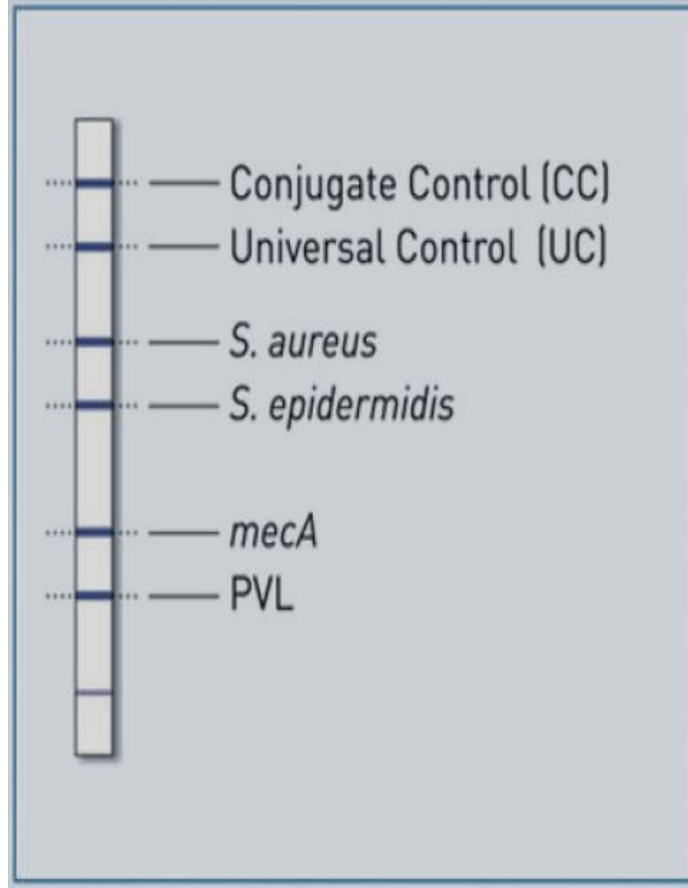


شكل 38. بين مراحل عملية التهجين وإظهار النتائج

(بعدسة الباحث)

4. تقييم و تفسير النتائج:

بعد تجفيف أشرطة الكشف في المرحلة السابقة يتم لصقها وتخزينها محمية من الضوء على صحيفة أو ورقة التقييم (مقدمة من الشركة المصنعة ضمن العتيدة)، التي تضمن تفسيراً سهلاً وسريعاً لنمط النطاقات التي يتم الحصول عليها بعد عملية التلوين، ثم تتم قراءة النتائج بالعين المجردة، حيث يحوي كل شريط كشف على 6 مناطق تفاعل كما هو موضح في الشكل التالي.

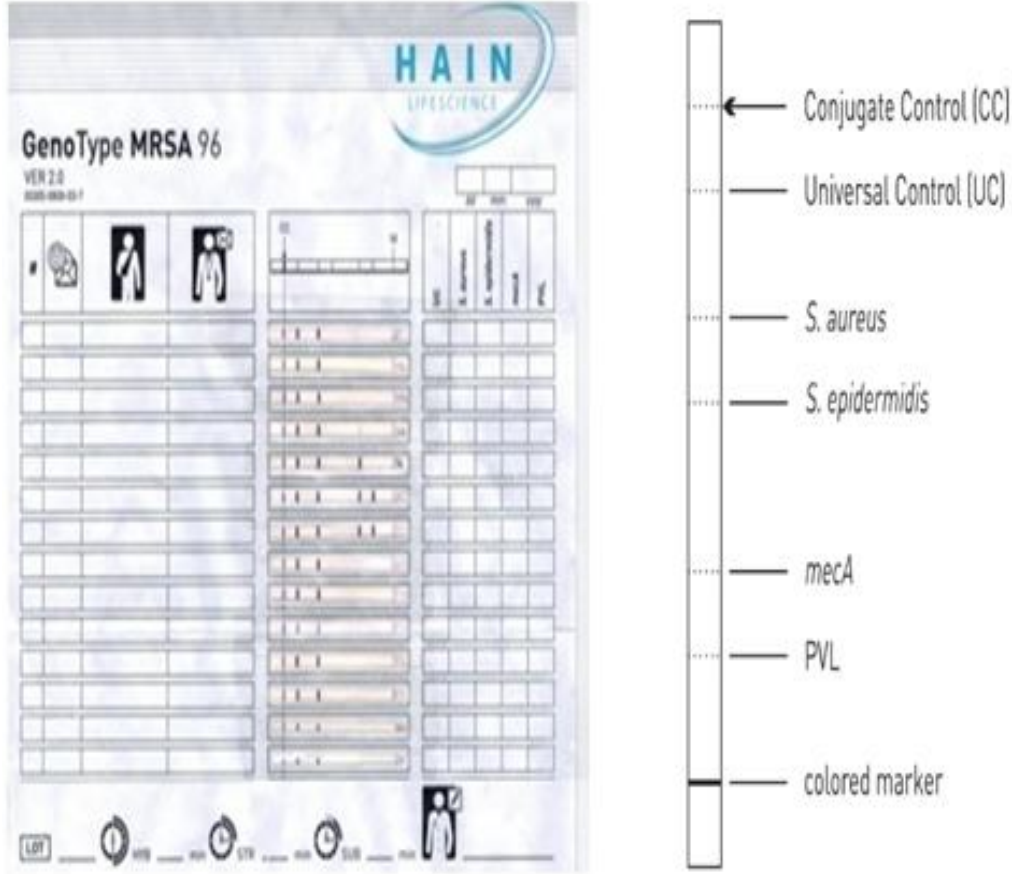


شكل 39. يبين مناطق التفاعل على شريط الكشف

- الـ Conjugate Control (CC)، خط يجب أن يتطور في هذه المنطقة موثقاً كفاية ارتباط المقترنة Conjugate وتفاعل التلوين بالـ Substrate
- الـ Universal Control (UC)، يوجه هذا المسبار تجاه منطقة الـ DNA المحافظ عليها بين الأنواع الجرثومية والتي تظهر في كل الأنواع الجرثومية المختبرة، فهو يُشير إلى وجود الـ DNA الجرثومي والتنفيذ الصحيح لاستخلاص وتضخيم الـ DNA
- النطاقات الأخرى، هي مسابير نوعية لأجل تقييم (كما هو موضح في الشكل السابق)

الـ *S.aureus*، الـ *S.epidermidis*، الـ *mecA* والـ PVL

وأخيراً يجب الأخذ بعين الاعتبار أن النطاقات لا تظهر كلها بنفس قوة الإشارة على شريط الكشف، كما يجب أن نلاحظ أنه في حالة لم تعط النطاقات الأخرى (غير الشاهدة) إشارات إيجابية، تكون المناطق الشاهدة إيجابية التلوين، بينما في حالة لم تظهر المناطق الشاهدة فإن هذه الحالة تعني حدوث تفاعل سلبي كاذب، وبالتالي يجب إعادة الاختبار.



شكل 40. يبين شريط وورقة تقييم وتفسير النتائج

وأخيراً يمكن أن نلخص خطة العمل السابقة بالنقاط التالية:

- 1) كشف وتحري المكورات العنقودية الذهبية المقاومة تجاه الـ methicillin (MRSA) بالانتشار القرصي في مختبر مستشفى الأطفال
- 2) كشف الجينات باستعمال جهاز الـ PCR في مختبر البحوث والاستشارات الوراثية
- 3) مقارنة نتائج جهاز الـ PCR للمقاومة مع نتائج الانتشار القرصي
- 4) تحري نسبة الجراثيم المقاومة تجاه الـ vancomycin
- 5) تحري نسبة الجراثيم المقاومة تجاه الـ teicoplanin

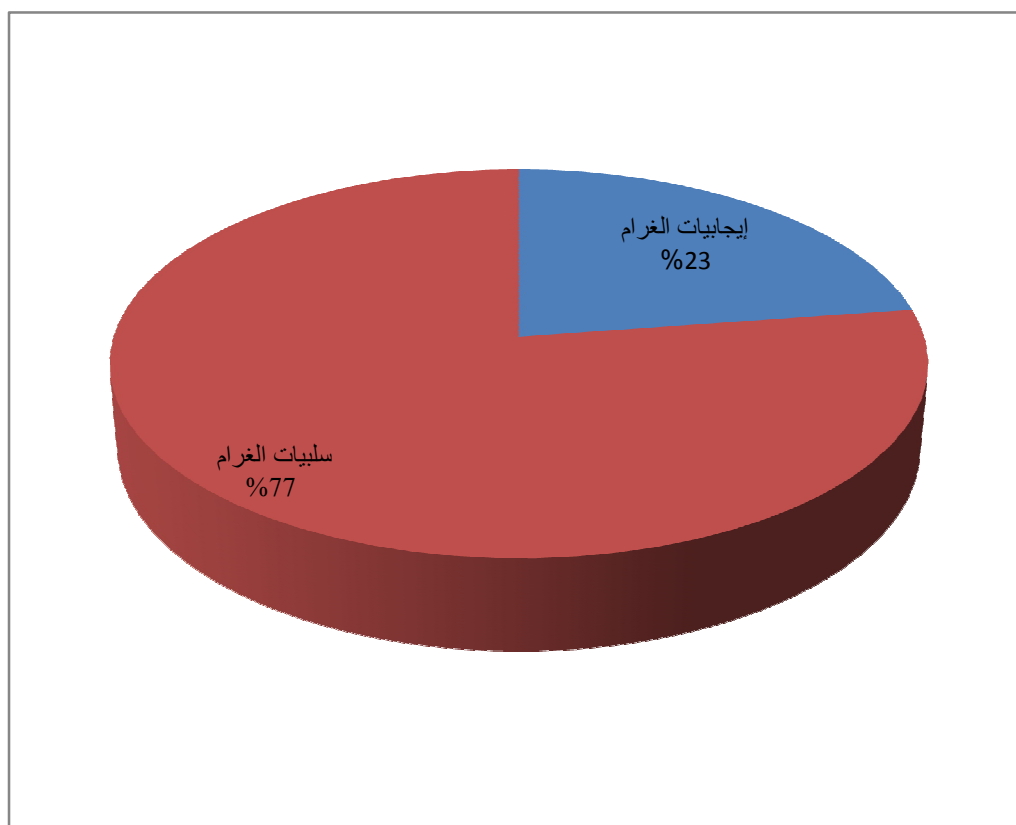
النتائج

Results

أظهرت الدراسة لـ 100 من عزولات الـ S.aureus المستفردة من نواحي مختلفة من جسم المرضى (قيح، دم، بول، CSF، مفرزات قصبية....الخ) خلال الفترة من 2011\9\12 إلى 2014\3\31 من المرضى في مستشفى الأطفال النتائج المبينة في الجداول والمخططات التالية:

جدول 5. يبين توزيع الجراثيم المعزولة حسب تلوين غرام خلال فترة الدراسة

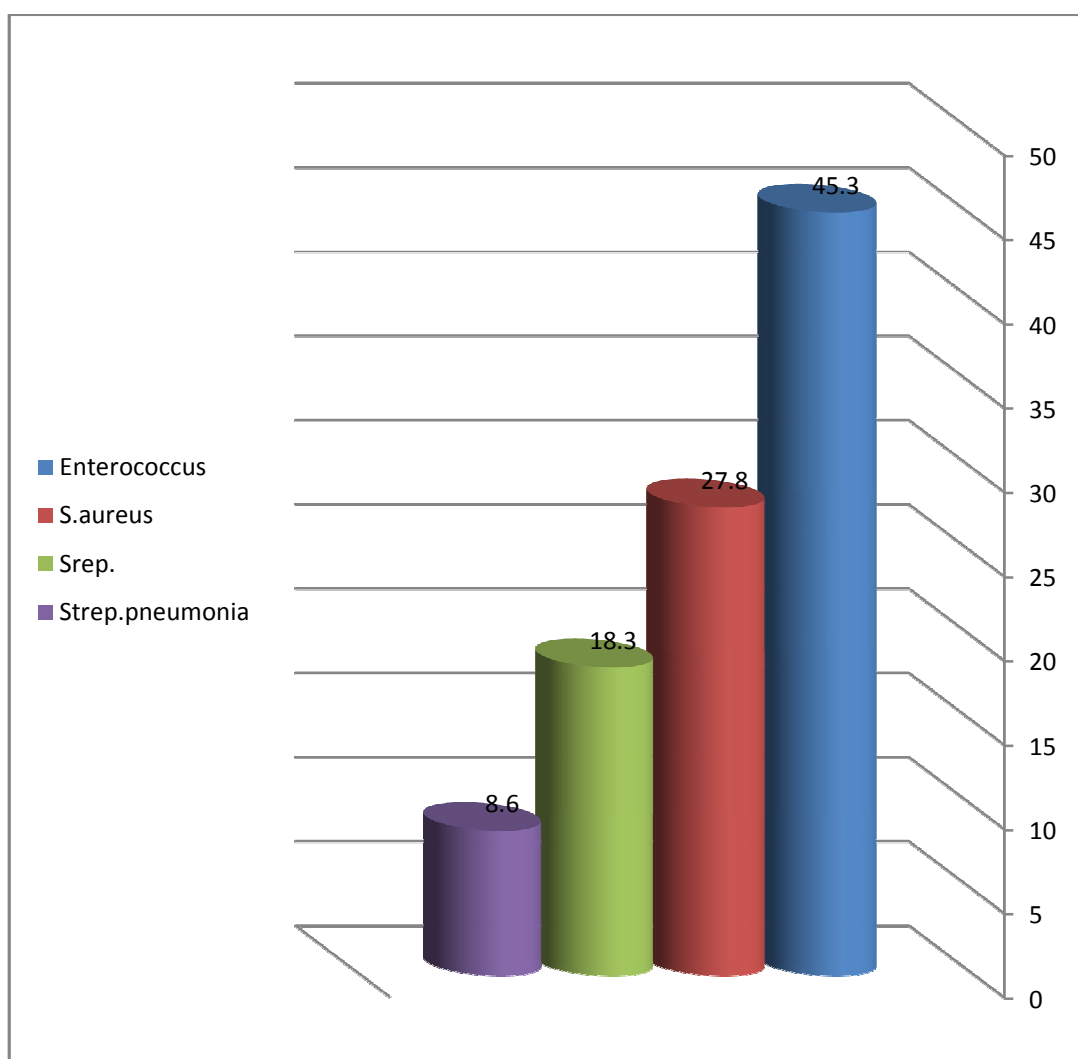
العزولات	عدد	%
إيجابيات الغرام	360	22.7
سلبيات الغرام	1227	77.3
المجموع	1587	100



مخطط 1. يبين النسبة المئوية للجراثيم المعزولة حسب تلوين غرام

جدول 6 يبين النسب المئوية للعزولات الجرثومية إيجابية الغرام حسب شيوعها

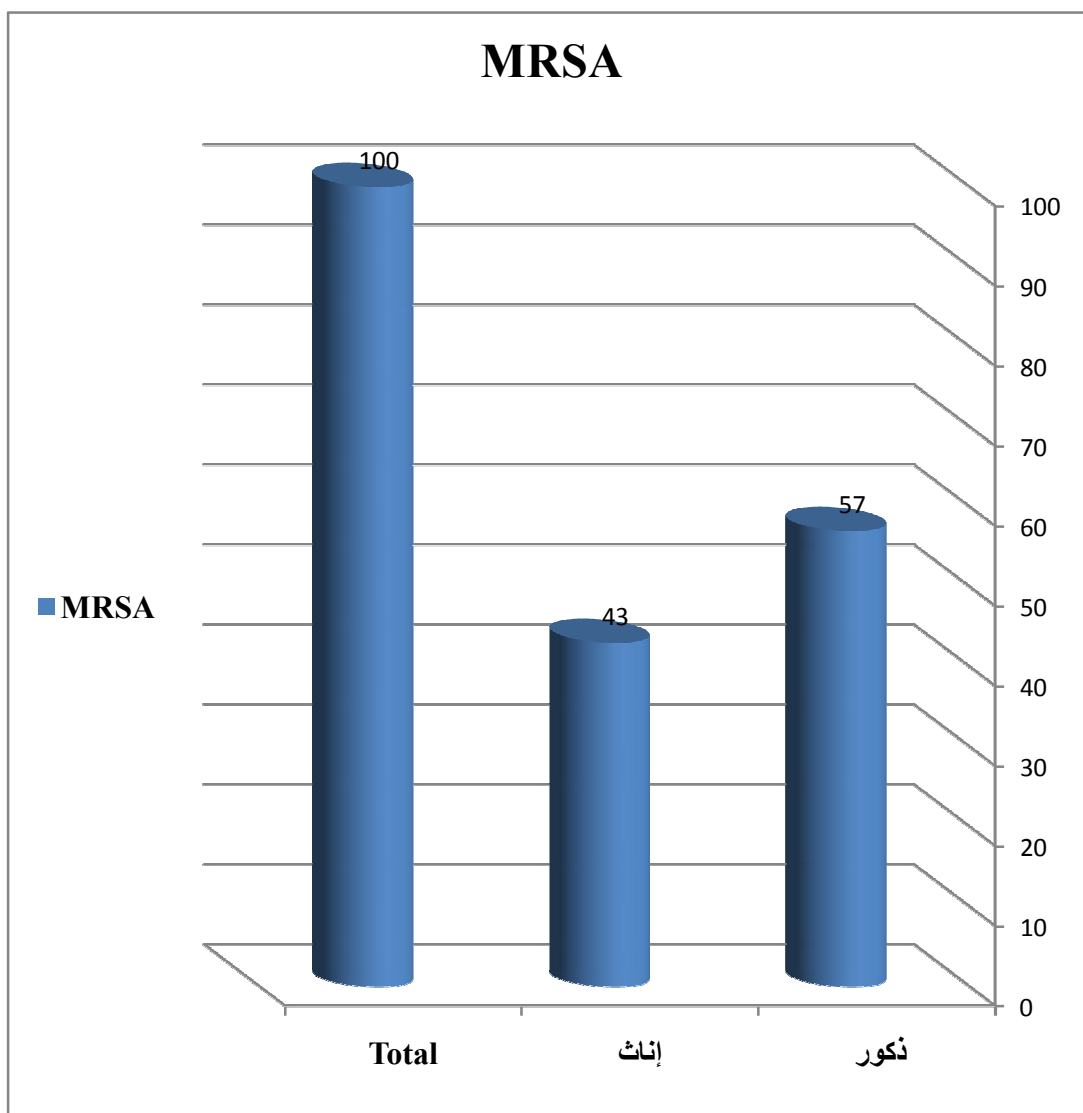
العزولة	عدد	%
Enterococcus	163	45.3
S.aureus	100	27.8
Streptococcus	66	18.3
Strep. pneumonia	31	8.6
المجموع	360	100



مخطط 2 يبين النسب المئوية للعزولات الجرثومية إيجابية الغرام حسب شيوعها

جدول 7. يبين النسبة المئوية لانتشار الـ S.aureus والـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث

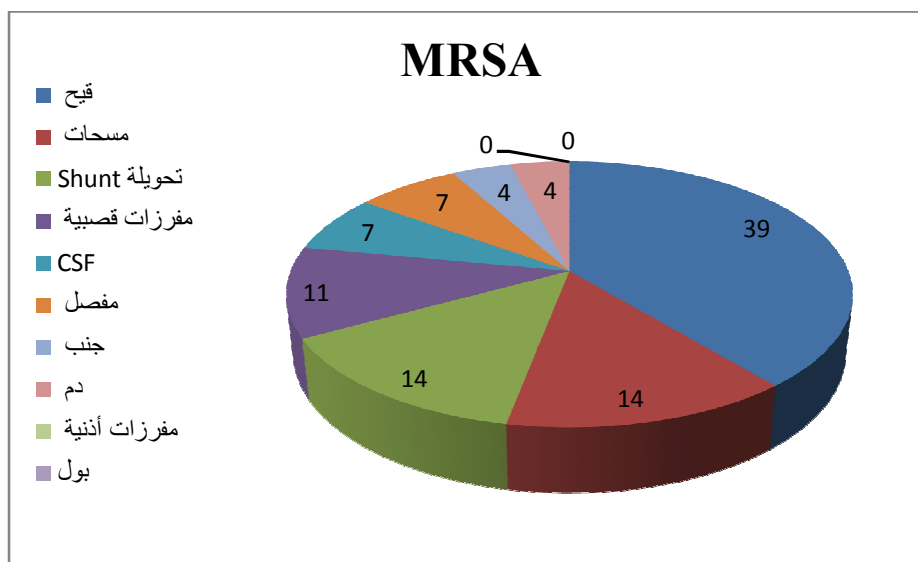
الجنس		ذكور		إناث		المجموع	
العزولات		عدد	%	عدد	%	عدد	%
MRSA		16	57	12	43	28	100
S.aureus		64	64	36	36	100	100



مخطط 3. يبين النسبة المئوية لانتشار الـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث

جدول 8. يبين توزيع الـ S.aureus والـ MRSA حسب مصدر العينة

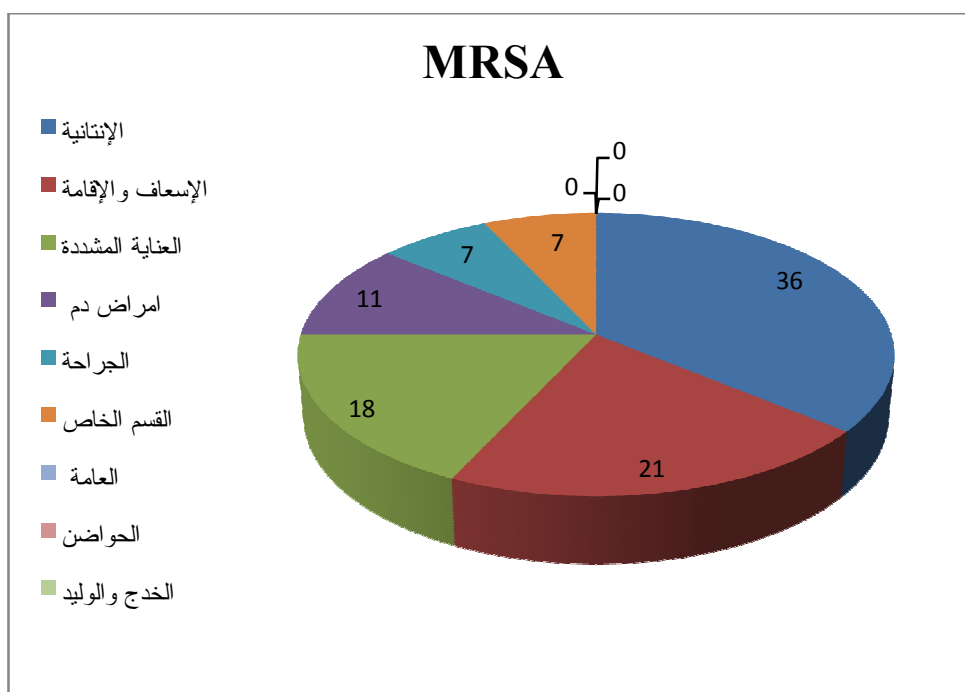
S.aureus		MRSA		العزولات
%	عدد	%	عدد	مصدر العينة
33	33	39	11	قيح
16	16	14	4	مسحات
10	10	14	4	تحويلة
12	12	11	3	مفرزات قصبية
10	10	7	2	CSF
7	7	7	2	مفصل
2	2	4	1	جنب
1	1	4	1	دم
5	5	0	0	مفرزات أذنية
4	4	0	0	بول
100	100	100	28	جميع المصادر



مخطط 4. يبين معدلات توزيع الـ MRSA حسب مصدر العينة

جدول 9. يبين توزيع الـ S.aureus والـ MRSA بحسب شعب المستشفى

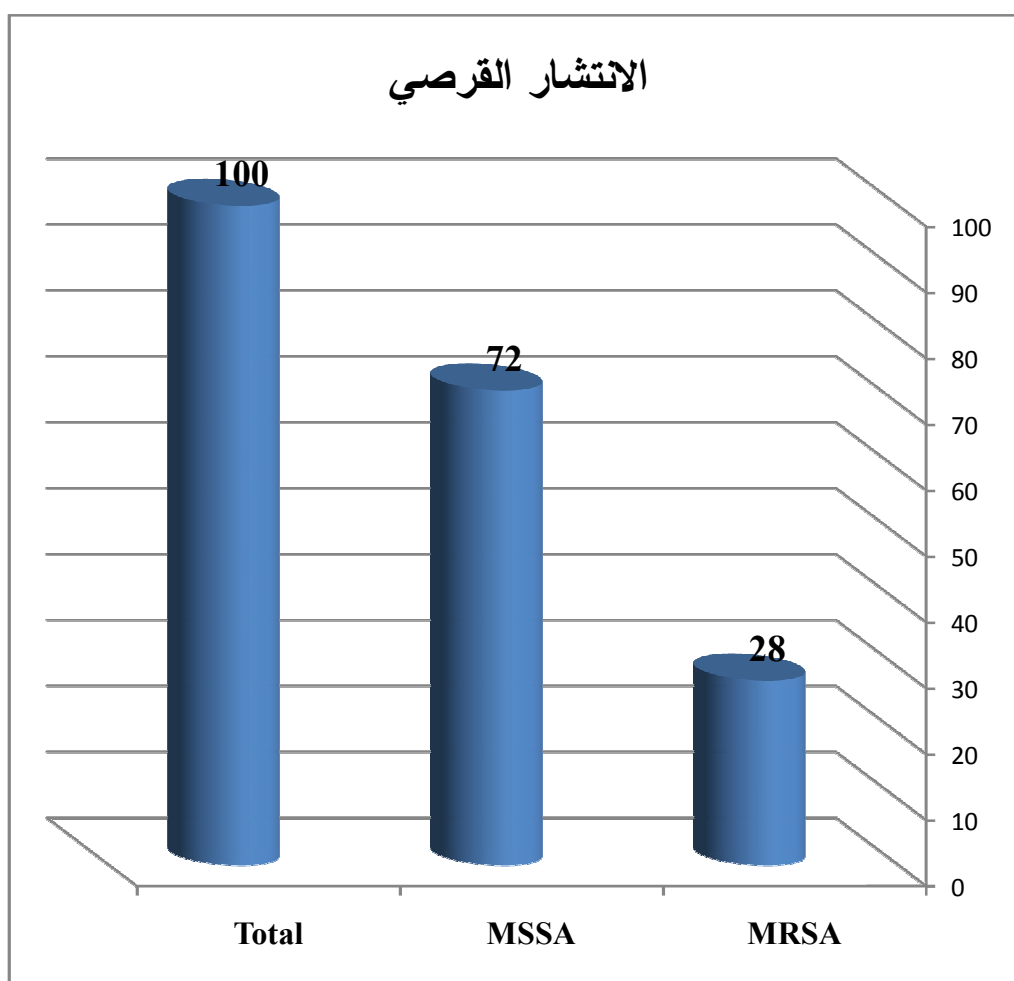
S.aureus		MRSA		العزولات الشعبة
%	عدد	%	عدد	
34	34	36	10	الإنتانية
27	27	21	6	الإسعاف والإقامة
7	7	18	5	العناية المشددة
12	12	11	3	أمراض الدم
6	6	7	2	جراحة
5	5	7	2	القسم الخاص
6	6	0	0	الحواضن
3	3	0	0	العامة
0	0	0	0	الخدج والوليد
100	100	100	28	كامل المستشفى



مخطط 5. يبين معدلات توزيع الـ MRSA بحسب شعب المستشفى

جدول 10. يبين مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة الانتشار القرصي في كامل المستشفى

الإجمالي		S.aureus				العزولات الطريقة
		MSSA		MRSA		
%	عدد	%	عدد	%	عدد	الانتشار القرصي
100	100	72	72	28	28	

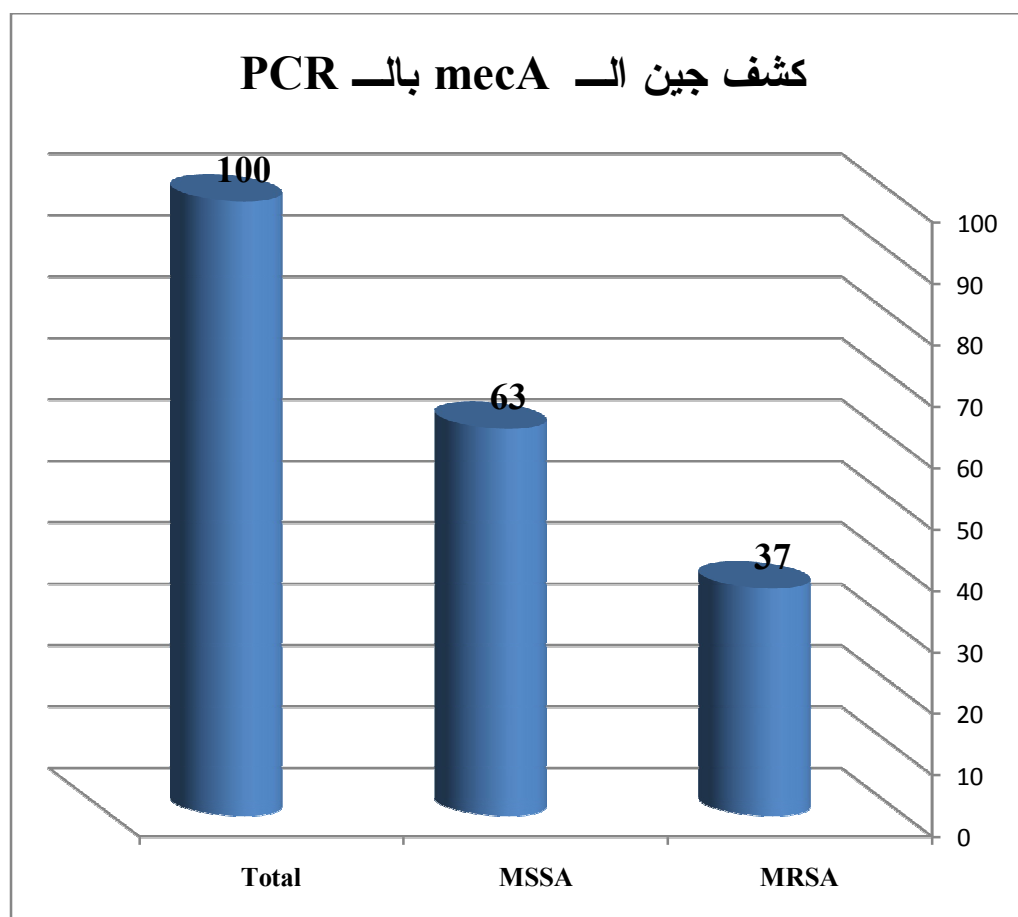


مخطط 6. يبين مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin بطريقة الانتشار القرصي في كامل المستشفى

جدول 11. يبين مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin

بطريقة كشف جين الـ mecA باستعمال الـ PCR

الإجمالي		S.aureus				العزولات الطريقة
		MSSA		MRSA		
%	عدد	%	عدد	%	عدد	كشف جين mecA بالـ PCR
100	100	63	63	37	37	

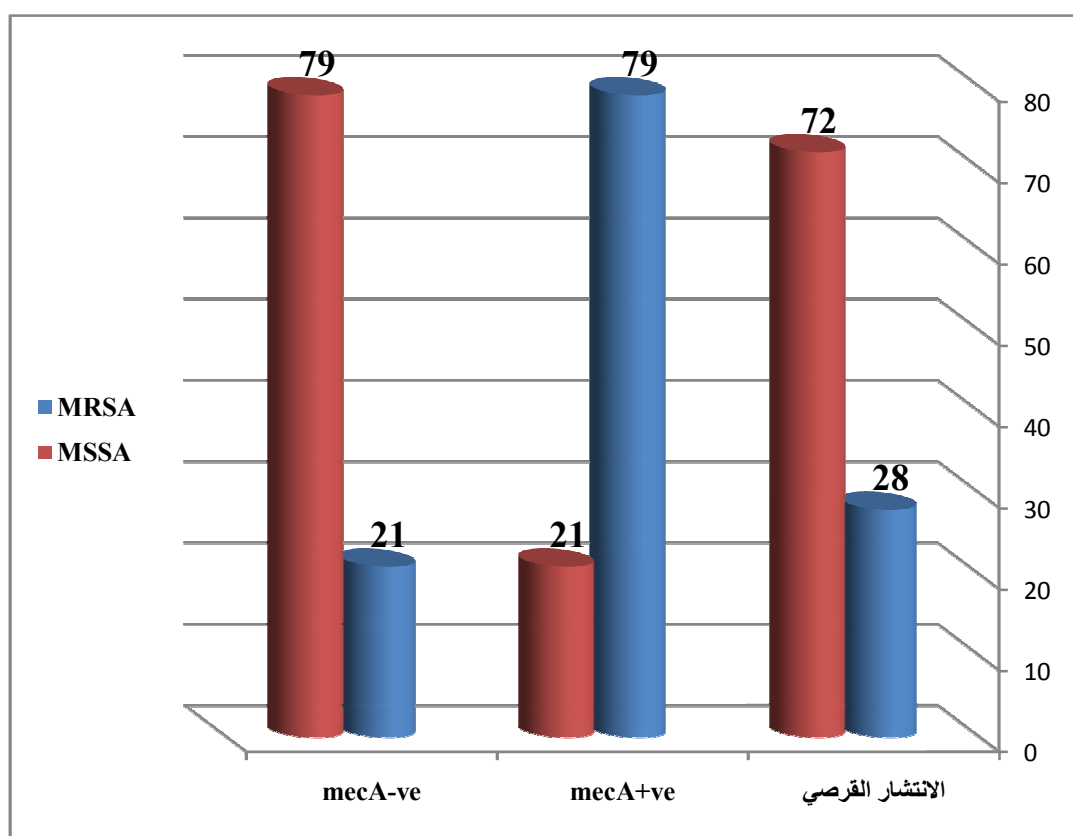


مخطط 7. يبين مقارنة معدلات انتشار الـ S.aureus المقاومة والحساسية تجاه الـ oxacillin

بطريقة كشف جين الـ mecA باستعمال الـ PCR

جدول 12. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جين الـ *mecA* عند عزولات الـ *S.aureus* (MRSA، MSSA) والانتشار القرصي

المجموع		كشف جين الـ mecA بالـ PCR							
		-ve		+ve		S.aureus			
%	عدد	%	عدد	%	عدد				
28	28	21	6	79	22	MRSA			
72	72	79	57	21	15	MSSA			
100	100	100	63	100	37	المجموع			



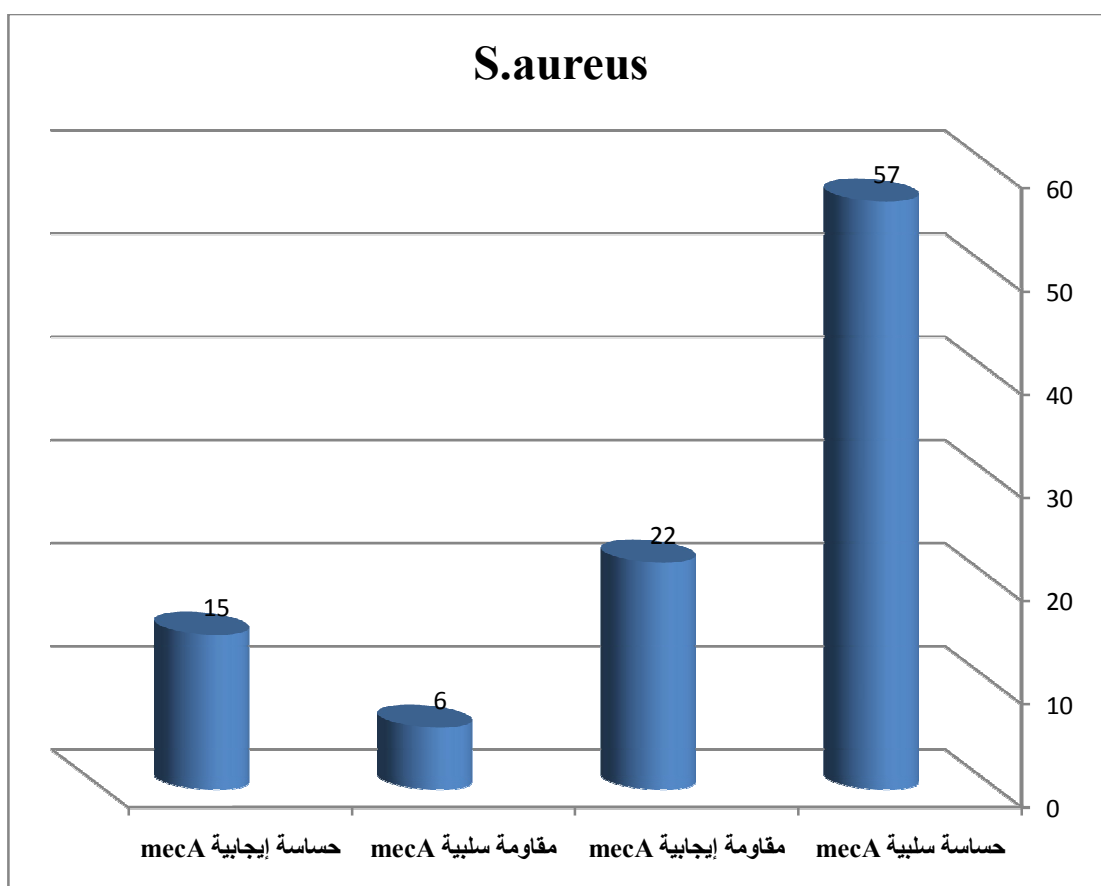
مخطط 8. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جين الـ *mecA* عند عزولات الـ *S.aureus* (MRSA، MSSA) والانتشار القرصي

جدول 13. يبين النتائج التفصيلية للعزولات التي أظهرت عدم توافق بين نتائج اختبار الانتشار القرصي ووجود جين الـ *mecA* المعتمد على الـ PCR

رقم العزولة	الانتشار القرصي	كشف جين الـ <i>mecA</i>
13	S	+ve
14	S	+ve
19	S	+ve
25	S	+ve
40	S	+ve
43	S	+ve
44	S	+ve
63	S	+ve
68	S	+ve
70	S	+ve
73	S	+ve
77	S	+ve
78	S	+ve
81	S	+ve
89	S	+ve
11	R	-ve
59	R	-ve
60	R	-ve
66	R	-ve
84	R	-ve
88	R	-ve

جدول 14. يبين نسب عزولات الـ S.aureus التي أظهرت توافق وعدم توافق مقارنة بين طريقتي الانتشار القرصي وكشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR

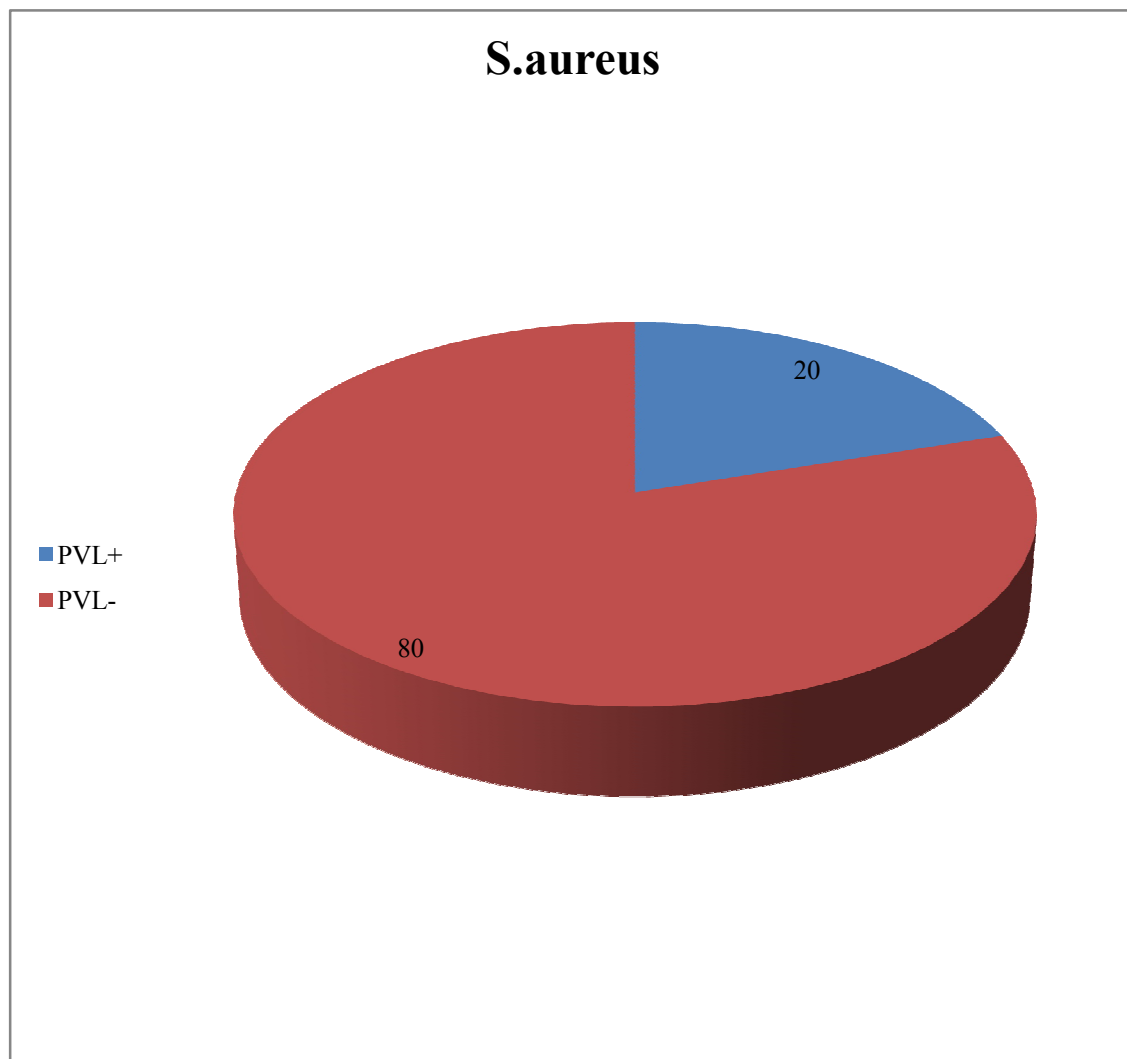
	غير المتوافقة بالطريقتين (%)			المتوافقة بالطريقتين (%)	
	مقاومة بالانتشار القرصي سلبية جين الـ mecA	حساسية بالانتشار القرصي إيجابية جين الـ mecA		مقاومة بالانتشار القرصي إيجابية جين الـ mecA	حساسية بالانتشار القرصي سلبية جين الـ mecA
المجموع (%)	6	15	79	22	57
21					



مخطط 9. يبين نسب عزولات الـ S.aureus التي أظهرت توافق وعدم توافق مقارنة بين طريقتي الانتشار القرصي وكشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR

جدول 15. يبين معدلات انتشار جينات الـ PVL عند عزولات الـ S.aureus

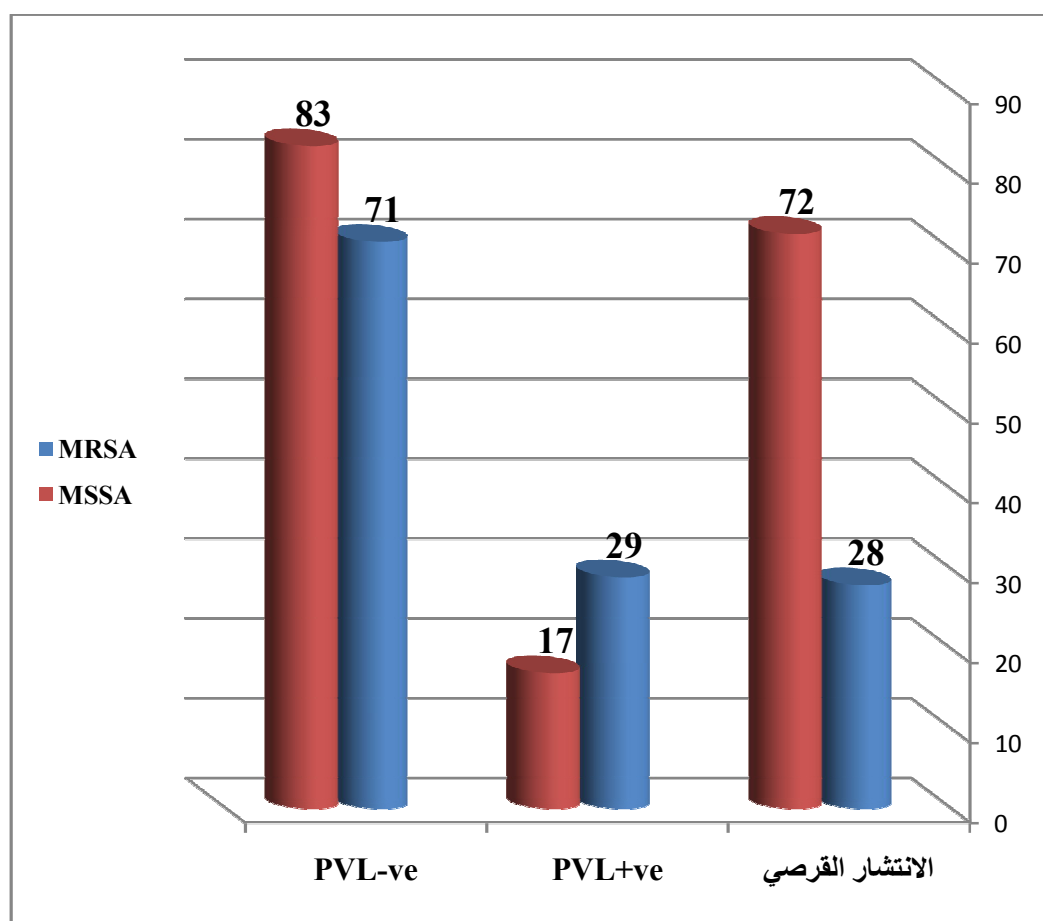
المجموع		الـ PVL				لعزولات
		-ve		+ve		
%	عدد	%	عدد	%	عدد	الـ S.aureus
100	100	80	80	20	20	



مخطط 10. يبين معدلات انتشار جينات الـ PVL عند عزولات الـ S.aureus

جدول 16. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MRSA، MSSA) والانتشار القرصي

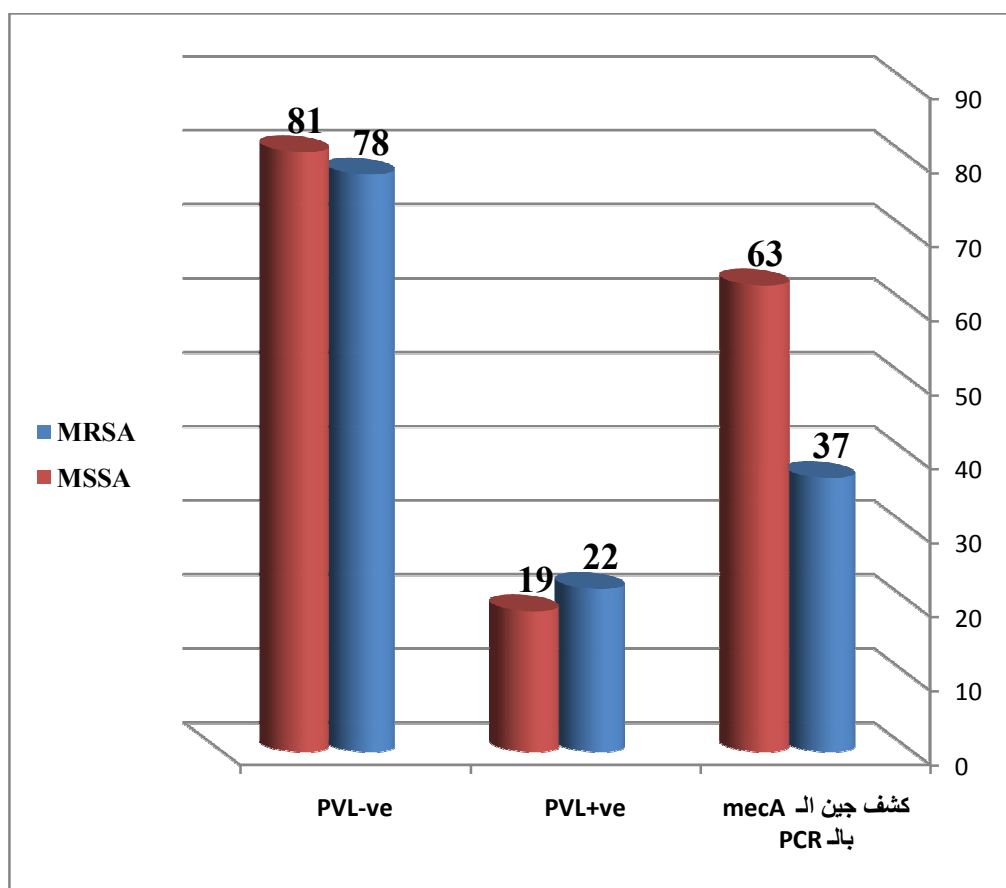
المجموع		كشف جينات الـ PVL بالـ PCR				S.aureus	S.aureus	الانتشار القرصي
		-ve		+ve				
%	عدد	%	عدد	%	عدد			
100	28	71	20	29	8	MRSA		
100	72	83	60	17	12	MSSA		



مخطط 11. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MRSA، MSSA) والانتشار القرصي

جدول 17. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MRSA، MSSA) وطريقة كشف جين الـ mecA بالـ PCR

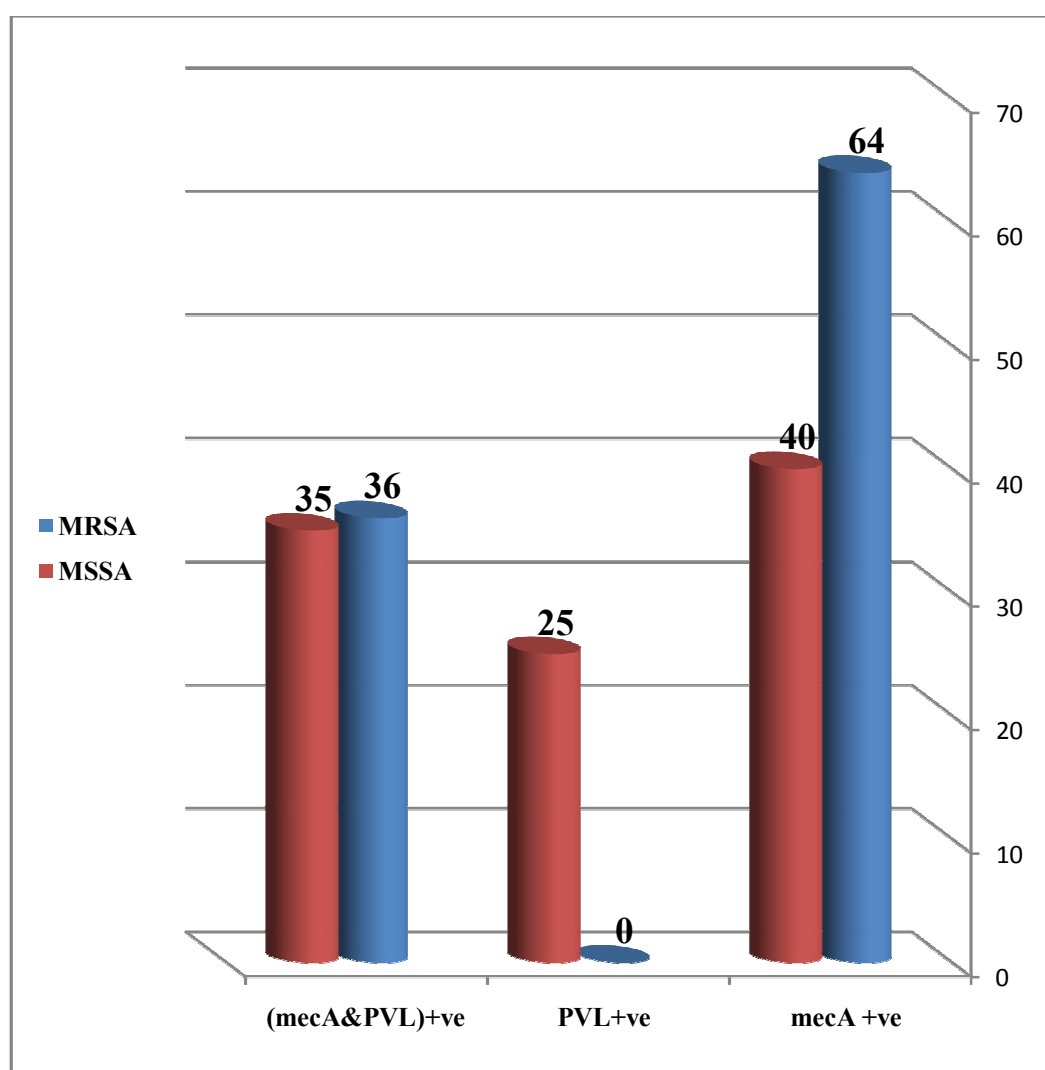
المجموع		كشف جينات الـ PVL بالـ PCR						
		-ve		+ve		S.aureu s		
%	عدد	%	عدد	%	عدد			
100	37	78	29	22	8	MRSA	S.aureus	كشف جين الـ mecA بالـ PCR
100	63	81	51	19	12	MSSA		



مخطط 12. يبين مقارنة بين معدلات انتشار جينات الـ PVL بين عزولات الـ S.aureus (MRSA، MSSA) وطريقة كشف جين الـ mecA بالـ PCR

جدول 18. يبين نسب تواجد الـ *mecA* والـ *PVL* معاً عند الـ *S.aureus* (MSSA)،
(MRSA)

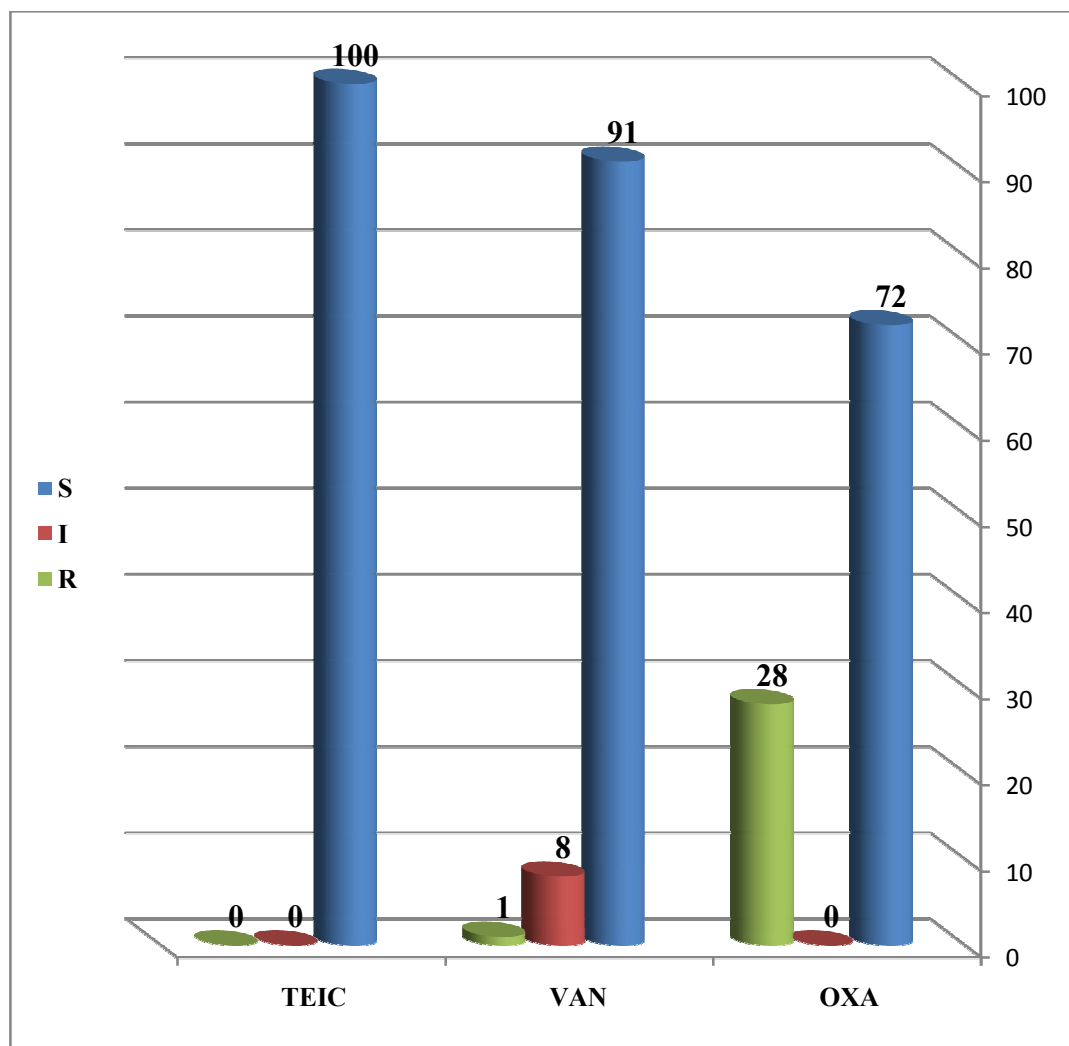
المجموع		كشف الـ <i>mecA</i> والـ <i>PVL</i> بالـ PCR						S.aureus
		<i>(mecA+PVL)</i> ^{+ve}		<i>PVL</i> ^{+ve} فقط		<i>mecA</i> ^{+ve} فقط		
%	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	
100	22	36	8	0	0	64	14	MRSA
100	20	35	7	25	5	40	8	MSSA



مخطط 13. يبين نسب تواجد الـ *mecA* والـ *PVL* معاً عند الـ *S.aureus* (MSSA)،
(MRSA)

جدول 19. يبين التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه الـ OXA والـ VAN والـ TEIC

المجموع		التحسس الجرثومي						المضاد الحيوي
		R		I		S		
%	عدد	%	عدد	%	عدد	%	عدد	
100	100	28	28	0	0	72	72	OXA
		1	1	8	8	91	91	VAN
		0	0	0	0	100	100	TEIC



مخطط 14. يبين التحسس الجرثومي للـ S.aureus تجاه الـ OXA والـ VAN والـ TEIC

المناقشة

Discussion

ظهرت الـ MRSA على مدى العقد الماضي كعوامل ممرضة كثيرة التواتر ضمن المستشفيات والمجتمعات، وتسببت بارتفاع معدلات المراضة وفترة الاستشفاء والوفيات، كما تسببت بزيادة تكاليف الرعاية الصحية في كثير من بلدان العالم مقارنةً بالعوامل الممرضة الأخرى ونظراً لتزايد استعمال الـ vancomycin والـ teicoplanin في معالجة عدوى الـ MRSA التي بدأت تظهر نقصاً في الحساسية أوحى مقاومةً تجاهها، فإن تفشيها وانتشارها أصبح يُشكل قلقاً وتحدياً خطيراً يواجه مقدمي الرعاية الصحية في سياق معالجة العدوى المسببة بها. [5، 73، 185]

تعد تقنيات الكشف الدقيقة والسريعة أساسية في تشخيص الذراري المقاومة وبالتالي العمل على إنقاص المراضة والوفيات المحدثة بالـ MRSA. على الرغم من وجود طرائق تقليدية عديدة تستعمل في الكشف عن مقاومة الـ S.aureus تجاه المضادات الحيوية إلا أنها تظل غير قادرة على كشف الجينات التي تحويها هذه العوامل الممرضة، لذلك فإن كشف الجينات وبشكل خاص جينات المقاومة (جين الـ mecA المرمز للمقاومة تجاه الـ methicillin) باستعمال الـ PCR، يعتبر حالياً المعيار الذهبي والطريقة الدقيقة والسريعة، لكن هذه الطريقة تبقى بعيدة عن التطبيق في كثير من البلدان النامية، وبالتالي فإن مشاركة هذه الطرائق (التقليدية والجزيئية) يمكن أن يقود إلى التمييز الدقيق للمرضى الذين لديهم عوامل خطورة لتطوير عدوى بهذه الجراثيم المقاومة، وبالتالي إلى وضع استراتيجيات هامة لإنقاص انتشار العدوى المحدثة بها في كل من المستشفى والمجتمع. [140، 145]

بلغ العدد الكلي للعزولات الجرثومية 1587 توزعت إلى عزولات سلبية الغرام 1227 بنسبة 77.3%، وعزولات إيجابية الغرام 360 بنسبة 22.7% (جدول 5 ومخطط 1)، حيث احتلت العنقودية الذهبية 27.8% (جدول 6 ومخطط 2) المرتبة الثانية بالنسبة للعزولات إيجابية الغرام، بينما احتلت في 3 دراسات أجريت في مستشفى الأطفال في الأعوام 2008، 2009، 2011 المرتبة الأولى بين إيجابيات الغرام [90، 91، 93] كما في الجدول التالي:

العزولات	% دراسة 2008 ^[90]	% دراسة 2009 ^[91]	% دراسة 2011 ^[93]	% دراستنا
إيجابية الغرام	23.5	18.5	21.2	22.7
Enterococcus	27.6	33	28.8	45.3
S.aureus	38	41	42.9	27.8
Streptococcus	25.7	17	12.3	18.3
Strep. pneumonia	4	6.9	6.4	8.6

جدول 20. يبين مقارنة لنسب توزع الجراثيم إيجابية الغرام في دراستنا ودراسات مستشفى

الأطفال السابقة

يظهر الجدول أن هناك تناقصاً في نسبة العنقودية الذهبية في دراستنا مقارنة مع الدراسات السابقة في المستشفى، لكن تبقى معدلاتها مرتفعة في كل من دراستنا والدراسات السابقة ^[90, 91, 93]، ويمكن أن يعزى ذلك إلى دور الأمراض المضعفة للمناعة، وإلى عدم اتباع الإجراءات الوقائية المناسبة، كما أن المقاومة الجرثومية تجاه المضادات الحيوية يمكن أن تكون سبباً في زيادة نسب الجراثيم إيجابية الغرام ضمن المستشفى أيضاً.

عند دراسة معدلات انتشار الـ S.aureus حسب الجنس (جدول 7 ومخطط 3) تبين أن معدلات انتشار الـ S.aureus بشكل عام كانت 64% عند الذكور و36% عند الإناث، وهذا يتوافق مع دراسة أجريت في مستشفى الأطفال في دمشق عام 1994^[98] كما يبين الجدول التالي:

S.aureus				العزولات الدراسة
إناث		ذكور		
%	عدد	%	عدد	
40	53	60	81	دراسة المرقبي (1994) ^[98]
36	36	64	64	دراستنا

جدول 21. يبين مقارنة نسب توزع الـ S.aureus عند الذكور والإناث في دراستنا ودراسة المرقبي

كما يظهر الجدول 7 والمخطط 3 أيضاً أن معدلات الـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث كانت 57% و43% على التوالي، وتتوافق هذه النتائج مع 3 دراسات أجريت إحداها في الهند^[99]، ودراستين أجريتا في المملكة العربية السعودية، إحداها في مستشفى الملك فهد التعليمي^[100]، والأخرى في مستشفى جامعة الملك عبد العزيز^[101]، كما يظهره جدول المقارنة التالي:

MRSA				الدراسة
إناث		ذكور		
%	عدد	%	عدد	
22	22	78	78	دراسة Mohankumar وزملاؤه (2012) الهند ^[99]
37	34	63	58	دراسة Bukharie وزملاؤه (2000-1998) السعودية ^[100]
41	46	59	65	دراسة Madani TA (1998) السعودية ^[101]
43	12	57	16	دراستنا

جدول 22. يبين مقارنة معدلات توزع الـ MRSA مقارنة بين الذكور والإناث في دراستنا و3 دراسات (هندية ، سعودية)

ويظهر من جدولي المقارنة السابقين مدى التوافق الكبير بين جميع هذه الدراسات (دراستنا، دراسة مستشفى الأطفال 1994، الدراسة الهندية والدراستين السعوديتين)، حيث أظهرت دراسة مستشفى الأطفال السابقة ودراستنا أن معدلات انتشار الـ S.aureus عند الذكور (60%، 64%) كانت أكثر من معدلات انتشارها عند الإناث (40%، 36%) [98] على التوالي، كما أظهرت دراستنا والدراسات الهندية والسعودية أن معدلات انتشار الـ MRSA أيضاً عند الذكور كانت أكثر من معدلات انتشارها عند الإناث [99، 100، 101]، وهذا يعني أن هناك ميل لإصابة الذكور أكثر من الإناث، والذي يتلاءم مع ما هو معروف في الأمراض الإنتانية وميلها لإصابة الذكور، والذي يمكن أن يكون له علاقة بالصبغي X وعلاقته بالمناعة، أو يمكن أن يكون عدد الذكور المراجعين المستشفى أكثر من عدد الإناث.

لدى دراسة معدلات الانتشار حسب مصدر العينة (جدول 8 ومخطط 4) تبين أن الـ S.aureus الحساسية والمقاومة تجاه الـ OXA في عينات القيح كانت في المرتبة الأولى 33%، تلتها المسحات (جروح، تقرحات جلدية...) 16%، ثم المفرزات القصبية 12%، بينما بلغت المعدلات في عينات الـ CSF والتحويلة 10% لكل منها، تلتها عينات المفصل والعظم 7%، أما المعدلات في عينات المفرزات الأذنية والبول والجنب والدم فكانت 5%، 4%، 2%، 1% على التوالي، وتُظهر هذه النتائج سيطرة الـ S.aureus في عينات القيح والمسحات الجلدية التي تكون في غالبيتها عداوى الجلد والنسج الرخوة كالخراجات والتي تعد من عداوى الـ S.aureus الأكثر شيوعاً [82، 139]، وتتوافق هذه النتائج مع نتائج دراسة 2011 في مستشفى الأطفال [90] حيث كان معدل الـ S.aureus في عينات القيح 28.2%، كما لاحظنا أن أعلى معدل للـ MRSA كان في

العينات المأخوذة من القيح 39%، وهذا يتوافق مع دراسة باكستانية أجريت عام 2007 أظهرت أن أعلى معدل لعزولات الـ MRSA كان من القيح أيضاً (68%)^[104]، وبشكل عام فإن الغالبية العظمى من عزولات الـ S.aureus سواء كانت حساسة أو مقاومة في دراستنا كانت من عدوى الجلد والنسج الرخوة (قيح، مسحات)، حيث بلغت 49% تلتها العينات التنفسية 12%، وهذا يتوافق مع عدة دراسات عالمية أيضاً منها دراسة أجريت بواسطة Nimmo وزملائه في استراليا عام 2009 أظهرت أن الغالبية العظمى لعزولات الـ S.aureus (67.6%) كانت من عدوى الجلد والنسج الرخوة، ثم من العينات التنفسية 17.4% تلت بعزولات زرع الدم 6.7%^[85]، ودراسة أخرى إسترجاعية أجريت في الهند أظهرت أن 64% و 61% من عزولات الـ S.aureus في 2008 و 2009 على التوالي تم عزلها بشكل رئيس من عدوى الجلد والنسج الرخوة، تلت بعينات الدم والتنفس^[105]، ودراسة ثالثة أجريت في الولايات المتحدة الأميركية من 2005 – 2007 أظهرت أن معظم عينات الـ S.aureus كانت من الجلد 57.4%، تلت بالتنفس 20.8%، ثم كانت أقل شيوعاً من الدم 7.3% والبول 7%، كما أظهرت أيضاً أن هناك انتشاراً كبيراً للـ MRSA من عينات الجلد 56.9%^[106]، كما هو الحال في دراستنا حيث كانت معدلات الـ MRSA من عدوى الجلد والنسج الرخوة في المرتبة الأولى بنسبة 53%.

عند دراسة معدلات انتشار الـ S.aureus (الحساسية والمقاومة تجاه الـ OXA) بشكل عام حسب شعب المستشفى (جدول 9 ومخطط 5) احتلت الشعبة الإنتانية المرتبة الأولى بمعدل 34% تلتها شعبة الإسعاف والإقامة المؤقتة 27%، وكانت شعبة الخديج والوليد في المرتبة الأخيرة بمعدل 0%، بينما احتلت معدلات انتشار الـ MRSA في الشعبة الإنتانية والإسعاف والإقامة المؤقتة المراتب الأولى مقارنة مع بقية شعب المستشفى الأخرى حيث بلغت المعدلات فيهما 36% و 21% على التوالي، ويمكن أن يُعزى ذلك إلى كثرة العدوى الجلدية المقيحة أو العدوى التالية للعمل الجراحي التي تعالج أو تعزل في الشعبة الإنتانية، أو قد يكون وجود عدد أكبر من الأسرة في الشعبة الإنتانية هو سبب المعدلات العالية من الـ S.aureus عموماً والـ MRSA خصوصاً في هذه الشعبة، بينما يمكن أن يعزى ارتفاع المعدلات في شعبة الإسعاف والإقامة المؤقتة إلى كثرة العدوى الجلدية المقيحة بالـ S.aureus الحساسة والمقاومة التي لا تقبل جميعها في المستشفى، بل يمكن معالجتها خارجه، وهذا يتوافق مع ما أظهرته دراسة أجريت في مستشفى الأطفال عام 1994

على إنتانات العنقوديات المذهبة، حيث احتلت فيها الشعبة الإنتانية المرتبة الأولى 38.8%، تلتها الشعبة العامة 18.6%، بينما احتلت شعبة العناية المشددة المرتبة الأخيرة 1.49%^[98] وهي لا تتوافق مع دراسة أجريت في عدة مستشفيات حكومية في لاهور، باكستان على 1102 عزولة S.aureus خلال 2003 و2005 والتي أظهرت أن العدد الأكبر من العزولات كان من وحدات الجراحة 21.8%، فوحدة الرعاية المشددة (الطبية والجراحية)، 21.2% وخاصة وحدة الرعاية القلبية 21.1%^[103].

يتبين من النتائج الواردة في (جدول 10 ومخطط 6) وجود انتشار لل MRSA في كامل مستشفى الأطفال حيث بلغ عددها (100\28) وبمعدل 28%، وهذا الانتشار يدل على إمكانية نشر الذراري من خلال حمل العاملين في الرعاية الصحية لها من مريض إلى آخر ومن مكان لآخر ضمن المستشفى، أونتيجة تأخر التشخيص الذي يعتمد بشكل أساسي على الزرع الجرثومي الذي يحتاج إلى وقت طويل، مما يؤخر عزل المرضى إيجابيين الـ MRSA، وبالتالي انتقالها إلى مرضى آخرين وانتشارها في كامل المستشفى، وهذا المعدل قريب من معدلات الانتشار في بلدان أخرى من العالم كأوروبا 26% وأستراليا 23%، لكنه يبقى أقل مما هو عليه في الولايات المتحدة الأمريكية 32% واليابان 67%، جنوب الباسفيك 40%^[78,77]، وبلدان شرق اسيا^[118]، ويمكن أن يُعزى ذلك إلى تناقص في وصف الـ OXA وبقية المضادات الحيوية من المجموعة نفسها في مستشفى الأطفال وبالتالي تناقص الضغط الانتقائي الذي تحدثه هذه المضادات الحيوية على الجراثيم، مما أدى إلى نقص في معدل انتشارها مقارنةً مع معدلات وصف المضادات الحيوية المتزايد في بعض الدول المتقدمة كالولايات المتحدة الأمريكية (252 \ 1000 مريض في 1999-2000)^[178]، إضافةً إلى أن استعمال أنواع بديلة تنتمي إلى مجموعات أخرى من المضادات الحيوية أكثر حساسية وأكثر فعالية تجاه هذا النوع من الجراثيم يمكن أن ينقص من انتشارها أيضاً.

عند إجراء مقارنة معدل انتشار الـ MRSA في دراستنا مع معدلات انتشارها في 4 دراسات سابقة أجريت في مستشفى الأطفال في الأعوام 2008 و2009 و2010 و2011^[93-90]، ودراسة أجريت في المملكة العربية السعودية خلال عام (2003-2004)^[89] نتج لدينا الجدول التالي:

الدراسة	العزولات	الـ S.aureus (عدد)	% الـ MRSA
الدراسة السعودية (2004-2003) [89]		119	35.3
دراسة 2008 [90]		40	38
دراسة 2009 [91]		102	27
دراسة 2010 [92]		7	18
دراسة 2011 [93]		73	9.5
دراستنا		100	28

جدول 23. يبين مقارنة نسب انتشار الـ MRSA في دراستنا مع دراسات مستشفى الأطفال السابقة والدراسة السعودية

يظهر من الجدول السابق أن معدلات انتشار الـ MRSA في الدراسة السعودية ودراسات 2008 و 2009 و 2010 و 2011 في مستشفى الأطفال كانت 35.3%، 38%، 27%، 18%، 9.5% على التوالي [89-93]، وهذا يعني أن الانتشار كان مرتفعاً في دراستي 2008 [87] و 2009 [91]، ثم انخفض في دراسة 2010 [92] و 2011 [93] في مستشفى الأطفال، لكنه عاد للارتفاع في دراستنا ولكن بمعدل أقل مما هو عليه في دراسة 2008 [90]، بينما كان معدل الانتشار في الدراسة السعودية مرتفعاً أيضاً مقارنة بدراستنا، وقد يكون سبب ذلك وجود اختلاف في عدد عزولات الـ S.aureus أو الاختلاف في إتباع الإجراءات الوقائية وسياسات استعمال المضادات الحيوية، إضافة إلى وجود اختلافات جغرافية، حيث تختلف معدلات الانتشار بين بلد وآخر أو من مكان وآخر ضمن البلد نفسه أو مستشفى وآخر بل هناك اختلاف أيضاً بين أقسام المستشفى نفسها، وبالرغم من ذلك فإن جميع هذه الدراسات تتفق على وجود معدل انتشار مرتفع للـ MRSA سواء في مستشفى الأطفال في دمشق أو في المستشفى السعودي.

عندما أجرينا مقارنة بدراسة العزولات بطريقة الانتشار القرصي وطريقة كشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR وجدنا أن 72% (100\72) من عزولات الـ S.aureus كانت حساسة تجاه الـ OXA (MSSA) و 28% (100\28) كانت مقاومة تجاه الـ OXA (MRSA) باستعمال أقراص الـ OXA بطريقة الانتشار القرصي (جدول 10، 12 ومخطط 6، 8)، بينما كانت 63% (100\63) من العزولات $mecA^{-ve}$ و 37% (100\37)

$mecA^{+ve}$ (جدول 11، 12 ومخطط 7، 8)، بطريقة كشف جين الـ $mecA$ المعتمد على الـ PCR، وهذ يتوافق مع دراسة أجريت في الهند من قبل Subarna Roy وزملاؤه على 70 عزولة من الـ *S.aureus* [166] كما يظهر في جدول المقارنة التالي:

الطريقة الدراسة		الانتشار القرصي				كشف الـ $mecA$ بالـ PCR	
		MRSA		MSSA		+ve	-ve
		عدد	%	عدد	%	عدد	%
دراسة هندية (2012) [166]		31	44	39	56	27	38.6
دراستنا		28	28	72	72	37	63

جدول 24. يبين مقارنة توزيع نسب الـ MRSA والـ MSSA بطريقتي الانتشار القرصي وكشف جين

الـ $mecA$ المعتمد على الـ PCR في دراستنا ودراسة هندية

وهذا يشير إلى عدم وجود تطابق كبير بين طريقة الانتشار القرصي وطريقة كشف جين الـ $mecA$ المعتمد على الـ PCR في كشف كل ذراري الـ *S.aureus* المقاومة تجاه الـ OXA في دراستنا والدراسة الهندية أيضاً، حيث وجد أن العزولات التي تملك جين الـ $mecA$ عندما تختبر بواسطة الاختبارات المعيارية في الزجاج، يمكن أن تعبر عن المقاومة إما بشكل متجانس (تظهر كل الخلايا مقاومة)، والتي يمكن كشفها بكل طرائق الكشف المتوفرة سواءً ظاهرية أو جينية، أو بشكل متغاير (بعض الخلايا تظهر حساسية وأخرى تظهر مقاومة)، والتي يكون تمييزها صعباً جداً باستعمال طرائق النمط الظاهري كطريقة الانتشار القرصي، والمشكلة السريرية التي تنتج عن مثل هذه العزولات التي تعبر عن المقاومة بشكل متغاير هي أنه أثناء المعالجة الكيميائية بمضادات حيوية من مجموعة الـ β -lactam تنتج PBP2a يمكن أن تحرض تحويل هذه الذراري إلى ذراري مقاومة تجاه الـ OXA، إضافةً لما سبق فإن عدم التطابق بين الطريقتين في كشف مثل هذه الذراري يمكن أن يعزى إلى امتلاك الذراري الحساسة جينات إضافية يمكن أن تؤدي إلى ظهور المقاومة تجاه الـ methicillin عند الـ *S.aureus* مؤدية إلى تغايرية في المقاومة [11، 46، 147]، كما أن طرائق النمط الظاهري يمكن أن تتأثر بظروف الزرع (درجة الحرارة، أوسمولية الوسط، الـ pH، تركيز الـ NaCl، زمن الحضانة) [6، 71]، ولذلك فإن عدم التطابق بين الطريقتين يمكن أن يحدث (جدول 13، 14 ومخطط 9)، وبالتالي فإن كشف جين الـ $mecA$ يكون

أكثر مناسبة لكشف وتمييز معظم ذراري الـ MRSA التي تعبر عن المقاومة بشكل متغير، مما يجعلنا نأخذ بعين الاعتبار أن الـ PCR تقنية مفيدة في المختبرات السريرية أيضاً ولا تقتصر فقط على المختبرات البحثية.

ظهر أيضاً من خلال المقارنة بين نتائج طريقة الانتشار القرصي وطريقة كشف جين الـ mecA أن 79% من آلية المقاومة تجاه الـ methicillin بين ذراري الـ MRSA كانت متواسطة بجين الـ mecA، مما يدل على وجود آليات أخرى تتوسط المقاومة تجاه الـ OXA غير الآلية المتوسطة بجين الـ mecA، وهذا يتفق مع دراسة سابقة أجريت في تايلاند في مستشفيات مدرستين طبييتين (Bangkok، Khon Kaen) أظهرت أن نسبة المقاومة المتواسطة بجين الـ mecA كانت 96%، وأخرى أجريت في تركيا كانت النسبة فيها 94%.^[140]

أثبتت النتائج الواردة في (جدول 12 ومخطط 8) أن 79% (28\22) من العزولات التي أظهرت مقاومة تجاه الـ OXA، و 21% (72\15) من العزولات التي أظهرت حساسية تجاه الـ OXA بطريقة الانتشار القرصي امتلكت جين الـ mecA اعتماداً على طريقة كشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR، وهذا يتوافق مع دراسة أجريت في الهند من قبل Subarna Roy وزملائه على 70 عزولة من الـ S.aureus^[166]، كما يظهره جدول المقارنة التالي:

كشف الـ mecA بالـ PCR					
دراستنا		دراسة هندية (2012) [166]			
-ve	+ve	-ve	+ve		
6	22	11	20	R	الانتشار القرصي
0	0	7	2	I	
57	15	25	5	S	
63	37	43	27	المجموع	

جدول 25. يبين مقارنة عزولات الـ S.aureus التي تملك جين الـ mecA بين دراستنا ودراسة هندية بطريق

كشف الـ mecA بالـ PCR

تثبت النتائج في دراستنا والدراسة الهندية كما يظهر من جدول المقارنة السابق أن وجود جين الـ mecA يعتبر علامة دامغة لتمييز ذراري الـ MRSA، وبالتالي أهمية طريقة كشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR لأجل التشخيص الميكروبيولوجي، فهي طريقة معيارية

وأكثر دقة ووثوقية من طريقة الانتشار القرصي في كشف الذراري المقاومة، إذا يمكن للـ PCR أن يكشف النتائج السلبية الكاذبة للطرائق التقليدية في المرحلة المبكرة من المرض، لأن كل نتيجة سلبية كاذبة واحدة بالطريقة التقليدية مع إيجابية جين الـ *mecA* بالـ PCR يمكن أن تُظهر كمون متأصل لتلك العزولة كي تطور مستويات عالية من المقاومة تجاه الـ methicillin في المستقبل [147]، وهذا يتوافق مع ما أثبتته دراسات سابقة بأن طريقة الانتشار القرصي أقل دقة ووثوقية، إضافة إلى إعطائها عدداً كبيراً من نتائج الحساسية والمقاومة الكاذبة، وأن مثل هذه النتائج الكاذبة تظهر فقط عند ذراري يكون لديها مقاومة عالية تجاه الـ methicillin نتيجة آليات لا تعتمد على جين الـ *mecA*. [151]

تبين أيضاً من خلال تحليل نتائج الجدول 12 والمخطط 8 أن 21% (6\28) من العزولات التي كانت مقاومة تجاه الـ OXA بطريقة الانتشار القرصي لا تحوي جين الـ *mecA* (*mecA*^{-ve})، وهذه النتائج تتوافق مع 3 دراسات أجريت الأولى في الأردن من قبل هنتش عبد الجليل وزملائه [52]، والثانية في Skopji من أيار 2000 إلى تشرين ثاني 2002 من قبل Cekovska Z وزملائه [167]، والثالثة في الهند من قبل Subarna Roy وزملائه [166]، كما يظهر في الجدول التالي:

MRSA الـ					S.aureus (عدد)	العزولات
كشف الـ mecA بالـ PCR				انتشار قرصي (عدد)		
-ve		+ve				
%	عدد	%	عدد			
6	1	94	15	16	46	دراسة Abed-El-Jalil وزملاؤه (2009) الأردن ^[52]
12	8	88	61	69	120	دراسة Cekovska وزملاؤه (2000- 2002) Skopji (مقدونيا) ^[167]
35	11	65	20	31	70	دراسة Subarna وزملاؤه (2012) الهند ^[166]
21	6	79	22	28	100	دراستنا

جدول 26. يبين مقارنة عزولات الـ MRSA سلبية جين الـ *mecA* في دراستنا ودراسات (الأردن، Skopji، الهند)

ويمكن أن تعزى المقاومة في هذه الذراري إلى وجود آليات مقاومة أخرى كإنتاج إنزيمات الـ β -lactamase، أو إنتاج بروتينات رابطة للـ penicillin (PBPs) معدلة أو إلى وجود الـ PBP2a أو الـ PBP2' غير ذات صلة^[146، 151]، أو إلى امتلاك هذه الذراري كما ذكر في دراسات حديثة مماثل جديد لجين الـ mecA سمي بالـ mecA_{LGA251}، غير قابل للكشف بطرائق الـ PCR الروتينية الخاصة بالـ mecA التقليدي، واختبارات الـ Slide agglutination لكشف الـ PBP2a بسبب تركيب النوكليوتيد المختلف.^[118، 163]

إن قدرة الزرع الروتيني واختبارات الحساسية على تمييز ذراري الـ S.aureus إيجابية الـ mecA_{LGA251} كعزولات مقاومة تجاه الـ methicillin، أدى إلى ظهور مشاكل تشخيصية حول كشف وإثبات الـ MRSA، فعندما تستخدم طرائق الـ PCR أو الأضداد وحيدة النسيلة كطريقة وحيدة لكشف الـ MRSA أو عندما تستخدم لاثبات الكشف الأولي للـ MRSA، فإن الـ S.aureus إيجابية الـ mecA_{LGA251} سوف تشخص بشكل خاطيء كذراري حساسة تجاه الـ methicillin، لذلك يجب أن يؤخذ بعين الاعتبار استعمال مبدآت PCR جديدة، وإنتاج أضداد وحيدة النسيلة جديدة كي تتم معالجة هذه القضية التشخيصية^[163 - 165]، وهذا الاكتشاف الجديد يمكن أن يجعلنا نعيد النظر بآليات المقاومة الأخرى التي ذكرناها سابقاً فيما يتعلق بطبيعة المقاومة عند مثل هذه الذراري، لكن ولحسن الحظ فإن تواتر مثل هذه الذراري كما يظهر من الجدول السابق لا يزال منخفضاً ودون أهمية وبائية.

عند دراسة الجينات المرمزة للـ PVL عند عزولات الـ S.aureus ظهر لدينا من خلال النتائج الواردة في الجدول 15 والمخطط 10 أن نسبة عزولات S.aureus إيجابية الـ PVL بشكل عام كان 20% (20\100)، بينما كانت 17% (12\72) عند الـ MSSA، و 29% (8\28) بين ذراري الـ MRSA عند دراستها بطريقة الانتشار القرصي (جدول 16 ومخطط 11)، أما عندا دراستها بطريقة كشف جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR فقد توزعت النسب إلى 19% (8\63) عند الـ MSSA و 22% (8\37) عند الـ MRSA (جدول 17 ومخطط 12)، وهي نتائج تتوافق مع 3 دراسات أجريت في أماكن مختلفة من العالم، الأولى أجريت في الصين على 466 عزولة S.aureus (302 عزولة MRSA، 164 عزولة MSSA) بين كانون الثاني عام 1994 وكانون أول عام 2008^[86]، والثانية في نيجيريا على 68 عزولة

S.aureus (57 عزولة MSSA، 11 عزولة MRSA) بين كانون الثاني ونيسان 2009^[135] والثالثة في الهند من قبل Subarna Roy وزملائه على 70 عزولة S.aureus (27 عزولة MRSA، 43 عزولة MSSA)^[166]، كما يظهره الجدول التالي:

العزولات إيجابية الـ PVL						الدراسة
الـ MRSA		الـ MSSA		الـ S.aureus		
عدد	%	عدد	%	عدد	%	
11	2.4	9	5.5	2	0.7	دراسة الصين (1994-2008) ^[86]
23	33.8	23	40.3	0	0	دراسة نيجيريا (2009) ^[135]
44	62.9	23	85.2	21	48.8	دراسة الهند (2012) ^[166]
20	20	12	17	8	29	دراستنا

جدول 27. يبين مقارنة نسب توزع الـ PVL عند الـ MRSA والـ MSSA في دراستنا ودراسات(الصين، نيجيريا، الهند)

ويظهر من الجدول أن نسب الـ MSSA والـ MRSA إيجابية الـ PVL في دراستنا أعلى مما هو عليه في الدراستين الصينية والنيجيرية، لكنها تبقى أقل من النسب التي أظهرتها الدراسة الهندية، ومع ذلك فإن جميع الدراسات تتفق مع دراستنا على وجود الجينات المرمزة للـ PVL سواء عند الذراري الحساسة أو المقاومة تجاه الـ OXA لكن بنسب مختلفة، والذي يمكن أن يكون بسبب الاختلاف في عدد العينات أو الاختلاف في نسب انتشار الـ S.aureus بين تلك البلدان، وإن وجود ذراري S.aureus إيجابية الـ PVL يمكن أن يكون نتيجة حمل أجزاء كبيرة من الـ SCCmec متضمنة جينات الـ PVL (luk-S، luk-F) إلى ذراري أخرى مقاومة من الـ S.aureus بطرق متنوعة أو يمكن أن يكون أيضاً نتيجة الاستخدام السيئ للمضادات الحيوية في المستشفى مسببة ضغطاً انتقائياً يؤدي إلى تطور ذراري مقاومة سوية مع عامل فوعة الذي هو الـ PVL.^[166]

كانت أغلب الذراري إيجابية الـ PVL في دراستنا مرتبطة بعداوى الجلد والنسج الرخوة لا سيما الخراجات، وهذا يتفق مع ما أظهرته دراسة في الولايات المتحدة أن عزولات الـ CA-MRSA إيجابية الـ PVL ترتبط بعداوى الجلد والنسج الرخوة، وما ذكر أيضاً في عدد

من الدول الأوروبية عن وجود ارتباط بين جينات الـ PVL وعداوى الجلد والالتهاب الرئوي النادر بالعنقوديات^[131]، وعلى الرغم من ذلك فإن إحدى الدراسات ذكرت أن الذراري الحاملة لجين الـ PVL يمكن أن ترتبط بإنتان الدم الشديد بالعنقوديات عند المراهقين، وبعداوى الجهاز العضلي الهيكلي عند الأطفال، وأن وجود جين الـ PVL يرتبط باحتمال زيادة المضاعفات عند الأطفال بعداوى الـ S.aureus وهذا ما تؤكد أيضاً النسبة العالية من الـ PVL التي ظهرت في دراستنا.^[132]

تم في هذه الدراسة تحري جينات الـ PVL وجين الـ mecA بشكل منهجي لأجل كل ذراري الـ S.aureus، حيث أُنْشِئت فترة الدراسة كشفت جينات الـ PVL عند 20 من 100 ذرية مختبرة من الـ S.aureus أي بمعدل 20% كما ذكرنا سابقاً (جدول 15 ومخطط 10)، وكانت نسب تواجد الـ PVL بشكل مستقل عن تواجد الـ mecA عند ذراري الـ MRSA والـ MSSA هي 0%، 25% على التوالي، بينما بلغت نسبة عزولات الـ MRSA والـ MSSA التي كانت إيجابية الـ PVL وجين الـ mecA معاً 36%، 35% على التوالي (جدول 18، مخطط 13)، وهذا توافق مع دراسة أجريت في فرنسا في الفترة من 1999-2001 على 593 عزولة S.aureus استلّمت بواسطة French Reference Center for Staphylococcal Toxemia (FRCST) من المستشفيات الفرنسية، والتي أظهرت أن 83 عزولة من الـ S.aureus كانت PVL⁺، منها 14 عزولة كانت إيجابية الـ mecA والـ PVL معاً^[133]، وهذا يقترح أن الارتباط الخاص للجينات المرمزة للـ PVL (يرمز عامل الفوعة لأجل عداوى الجلد والالتهاب الرئوي) وجين الـ mecA (يمنح المقاومة تجاه الـ methicillin) نشأ من فرط تأقلم ذرية الـ S.aureus في المجتمع سواء الفرنسي أو السوري، لكن لا يزال من غير المعروف حتى الآن فيما إذا كانت الذرية الباثية ظهرت من خلال اكتساب جين الـ PVL بذرية MRSA أو باكتساب جين الـ mecA بذرية إيجابية الـ PVL.^[133]

إن النسب العالية من الـ PVL عند عزولات الـ S.aureus الحساسة والمقاومة تجاه الـ OXA في دراستنا تدعونا للاهتمام والانتباه، كما أن وجود نسبة عالية من الـ MSSA إيجابية الـ PVL يمكن أن تسبب قلقاً، وهذه النسب العالية يمكن أن تشير إلى أن الظروف التي تزيد خطر النقل بين الأفراد (كتماس جلد لجلد أو مع الأدوات الملوثة) تمثل الطرق الهامة للانتقال

في مختلف شعب المستشفى، وهذا يتوافق مع ماذكر سابقاً من أن التماس مع الأفراد الحملة أو المعدين، أو التماس مع الأدوات الملوثة الذي يلعب دوراً هاماً في انتشار عزولات الـ S.aureus إيجابية الـ PVL⁺ وصفت كعوامل خطورة لاكتساب الـ MRSA المكتسبة في المجتمع. [72، 135]

عندما تحرينا نسب عزولات الـ S.aureus المقاومة تجاه الـ vancomycin والـ teicoplanin بطريقة الانتشار القرصي (جدول 19 ومخطط 14) تبين لدينا أن ذراري الـ S.aureus عموماً والـ MRSA على وجه الخصوص كانت حساسة بنسبة 100% تجاه الـ TEIC، وأن 8% (8\100) من العزولات أظهرت نقص حساسية تجاه الـ VAN، بينما 1% (عزولة واحدة فقط) أبدت مقاومة تجاه الـ VAN، وجميع العزولات التي أظهرت نقص حساسية أو مقاومة تجاه الـ VAN كانت مقاومة تجاه الـ OXA أيضاً، وهذه النتائج تتوافق مع دراسات عديدة سواء كانت محلية أجريت ضمن المستشفى نفسها أو عالمية أجريت في أنحاء مختلفة من العالم، والتي ذكرت ظهور مثل هذه الذراري سواء ناقصة الحساسية أو المقاومة تجاه الـ VAN، لكن لا يزال عددها محدوداً، نذكر من تلك الدراسات على سبيل المقارنة مع دراستنا 4 دراسات سابقة أجريت في مستشفى الأطفال نفسها [90-93]، إضافةً إلى دراستين الأولى أجريت على 119 عزولة S.aureus في المستشفى العسكري في السعودية خلال عام (2003-2004) [89] والأخرى على 68 عزولة S.aureus في نيجيريا ما بين كانون الثاني ونيسان 2009 [135] حيث نتج لدينا الجدول التالي:

المضاد الحيوي	% المقاومة الـ VAN	% المقاومة الـ TEIC
الدراسة		
الدراسة السعودية (2003-2004) [89]	0	0
دراسة 2008 [90]	0	0
دراسة 2009 [91]	3	0
دراسة 2010 [92]	0	0
دراسة 2011 [93]	0	0
دراسة نيجيرية 2009 [135]	0	0
دراستنا	1	0

جدول 28. يبين مقارنة نسب مقاومة جراثيم الـ MRSA تجاه الـ vancomycin والـ teicoplanin في دراستنا مع دراسات مستشفى الأطفال السابقة ودراستين (سعودية، نيجيرية)

ويبين الجدول أن جميع الدراسات تتوافق على أن الـ MRSA لا تزال حساسة بنسبة 100% تجاه الـ TEIC [89-93، 135]، بينما أظهرت دراسة 2009 [91] في مستشفى الأطفال بدمشق ودراستنا وجود مقاومة تجاه الـ VAN لكن بنسب مختلفة حيث بلغت معدلات المقاومة 3% في دراسة 2009 و1% في دراستنا، أما في بقية الدراسات كانت الـ MRSA حساسة بمعدل 100% تجاه الـ VAN، ويمكن أن يعزى ظهور ذراري MRSA سواء ناقصة الحساسية أو المقاومة تجاه الـ VAN إما إلى استعمال مسبق للـ VAN في المستشفى حيث وجد أن الاستعمال المسبق المتكرر وطويل الأمد للـ VAN يمكن أن يحرض على ظهور المقاومة تجاهه، أو إلى استعمال الـ VAN بشكل عشوائي دون إجراء اختبار التحسس الجرثومي تجاهه، بينما قلة أو عدم استعمال الـ TEIC بسبب غلاء ثمنه قد يكون سبب بقاء عزولات الـ MRSA حساسة تجاهه بنسبة 100%.

الاستنتاجات

Conclusions

- تعد هذه الدراسة أول دراسة تقدم معلومات حول طبيعة الجين المقاوم تجاه الـ oxacillin والجينات المرمزة للذيفان PVL (مبيدة الكريات البيضاء) عند عزولات الـ S.aureus في مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق
- إن عداوى المكورات العنقودية الذهبية المقاومة تجاه الـ oxacillin مشكلة ظاهرة ومتفاقمة في المستشفيات عموماً، وهناك زيادة في انتشارها في مستشفى الأطفال بدمشق، لكن يبقى معدل انتشارها منخفضاً إذا ما تمت مقارنته مع بلدان أخرى
- بدء ظهور ذراري MRSA ناقصة الحساسية وأخرى مقاومة تجاه الـ VAN، بينما لاتزال جميع ذراري الـ MRSA حساسة بمعدل 100% تجاه الـ TEIC
- يمكن أن تجرى طريقة الانتشار القرصي في أية مختبرات ميكروبيولوجية، فهي سهلة التطبيق ولا تتطلب أشخاصاً ماهرين ورخيصة الثمن، وهي مفيدة في اختبارات الحساسية لأدوية عديدة، لكنها ووفقاً لدراستنا ليست الطريقة المثلى للكشف عن الـ MRSA، فهي أقل دقة ووثوقية وتخلق كل من نتائج الحساسية والمقاومة الكاذبة، كما أنها غير قادرة على كشف جينات المقاومة
- تعد تقنية الـ PCR للكشف عن الجينات عند عزولات الـ S.aureus المعيار الذهبي، وطريقة دقيقة وموثوقة، لكنها غالية الثمن وتتطلب مختبرات خاصة وأشخاص ماهرين
- يمكن تجنب كل مشاكل طرائق النمط الظاهري كالانتشار القرصي باستعمال الطرائق الجزيئية كنظام الكشف عن جين الـ mecA المعتمد على الـ PCR (كمقايضة الـ GenoTypeMRSA التي استخدمت في دراستنا على سبيل المثال)
- إن مشاركة اختبارات الحساسية والطرائق الجزيئية يقدم معلومات مفيدة حول المقاومة تجاه المضادات الحيوية والتنوع الجيني عند الـ S.aureus في المستشفى.
- أكد ظهور ذراري مقاومة بالانتشار القرصي سلبية جين الـ mecA بالـ PCR وجود آليات مقاومة أخرى لا تكشف بطرائق الـ PCR التقليدية كتلك المتوسطة بجين الـ mecA_{LGA251} وهي بحاجة لمبدآت جديدة لكشفها
- لوحظ في هذه الدراسة نسبة عالية من عزولات الـ MSSA إيجابية الـ PVL، والذي يعد من عوامل الفوعة الجرثومية التي تزيد من شدة العداوى المحدثة بها

التوصيات

Recommendations

- إجراء ترصد منتظم للعداوى والاستعمار بالـ MRSA في مستشفى الأطفال
- مراقبة نماذج تحسسها تجاه الـ vancomycin والـ teicoplanin كأدوية مختارة في معالجتها، ووضع سياسات صارمة لاستعمالها لمنع استهلاكها بشكل عشوائي
- مشاركة الطرائق الجزيئية مع طرائق النمط الظاهري للكشف والتحري عن الـ MRSA هام للحصول على معلومات دقيقة وموثوقة فيما يتعلق بطبيعة تلك الجراثيم المقاومة ظاهرياً وجينياً في المستشفى
- اختيار الطريقة التقليدية التي تكون نتائجها أقرب من حيث الدقة والوثوقية إلى نتائج الطرائق الجزيئية حتى يتم استخدامها في التشخيص كون الطرائق الجزيئية غالية الثمن
- إتباع إجراءات وقائية مناسبة، إضافة إلى تنفيذ برامج التوعية المستمرة للسيطرة على العداوى، للحد من نقشي مثل هذه الذراري وانتشارها ومنع ظهور مقاومتها تجاه المضادات الحيوية
- اتخاذ إجراءات كافية تعمل على منع نشوء والحد من انتشار ذراري الـ MRSA والـ MSSA إيجابية الـ PVL في المستشفى
- الحاجة لإجراء المزيد من الدراسات سواء باستعمال الطرائق التقليدية أو الطرائق الجزيئية السريعة والأكثر دقة لمعرفة نقشي مثل هذه الذراري المقاومة في المستشفى والمستشفيات الأخرى أيضاً ولمعرفة التنوع الجيني عندها
- أخيراً تبقى السيطرة على انتشار عدوى الـ MRSA في المستشفى قضية معقدة وتحتاج إلى طرائق إستراتيجية شاملة، بالرغم أنه من المستحيل منع جميع العداوى، لكن من الممكن العمل بشكل أفضل لإنقاص هذه العداوى إلى حدود دنيا

Abstract

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*(MRSA) has become a growing problem in hospitals and communities around the world, therefore, genotyping surveillance of these strains is crucial for controlling of its infections. Thus, the aim of this study was to detect the extent of MRSA prevalence and its resistance to Glycopeptides (vancomycin and teicoplanin) at University Children's Hospital in Damascus. A 100 isolates of *S.aureus* were isolated and identified by the University Children's Hospital LAB team, after collecting from different sources of sick children aged from one day to 13 years between August 2011 and March 2014. Antimicrobial susceptibility testing to OXA,VAN and TEIC was carried out by disc-diffusion method. Then, *mecA* and *PVL* genes were identified by Polymerase Chain Reaction(PCR). Our study showed that the prevalence of MRSA in the hospital was 28% of the total *S.aureus*, where the infectious unit occupied the first rank of 36%, also occupied the MRSA samples of pus in the first place at a rate of 39%, and the prevalence in males (57%) was higher than females (43%). The results of our study showed also that 79% (22/28) of *S.aureus* isolates that was resistant by disc diffusion method possessed *mecA* gene by PCR, while 21% (6/28) of isolates were negative the *mecA* gene. The percentage of the presence of the *PVL* genes among MSSA was 17%, while at the MRSA was 29%. All MRSA isolates were sensitive to the TEIC(100%), while one isolate (1%) only showed resistance to the VAN. This study showed that there is an increase in the prevalence of MRSA in the hospital, also began the emergence of strains that showed reduced susceptibility and others resistant to vancomycin. Also, It showed that disc diffusion for detection of oxacillin resistance in *S.aureus* strains creates both false-susceptible and false –resistant results. This problem is better avoided by using PCR and disc diffusion together. Therefore, regular surveillance of hospital-associated infections, monitoring of antibiotic sensitivity patterns,

rational use for antibiotics and preventive measures are necessary to reduce MRSA prevalence. Also, there is a need to conduct periodic studies for the continuous monitoring of the MRSA outbreak at the hospital.

Key words: MRSA, OXA, mecA, PVL, VAN

المراجع

References

1. Bachi BB, McCallum N.(2006). State of the knowledge of bacterial resistance. Injury, Int. J. Care Injured, 37:S20-S25.
2. Brown PD, Ngeno C.(2007). Antimicrobial resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from hospital and community sources in southern Jamaica. Int J Infect Dis.; 11:220-25.
3. Singh VK, Schmidt JL, Jayaswal RK, Wilkinson BJ.(2003).Impact of sig B mutation on *Staphylococcus aureus* oxacillin and vancomycin resistance varies with parental background and method of assessment. Int. J Antimicrob Agents; 21:256-61.
4. Grundmann H, de-Sousa MA, Boyce J, Tiemersma E.(2006). Emergence and resurgence of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* as a public-health threat. Lancet, 368: 874-85.
5. Bhateja P, Mathur T, Pandya M, Fatma T, Rattan A.(2005). Detection of vancomycin resistant *staphylococcus aureus*: A comparative study of three different phenotypic screening methods. Indian J. Med. Microbiol. 23(1): 52- 5.
6. Tiwari HK, Sapkota D, Das AK, Sen MR. (2009). Assessment of different tests to detect Methicillin resistant *staphylococcus aureus*. Southeast Asian J Trop Med Public Health, 40(4): 801-6.
7. Simeoni D, Rizzotti L, Cocconcilli P, Gazzola S, Dellaglio F, Torriani S.(2008). Antibiotic resistance genes and identification of *staphylococci* collected from the production chain of swine meat commodities. Food Microbiol. 25(1):196-201.
8. Low FD, (2006). *Staphylococcus aureus* and *streptococcus* infections. N Engl J Med. 339:520-32.
9. Melnick J, Adelberg (2007). The *staphylococci*. Medical Microbiology, a Lang medical book, 18th ed, McGraw-Hill Companies; pp.186-196.
10. Public Health Agency of Canada (2008). Fact Sheet- Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. www.publichealth.gc.ca, modified 20-06-2008.
11. Brown DFJ, Edwards DI, Hawkey PM, Morrison D, Ridgway GL, Towner KJ, et al.(2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA). J Antimicrob Chemother; 56:1000-18.
12. Foster TJ, (2004).The *Staphylococcus aureus* "superbug". J Clin Invest. 114 (12): 1693-6.
13. Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR.(2010). Food poisoning and *staphylococcus aureus* enterotoxins. Toxins; 2: 1751-73.
14. Lowy FD.,(2011). How *staphylococcus* adapts to its host. N Eng J Med; 364(21):1987-90.
15. Jongerius I, von Kockritz-Blickwede M, Horsburgh MJ, Ruyken M, Nizet V, Rooijackers SHM.(2012). *Staphylococcus aureus* virulence is enhanced by secreted factors that block innate immune defenses. J Innate immune; pp.1-11. DOI:10.1159/000334604.
16. Foster T.(1996). *Staphylococcus*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston(TX):University of Texas Medical Branch at Galveston; Chapter12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/ NBK8448/>

17. Vehmas TA, Vikerpuur M, Pyorala S, Atroshi F.(2001). Characterization of hemolytic activity of staphylococcus aureus strains isolated from bovine mastitic milk. Microbiol. Res. 155:339-44.
18. Richard A, Harvey (2006). Staphylococcus. Lippincott's Illustrated Reviews: Microbiology, 2nd ed "Publisher: Lippincott Williams Wilkins, ISBN 0781782155 | File type: CHM | 432 pages | 94.4 mb
19. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM.(2005). Bacterial as human pathogens, Staphylococcus. Medical Microbiology. 9th ed, Germany, pp. 229-33.
20. Soge O, Meschke JS, No DB, Roberts MC. (2009). Characterization of methicillin-resistant staphylococcus aureus and methicillin-resistant coagulase-negative staphylococcus spp. isolated from US West Coast public marine beaches. J Antimicrob Chemother; 64:1148-55.
21. El-Huneidi W, Bdour S, Mahasneh A.(2006). Detection of enterotoxin genes seg, she, sei, and sej and of a novel oroA genotype in Jordanian clinical isolates of staphylococcus aureus. Diagn Microbiol and Infect Dis.56:127-32.
22. Appelbaum PC,(2005). Bacterial resistance mechanisms their detection: MRSA/VISA/VRSA. Int J Antimicrob Agents; 26S:S1-S63.
23. Palomares C, Torres MJ, Torres A, Aznar J, Palomares JC.(2003). Rapid detection and identification of staphylococcus aureus from blood culture specimens using real-time fluorescence PCR. Diagn Microbiol and Infect Dis. 45:183-9.
24. Campbell H. (2005). Protecting patients and staff- A strategy for prevention and control of healthcare associated infections in northern Ireland 2005-2010. Department of Health, Social Service and Public Safety; www.dhsspsni.gov. uk ,71p.
25. MRSA_H2011.Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Last Updated: January 2011: 25p.
26. Grundmann H, Aanensen DM, Van den Wijngaard CC, Spratt BG, Harmsen D, Friedrich AW, et al.,(2010). Geographic distribution of staphylococcus aureus causing invasive infections in Europe: A molecular-epidemiological analysis. PLoS Med; 7(1):e1000215.
27. Monecke S, Coombs G, Shore AC, Coleman DC, Akpaka P, Borg M, et al.(2011). A field guide to pandemic, epidemic and sporadic clones of methicillin-resistant staphylococcus aureus. PLoS ONE 6(4):e17936.
28. Frank DN, Feazel LM, Bessesen MT, Price CS, Janoff EN, Pace NR, et al. (2010). The human nasal microbiota and staphylococcus aureus carriage. PLoS ONE, 5(5):e10598.
29. Ferrara AM. (2007). Treatment of hospital-acquired pneumonia caused by methicillin-resistant staphylococcus aureus. Int J Antimicrob Agents; 30:19-24.
30. Miller MB, Weber DJ, Goodrich JS, Popowitch EB, Poe MD, Nyugen V, et al. (2011). Prevalence and risk factor analysis for methicillin-resistant staphylococcus aureus nasal colonization in children attending child care centers. J. Clin. Microbiol,49(3):1041-7.
31. Federal Bureau of Prisons (2011). Management of methicillin-resistant staphylococcus (MRSA) infections. Clinical practice Guidelines April 2011, 36p.

32. Paule SM, Hacek DM, Kufner B, Truchon K, Thomson RB, Kaul KL, et al.(2007). Performance of the BD GeneOhm Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Test before and during High-Volume Clinical Use. *J. Clin. Microbiol.*, 45(9): 2993–8.
33. McDonald P, Mitchell E, Johnson H, Rossney A, Humphreys H, Glynn G, et al.(2003). Epidemiology of MRSA: the north/south study of MRSA in Ireland 1999. *J Hosp Infect.* 54:130-4.
34. Reich-Schupke S, Warneke K, Altmeyer P, Stucker M.(2010). Eradication of MRSA in chronic wounds of outpatients with leg ulcers is accelerated by antiseptic washes-results of a pilot study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 213: 88-92.
35. Normanno G, La Salandra G, Dambrosio A, Quaglia NC, Corrente M, Parisi A, et al.(2007). Occurrence, characterization and antimicrobial resistance of enterotoxigenic *staphylococcus aureus* isolated from meat and dairy products. *Int. J. Food Microbiol.* 115:290-6.
36. Nur YA, Vandenberg MFQ, Yusuf MA, Van Belkum A, Verbrugh HA. (1997). Nasal carriage of multiresistant *staphylococcus aureus* among health care workers and pediatric patients in two hospitals in Mogadishu, Somalia. *Int J Infect Dis.* 1(4):186-91.
37. Askarian M, Zeinalzadeh A, Japoni A, Alborzi A, Memish ZA. (2009). Prevalence of nasal carriage of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* and its antibiotic susceptibility pattern in healthcare workers at Namazi hospital, Shiraz, Iran. *Int J Infect Dis.* 13:e241-e247.
38. McGeer A, Low DE, Conly J, Campbell L, Willey B, and Simor A.(1996). The rapid emergence of a new strain of MRSA in Ontario: Laboratory and Infection control implications. *LPTP Newsletter*, No.190, 6p.
39. Pinto B, Chenoll E, Aznar R.(2005). Identification and typing of food-borne *staphylococcus aureus* by PCR-based techniques. *Syst. Appl. Microbiol.* 28:340-52.
40. Clauditz A, Resch A, Wieland K-P, Peschel A, Gotz F.(2006). Staphyloxanthin plays a role in the fitness of *staphylococcus aureus* and its ability to cope with oxidative stress. *Infect. Immun.* 74(8): 4950-3.
41. Gorwitz RJ, Jernigan DB, Powers J H, Jernigan JA, and participants in the CDC convened experts' meeting on management of MRSA in the community (2006). Strategies for clinical management of MRSA in the community: Summary of an experts' meeting convened by the centers for disease control and prevention. Available at http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar_mrsa_ca.html.
42. Gould I.M.(2006).Cost of hospital-acquired methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) and its control. *Int J Antimicrob Agents*; 28:379-84.
43. Galie M, Pistella E, Napoleoni F, Condarelli G, and Santini C. Teicoplanin versus cefuroxime as prophylaxis in prosthetic joint implant surgery.17th ECCMID/25th ICC, Posters, S551-s552.
44. Sipahi OR, Arda B, Yurtseven T, Sipahi H, Ozgiray E, Suntur BM. (2005). Vancomycin versus teicoplanin in the therapy of experimental methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) meningitis . *Int J Antimicrob Agents*, 26:412-15.

45. Changchien C-H, Chen Y-Y, Chen S-W, Chen W-L, Tsay J-G, Chu C. (2011). Retrospective study of necrotizing fasciitis and characterization of its associated methicillin-resistant staphylococcus aureus in Taiwan. *BMC Infect Dis.* 11: 297.
46. Sridhar Rao PN, (2009). Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). www.microrao.com, 8p.
47. Deurenberg RH, Stobberrigh EE.(2008). The evolution of staphylococcus aureus. *Infect Genet Evol*, 8(6):747-63.
48. Sacar M, Sacar S, Kaleli I, Cevahir N, Teke Z, Kavas ST, et al. (2008). Efficacy of linezolid in the treatment of mediastinitis due to methicillin –resistant staphylococcus aureus: an experimental study. *Int J Infect Dis.*12: 396-401.
49. Sen H, Inangil G, Sahin L, Dere K, Ozkan S, Dagli G.(2009). Ecthyma-gangrenosum-like lesions associated with methicillin–resistant staphylococcus aureus infection. *Int J Infect Dis.* 13:e173-e175.
50. Blumer J.(2009). Treatment of pediatric Gram-positive multidrug-resistant infections. *J. Infect.* 59(S1):S51-S58.
51. Daines RF.(2007). Health advisory: prevention and control of community-associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (CA-MRSA). NYSDOH Bureau of Communicable Disease Control, Regional Epidemiology Program: 7P.
52. Abed El-Jalil HA, Khalil R, Jallad M, Bustami M, Al-Jawad F, Thwaini AJ.(2009). MecA and PVL Genes in Methicillin Resistant Staphylococcus aureus from nasal carrier individuals exposed and not exposed to hospital environments. *Arab Journal of Pharmaceutical Sciences*, 3(9):25-30.
53. Alekshun MN, Levy SB.(2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128:1037-50.
54. Groom AV, et al.(2001). Community-acquired methicillin - resistant staphylococcus aureus in a rural American Indian community. *JAMA*, 286(10):1201-5.
55. Zuo GY, Wang GC, Zhao YB, Xu GL, Hao XY, Han J, et al.(2008). Screening of Chinese medicinal plants for inhibition against clinical isolates of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). *J. Ethnopharmacol.*120: 287-90.
56. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, Allen SD, Pombo D, Patel PA, et al.(2010). Multicenter evaluation of the lightCycler methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) advanced test as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. *J. Clin. Microbiol.* 48(5):1661-6.
57. Smyth ETM, McIlvenny G, Enstone JE, Emmerson AM, Humphreys H, Fitzpatrick F, and on behalf of the Hospital Infection Society Prevalence Survey Steering Group,(2008). Four Country Healthcare Associated Infection Prevalence Survey 2006: overview of the results. *J Hosp Infect.*69(3):230–48.
58. Davis KA, Stewart JJ, Crouch HK, Florez CE, Hospenthal DR. (2004). Methicillin-resistant staphylococcus aureus(MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infection. *Clin Infect Dis.*39:776-82.
59. Lo W-T, Wang C-C, Lin W-J, Wang S-R, Teng C-S, Hung C-F, et al.(2010). Changes in the nasal colonization with methicillin-resistant staphylococcus aureus in children: 2004-2009. *PLoS ONE*,5(12): e15791.

60. Holcomb HG, Durbin KJ, Cho M, Choi KJ, Darling ND, Angerio AD.(2008). Methicillin-resistant staphylococcus aureus as a threat to public health: a cellular approach. GUJHS, 5(2), 8p.
61. D' Agata EMC, Webb GF, Horn MA, Moellering RC, Ruan S. (2009). Modeling the invasion of community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus into hospitals. Clin Infect Dis,48(3):274-84.
62. Bergstrom K, Aspan A, Landen A, Johnston C, Gronlund-Andersson U.(2012).The first nosocomial outbreak of methicillin-resistant staphylococcus aureus in horses in Sweden. Acta Vet Scand. 54:11.
63. Moodley A, Nightingale EC, Stegger M, Nielsen SS, Skov RL, Guardabassi L.(2008). High risk for nasal carriage of methicillin-resistant staphylococcus aureus among Danish veterinary practitioners. Scand J Work Environ Health, 34(2):151-7.
64. Bearman G, Rosato A, Elam K, and Edmond M.(2010). Inducible Dormant MRSA. 4th International Congress on Infectious Diseases (ICID) Abstracts; 02, 1503:e10-e11.
65. Mollema FPN, Richardus JH, Behrendt M, Vaessen N, Lodder W, Hendriks W, et al.(2010). Transmission of methicillin-resistant staphylococcus aureus to household contacts. J. Clin. Microbiol, 48(1) : 202-7.
66. Nimmo GR, Coombs GW.(2008). Community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in Australia. Int J Antimicrob Agents, 31:401-10.
67. Karas JA, Enoch DA, Emery MM..(2006). Community-onset healthcare-associated MRSA bacteraemia in a district general hospital. J Hosp Infect. 62:480-6.
68. Aliyu AB, Musa AM, Abdullahi MS, Oyewale AO, Gwarzo US.(2008). Activity of plant extracts used in northern Nigerian traditional medicine against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). Nig. Journ. Pharm. Sci. 7(1):1-8.
69. Millar BC, Loughrey A, Elborn JS, Moore JE.(2007). Proposed definitions of community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus (CA-MRSA). J Hosp Infect. 67:109-13.
70. Pantosti A.(2012). Methicillin-resistant staphylococcus aureus associated with animals and its relevance to human health. Front. Microbio.3:127.
71. Bowers KM, Wren MWD, Shetty NP.(2003). Screening for methicillin resistance in staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci: an evaluation of three selective media and mastalex-MRSA latex agglutination. Br J Biomed Sci. 60(2):71-4.
72. David MZ, Daum RS.(2010). Community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus: Epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin. Microbiol. Rev..23(3):616-87.
73. Tiwari S, Sahu M, Bhattacharya S, Karuna T, Mishra SR, Bhattacharya S.(2011). Prevalence of methicillin-resistant staphylococcus aureus and its antibiotic susceptibility pattern in a tertiary care hospital. J Indian Med Assoc, 109(11):800-1.
74. Richardson A, Pope C, Couper J, Desai U, Heffernan H.(2009). Annual survey of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA), 2009. ESR, 16p.
75. Hombach M, Pfyffer GE, Roos M, Lucke K.(2010). Detection of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in specimens from various body sites:

- Performance characteristics of the BD GeneOhm MRSA assay, the Xpert MRSA assay, and Broth-enriched culture in an area with a low prevalence of MRSA infections. *J. Clin. Microbiol*, 48(11): 3882-7.
76. O'Mahony R, Abbott Y, Leonard FC, Markey BK, Quinn PJ, Pollock PJ, et al.(2005). Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) isolated from animals and veterinary personnel Ireland. *Vet Microbiol*. 109: 285-96.
 77. Carvalho KS, Mamizuka EM, Gontijo Filho PP.(2010). Methicillin/Oxacillin-resistant staphylococcus aureus as a hospital and public health threat in Brazil. *Braz J Infect Dis*,14 (1): 71-76.
 78. Otsuka T, Yoshida K, Komiyama K, Ishikawa Y, Zaraket H, Okazaki M. (2011). Prevalence of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus among children in a region with controlled antimicrobial use. *Jpn. J.Infect. Dis*, 64: 436-8.
 79. Graveland H, Wagenaar JA, Bergs K, Heesterbeek H, Heederik D.(2011). Persistence of livestock associated MRSA CC398 in humans is dependent on intensity of animal contact. *PLoS ONE*, 6(2):e16830.
 80. Kitahara T, Aoyama Y, Hirakata Y, Kamihira S, Kohno S, Ichikawa N, et al.(2006). In vitro activity of lauric acid or myristylamine in combination with six antimicrobial agents against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). *Int J Antimicrob Agents*, 27: 51-57.
 81. Shore AC, Rossney AS, O'Connell B, Herra CM, Sullivan DJ, Humphreys H, et al.(2008). Detection of staphylococcal cassette chromosome mec-associated DNA segments in multiresistant methicillin-susceptible staphylococcus aureus(MSSA) and identification of staphylococcus epidermidis ccrAB4 in both methicillin-resistant S.aureus and MSSA. *Antimicrob. Agents Chemother*. 52(12):4407-19.
 82. Kock R, Mellmann A, Schaumburg F, Friedrich AW, Kipp F, Becker K.(2011). The epidemiology of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in Germany. *Dtsch Arztebl Int*, 108(45):761-7.
 83. Cuevas O, Cercenado E, Goyanes M, Marin M, Vindel A, Bouza E.(2006). Present situation of antimicrobial resistance of staphylococcus in Spain: Sixth Nationwide prevalence study and the in vitro activity of new antimicrobial agents. 17th ECCMID/25th ICC, Posters, S520- 521.
 84. Panagea T, Ikononopoulos G, Makri A, Vatopoulos A, Koukou P, Voyatzi A.(2006). Resistance pattern of community-acquired S.aureus infections in children. 17th ECCMID/25th ICC, Posters, S520- 521.
 85. Nimmo GR, Pearson JC, Colliqnon PJ, Christiansen KJ, Coombs GW, Bell JM, et al.(2011). Antimicrobial susceptibility of staphylococcus aureus isolated from hospital inpatients, 2009: report from the Australian group on antimicrobial resistance. *Commun Dis Intell*, 35(3): 237-43.
 86. Chen H, Liu Y, Jiang X, Chen M, Wang H.(2010). Rapid change of methicillin-resistant staphylococcus aureus clones in a Chinese tertiary care hospital over a 15-year period. *Antimicrob. Agents Chemother*. 54(5): 1842-7.
 87. Blanco MG.(2010). MRSA in Latin America: special considerations. 14th International Congress on Infectious Diseases (ICID) Abstracts, 02, 2213:e325-e326.

88. Guzman-Blanco M, Mejib C, Isturiz R, Alvarez C, Bavestrello L, Gotuzzo E, et al.(2009). Epidemiology of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in Latin America. *Int J Antimicrob Agents*; 34: 304-8.
89. Al-Khulaifi MM, Amin Aref MN, Al Salamah AA.(2009). Phage typing, PCR amplification for mecA gene, and antibiotic resistance patterns as epidemiologic markers in nosocomial outbreaks of methicillin resistant staphylococcus aureus. *Saudi J Biol Sci*.16:37-49.
90. Mere'i S.(2011). المعزولات الجرثومية وحساسيتها للصادات الحيوية في مستشفى الأطفال بجامعة دمشق. *مجلة جامعة دمشق للعلوم الصحية، المجلد 27، العدد الأول، ص 121- 136*.
91. Mere'i S ,Shuker W.(2010). الجراثيم المعزولة في مستشفى الأطفال عام 2009 وحساسيتها للصادات. *بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا(الماجستير) في طب الأطفال، جامعة دمشق، 84 ص*.
92. Al-Karam M ،Al-Esso M.(2010). الجراثيم المسببة للإنتانات المكتسبة في المشفى في وحدة العناية المشددة بالوليد والخدّيج في مشفى الأطفال- جامعة دمشق. *بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا(الماجستير) في طب الأطفال، جامعة دمشق، 75 ص*.
93. Mere'i S ،Ahmed R.(2012). دراسة المعزولات الجرثومية عام 2011 في مستشفى الأطفال وحساسيتها للصادات. *بحث علمي أعد لنيل شهادة الماجستير في طب الأطفال، جامعة دمشق، 95 ص*.
94. Deurenberg RH, Nulens E, Valvatne H, Sebastian S, Driessen C, Craeghs J, et al.(2009). Cross-Border dissemination of methicillin-resistant staphylococcus aureus, Euregio Meuse-Rhin region. *Emerg Infect Dis*. 15(5):727-34.
95. Sonnevend S, Pal T, Ungvari E, Paszti J, Jumaa P, Al-Dhaheri K. Characterisation of methicillin-resistant staphylococcus aureus strains isolated in a tertiary care hospital in the United Arab Emirates. 17th ECCMID/25th ICC, Posters, S440- S441.
96. Akpaka PE, Kissoon S, Rutherford C, Swanston WH, Jayaratne P.(2007). Molecular epidemiology of methicillin-resistant staphylococcus aureus isolates from regional hospitals in Trinidad and Tobago. *Int J Infect Dis*.11: 544-8.
97. The EARSS management team, members of the Advisory Board, and national representative of EARSS, Bilthoven,(2006). EARSS annual report 2005. The Netherlands, October 2006. ISBN-13:978-90-6960-159-5.
98. Salutah O ،Markabi M.(1994). إنتانات العنقودية المذهبة في مشفى الأطفال. *بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا(الماجستير) في طب الأطفال. جامعة دمشق، 123 ص*.
99. Mohankumar A, Tamil Selvi S, (2012). Antibiotic pattern of Methicillin-Resistant-Staphylococcus aureus isolated from chronic wound of fisherman community. *Intl. J. Microbiol. Res.*; 3 (2):109-16.
100. Bukharie HA, Abdelhadi MS.(2001).The epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus at a Saudi University Hospital. *Microb. Drug Resist*. 7(4): 413- 6.
101. Madani TA.(2002). Epidemiology and clinical features of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in the University Hospital, Jeddah, Saudi Arabia. *Can J Infect Dis*.13(4): 245-50.
102. Johnson AP. (2011).Methicillin-resistant staphylococcus aureus: the European landscape. *J Antimicrob Chemother*, 66(Suppl 4): iv43-iv48.
103. Bukhari S.Z, Ahmed S, (2007). Prevalence of methicillin resistance among staphylococcus aureus isolates in Pakistan and its clinical outcome. *Latter to the editor*, 101-2.

104. Haque N.,(2007).Nosocomial infections due to methicillin resistant staphylococcus aureus hospitalized patients. *Pak J Med Sci.* 23(4):593-596.
105. Indian Network for Surveillance of Antimicrobial Resistance (INSAR) group.(2013). Methicillin- Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in India: Prevalence & susceptibility pattern. *Indian J Med Res* 137: 363-9.
106. Evangelista AT, Yee YC, Torres MK, Brown NP, Pillar CM, Sahm DF et al.(2008). Common Sources of S. aureus Infection in the US and Prevalence of MRSA; Longitudinal Analysis of Ceftobiprole Activity Against S. aureus From Prevalent Specimen Sources. *ICAAC/IDSA 2008; POSTER C1-156* .
107. Lawes T, Edward B, Lopez-Lozano J-M, Gould I.(2012). Trends in staphylococcus aureus bacteraemia and impacts of infection control Practices including universal MRSA admission screening in a hospital in Scotland, 2006-2010: retrospective cohort study and time-series intervention analysis. *BMJ Open*, 2:e000797.
108. Horner C, Wilcox M, Barr B, Hall D, Hodgson G, Parnell P, et al.(2012). The longitudinal prevalence of MRSA in care home residents and the effectiveness of improving infection prevention knowledge and practice on colonization using a stepped wedge study design. *BMJ Open*, 2:e000423.
109. Campinile F, Bongiorono D, Borbone S, Stefani S. (2009). Hospital-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus (HA-MRSA) in Italy. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*8: 22.
110. Van Griethuysen A, Pouw M, Van Leeuwen N, Heck M, Willemse P, Buiting A, et al.(1999). Rapid slide latex agglutination test for detection of Methicillin Resistance in staphylococcus aureus. *J. Clin. Microbiol.* 37(9): 2789- 92.
111. Communicable Disease Epidemiology and Immunization section(2007). Methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) infection. *JAMA*, 298(15): 1763-71.
112. Klein E, Smith DL, Laxminarayan R.(2007). Hospitalization and Deaths caused by methicillin-resistant staphylococcus aureus, United States, 1999-2005. *Emerg Infect Dis.* 13(12): 1840-6.
113. Taneike I. Otsuka T, Dohmae S, Saito K, Ozaki K, Takano M, et al.(2006). Molecular nature of methicillin- resistant staphylococcus aureus derived from explosive nosocomial outbreaks of the 1980s in Japan. *FEBS Letters*, 580: 2323-34.
114. Sola C, Paganini H, Egea AL, Moyano AJ, Garnero A, Kevric I, et al. (2012). Spread of epidemic MRSA-ST5-IV clone encoding PVL as a major cause of community onset staphylococcal infections in Argentinean children. *PLoS ONE*, 7(1): e30487.
115. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. (2010). Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. *Clin Infect Dis.* 51(5): 636-7.
116. Pressley J, D'Agata EMC, Webb GF.(2010). The effect of co-colonization with community-acquired and hospital-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus strains on competitive exclusion. *J Theor Biol.*, 264(3):645-56.
117. Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer Aw, Carmeli Y. (2003). Comparison of mortality associated with methicillin-resistant

- and methicillin-susceptible staphylococcus aureus bacteremia: A meta-analysis. Clin Infect Dis. 36: 53-9.
118. Stefani S, Chung DR, Lindsay JA, Friedrich AW, Kearns AM, Westh H, et al.(2012). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): global epidemiology and harmonisation of typing methods. Int J Antimicrob Agents; 39:273-82.
 119. Cuny C, Friedrich A, Kozytska S, Layer F, Nubel U, Ohlsen K, et al.(2010). Emergence of methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) in different animal species. Int J Med Microbiol. 300:109-17.
 120. Van Hal SJ, Lockwood B, Marriott D, Harkness J. (2007). Methicillin-resistant staphylococcus aureus(MRSA) detection: Comparison of two molecular methods(IDI-MRSA PCR assay and GenoType MRSA Direct PCR assay) with three selective MRSA agars(MRSA ID, MRSA select, and CHROMagar MRSA) for use with infection-control swabs. J. Clin. Microbiol. 45(8):2486-90.
 121. Adedeji A, Weller TMA, Gray JW.(2007). MRSA in children presenting to hospitals in Birmingham, UK. J Hosp Infect; 65: 29-34.
 122. Kleinschmidt S, Munckhof WJ, Nimmo GR.(2006). In vitro exposure of community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) strains to vancomycin: does vancomycin resistance occur? Int J Antimicrob Agents; 27: 168-70.
 123. Talan DA. (2008). MRSA: deadly superbug or just another staph? Ann Emerg Med. 51(3): 299-302.
 124. D'Agata EMC, Webb GF, Pressley J.(2010). Rapid emergence of co-colonization with community-acquired and hospital-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus strains in the hospital setting. Math Model Nat Phenom. 5(3):73-6.
 125. Rossney AS, Shore AC, Morgan PM, Fitzgibbon MM, O'Connell B, Coleman DC.(2007). The emergence and importation of diverse Genotypes of methicillin-resistance staphylococcus aureus (MRSA) harboring the Panton-Valentine Leukocidin gene (pvl) reveal that pvl is a poor marker for community –acquired MRSA strains in Ireland. J. Clin. Microbiol, 45(8):2554-63.
 126. The PVL sub-group of the Steering Group on Healthcare Associated Infection(2008). Guidance on the diagnosis and management of PVL-associated Staphylococcus aureus infections (PVL-SA) in England. Health Protection Agency, 2nd ed, Nov.7, 2008, 49 p.
 127. Reinoso E, Bettera S, Frigerio C, Direnzo M, Calzolari A, Bogni C.(2004). RAPD-PCR analysis of staphylococcus aureus strains isolated from bovine and human hosts. Microbiol. Res.159:245-55.
 128. Klevens RM, Morrison MA, Nadle J, Petit S, Gershman K, Ray S.(2007). Invasive methicillin-resistant staphylococcus aureus infections in the United States. JAMA, 298 (15): 1768-71.
 129. Ventura CL, Malachowa N, Hammer CH, Nardone GA, Robinson MA, Kobayashi SD, et al. (2010). Identification of a novel staphylococcus aureus two-component leukotoxin using cell surface proteomics. PLoS ONE, 5(7): e11634.

130. Naimi TS, LeDell KH, Como-Sabetti K, Borchardt SM, Boxrud DJ, Etienne J, et al.(2003). Comparison of community-and healthcare-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* infection. *JAMA*; 290(22):2976-84.
131. Ochoa TJ, Mohr J, Wanger A, Murphy JR, Heresi GP.(2005). Community-associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in Pediatric Patients. *Emerg Infect Dis*;11(6):966-68.
132. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al.(2002) Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in France: Emergence of a Single Clone That Produces Panton-Valentine Leukocidin. *CID*; 35:819-24.
133. Chambers H,(2008). Clinical aspects of the community-acquired MRSA epidemic. 13th international Congress on Infectious Diseases Abstracts (Invited Papers), 5,124: e31.
134. Yanagihara K, Araki N, Watanabe S, Kinebuchi T, Kaku M, Maesaki S. et al.(2012). Antimicrobial susceptibility and molecular characteristics of 857 methicillin-resistant *staphylococcus aureus* isolates from 16 medical centers in Japan(2008-2009): nationwide survey of community-acquired and nosocomial MRSA. *Diagn Microbiol Infect Dis.*, 72(3): 253-7.
135. Shittu AO, Okon K, Adesida S, Oyedara O, Witte W, Strommenger B, et al., (2011). Antibiotic resistance and molecular epidemiology of *staphylococcus aureus* in Nigeria. *BMC Microbiology*,11: 92.
136. Ishihara K, Shimkubo N, Sakagami A, Ueno H, Muramatsu Y, Kadosawa T, et al. (2010). Occurrence and molecular characteristics of methicillin-resistant *staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *staphylococcus pseudintermedius* in an academic veterinary hospital. *Appl. Environ. Microbiol.* 76(15):5165-74.
137. Melo MCN, Silva-Carvalho MC, Ferreira RL, Celho LR, Souza RR, Gobbi CN, et al.(2004). Detection and molecular characterization of a gentamicin-susceptible, methicillin-resistant *staphylococcus aureus* (MRSA) clone in Rio de Janeiro that resembles the New York/ Japanese clone. *J Hosp Infect.* 58: 276-85.
138. Wei-Zhong Chia J, Li-Yang Hsu, Yi-Ann Chai L,Tambyah PA.(2008). Epidemiology and outcomes of community-onset methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in Singapore. *BMC Infect Dis.* 8: 14.
139. Tinelli M, Monaco M, Vimercati M, Ceraminiello A, Pantosti A.(2009). Methicillin-susceptible *staphylococcus aureus* in skin and soft tissue infections northern Italy. *Emerg Infect Dis.*15(2):250-7.
140. Chomvarin C, Siripornmongcolchai T, Chaicumpar K, Limpaboon T, Wongkham C, Yutanawiboonchai W.(2004). Evaluation of Polymerase Chain Reaction, conventional and MRSA screen latex agglutination methods for detection of Methicillin-Resistant, Borderline and-Susceptible *staphylococcus aureus*. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 35(4): 879-85.
141. Wolk DM, Picton E, Johnson D, Davis T, Pancholi P, Ginocchio cc, et al.(2009). Multicenter evaluation of the Cepheid Xpert methicillin-resistant *staphylococcus*

- aureus(MRSA) test as a rapid screening method for detection of MRSA in nares. J. Clin. Microbiol, 47(3):758-64.
142. Havill NL.(2009). Recent Advances in MRSA Surveillance Detection. Infectious Disease Special Edition(IDSE), 61-5.
 143. Gould IM.(2008). Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against staphylococcus aureus. Int J Antimicrob Agents;, 31:1-9.
 144. Metan G, Zarakolu P, Unal S.(2005). Rapid detection of antibacterial resistance in emerging Gram-positive cocci. J Hosp Infect. 61:93-9.
 145. Bartels MD, Boye K, Rohde SM, Larsen AR, Torfs H, Bouchy P, et al.(2009). A common variant of SCCmec type IV in Copenhagen, Denmark is not detected by BD GeneOhmTM MRSA. J. Clin. Microbiol.15p.
 146. Mohanasoundaram KM, Lalitha MK.(2008).Comparison of phenotypic versus genotypic methods in the detection of methicillin resistance in Staphylococcus aureus. Indian J Med Res.127:78-84.
 147. Swenson JM, Lonsway D, McAllister S, Thompson A, Jevitt L, Zhu W, et al.(2007). Detection of mecA-mediated resistance using reference and commercial testing methods in a collection of staphylococcus aureus expressing borderline oxacillin MICs. Diagn Microbiol Infect Dis.58:33-9.
 148. Boyce JM, Havill NL.(2008). Comparison of BD GeneOhm methicillin-resistant staphylococcus aureus(MRSA) PCR versus the CHROMagar MRSA assay for screening patients for the presence of MRSA strains. J.Clin. Microbiol.46(1):350-1.
 149. Sridhar Rao P.(2006). Polymerase chain reaction(PCR). www.microrao.com. Last edited in June 2006.
 150. Skov RL, Pallesen LV, Poulsen RL, Espersen F.(1999). Evaluation of a new 3-hybridization method for detecting the mecA gene staphylococcus aureus and comparison with existing genotypic and phenotypic susceptibility testing methods. J Antimicrob Chemother, 43:467-75.
 151. Sharp SE, Warren JA, Thomson RB.(2005). Cefoxitin disk diffusion screen for confirmation of oxacillin-resistant staphylococcus aureus isolates and utility in the clinical laboratory. Diagn Microbiol Infect Dis. 51: 69-71.
 152. Barken KB, Haagenen JAJ, Nielsen TT.(2007). Advances in nucleic acid- based diagnostics of bacterial infections. Clinica Chimica Acta; 384:1-11.
 153. Henegariu O, Heerema NA, Dlouhy SR, Vance GH, Vogt PH. (1997). Multiplex PCR: Critical parameters and step-by-step protocol. Bio Techniques, 23:504-11.
 154. Li G-H, Zhang Y-Y, Wang F, Chen Y-J.(2006). Emergency of methicillin-resistant staphylococcus carrying Pantone-Valentine Leukocidin gene in Shanghai, China. Letters to the editor, 06,002: 482-3.
 155. Lwase T, Uehara Y, Shinji H, Tajima A, Seo H, Takada K, et al. (2010). Staphylococcus epidermidis Esp inhibits Staphylococcus aureus biofilm formation and nasal colonization. Letters, Nature, 465:346-9.
 156. Daniel A, Euler C, Collin M, Chahales P, Gorelick KJ, Fischetti VA.(2010). Synergism between a novel chimeric lysin and oxacillin protects against infection by methicillin-resistant staphylococcus aureus. Antimicrob. Agents Chemother 54(4):1603-12.

157. Shittu AO, Udo EE, Lin J.(2009). Phenotypic and molecular characterization of staphylococcus aureus isolates expressing low-and high-level mupirocin resistance in Nigeria and South Africa. BMC Infect Dis. 9:10.
158. Lambert PA.(2005). Bacterial resistance to antibiotics: Modified target sites. Adv. Drug Deliv. Rev. 57: 1471-85.
159. Lambert PA, Allison DG, Gilbert P.(2001). Antibiotics that act on the cell wall and membrane. Academic Press; doi:10.1006/ bkmm 2001.0027, 591-8.
160. Brunton LL, Lazo JS, Parker KL.(2006). Chemotherapy of microbial diseases. Goodman & Gilman's, the pharmacological basis of therapeutics, McGraw-Hill, 11thed, USA, ISBN 0-07-142280-3.
161. Erdem H, Oncul O.(2007). A review of the current place of Glycopeptides in Turkish medical practice. Curr Ther Res. 68(1): 49-65.
162. Ito T, Hiramatsu K, Tomasz A, De Lencastre H, Perreten V, Holden MTG, Coleman DC, et al. (2012). Guidelines for reporting novel mecA gene homologues. Antimicrob. Agents Chemother. 56(10): 4997-9.
163. Alvarez LG, Holden MTG, Lindsay H, Webb CR, Brown DFJ, Curran MD, et al.(2011). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect Dis.11:595-603.
164. Paterson GK, Larsen AR, Robb A, Edwaeds GE, Pennycott TW, Foster G, et al.(2012). The newly described mecA homologue, mecA_{LGA251}, is present in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus isolates from a diverse range of host species. J Antimicrob Chemother; 67:2809-13.
165. Stegger M, Andersen PS, Kearns A, Pichon B, Holmes MA, Edwards G, et al.(2012). Rapid detection, differentiation and typing of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus harbouring either mecA or the new mecA homologue mecA_{LGA251}. Clin Microbiol Infect; 18(4):395-400.
166. Kaur H, Purwar S, Saini A, Kaur H, Karadesai SG, Kholkute S, et al.(2012). Status of Methicillin- Resistant Staphylococcus aureus infections and evaluation of PVL producing strains in Belgaum, South India. JKIMSU; 1(2):43-51.
167. Cekovska Z, Panovski N, Petrovska M. (2005). Methicillin–Resistant staphylococcus aureus: Comparison of susceptibility test methods with mecA gene analysis for determining oxacillin(methicillin) resistance in our clinical isolates. Bratisl Lek Listy 106(4-5):163-7.
168. Welte T, Pletz MW.(2010). Antimicrobial treatment of nosocomial methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) pneumonia: current and future options. Int J Antimicrob Agents; 36: 391-400.
169. Dong SD, Oberthui M, Losey HC, Anderson JW, Eggert US, Peczuh MW, et al.(2002). The structural basis for induction of VanB resistance. J. AM.CHEM. SOC. 124(31): 9064-5.
170. Malabarba A, Ciabatti R.(1997). SAR and chemistry of glycopeptides active against multi-resistant bacteria. XIVth International Symposium on Medicinal Chemistry: 329-43.

171. Wood MJ.(1996). The comparative efficacy and safety of teicoplanin and vancomycin. *J Antimicrob Chemother.* 37:209-22.
172. Bergeret M, Boutros, N, Raymond J.(2004). In vitro combined bactericidal activity of cefpirome and glycopeptides against glycopeptides and oxacillin-resistant staphylococci. *Int J Antimicrob Agents*; 23: 247-53.
173. Lefebvre M, Jacquelin C, Amador G, Le Mabecque V, Miegeville A, Potel G, et al.(2010). Efficacy of daptomycin combined with rifampicin for the treatment of experimental methicillin-resistant staphylococcus aureus(MRSA) acute osteomyelitis. *Int J Antimicrob Agents*; 36:542-4.
174. Katzung BG. (2007). Beta-Lactam & Other cell wall & membrane- active antibiotics. *Basic & Clinical Pharmacology*, McGraw-Hill, 10th ed, USA, ISBN 0-07-145155-2.
175. Kato Y, Suzuki T, Ida T, Maebashi K, Sakurai M, Shiotani J, et al.(2008). Microbiological and clinical study of methicillin –resistant staphylococcus aureus (MRSA) carrying *VraS* mutation: changes in susceptibility to glycopeptides and clinical significance. *Int J Antimicrob Agents*; 31: 64-70.
176. An epidemiology publication from the oregon department of human services, (2002). Advent of vancomycin –resistant staphylococcus aureus. CD Summary, 51(15):2p.
177. Karchmer A.(2010). Treatment of severe MRSA infections: Beyond vancomycin.14th International Congress on Infectious Diseases (ICID) Abstracts, 02, 2211:e324.
178. Campanile F, Borbone S, Perez M, Bongiono D, Cafiso V, Bertuccio T, et al.(2010). Heteroresistance to Glycopeptides in Italian methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA) isolates. *Int J Antimicrob Agents*; 36: 415-19.
179. Nannini E, Murray BE, Arias CA.(2010). Resistance or decreased susceptibility to glycopeptides, daptomycin, and linezolid in methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Curr Opin Pharmacol.*10:1-6.
180. Appelbaum PC. (2007). Reduced glycopeptide susceptibility in methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). *Int J Antimicrob Agents*; 30:398-408.
181. Uckay I, Bernard L, Buzzi M, Harbarth S, Francois P, Huggler E, et al.(2012). High prevalence of isolates with reduced glycopeptides susceptibility in persistent or recurrent bloodstream infections due to methicillin-resistant staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother.* 56(3): 1258-64.
182. Vaudaux P, Huggler E, Bernaedi L, Ferry T, Renzoni A, Lew DP.(2010). Underestimation of vancomycin and teicoplanin MICs by broth microdilution leads to underdetection of glycopeptide–intermediate isolates of staphylococcus aureus. *Antimicrob Agents Chemother.* 54(9): 3861-70.
183. Applebaum PC.(2006). The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant staphylococcus aureus. *Clin. Microbiol Infect.*12(1):16-23.
184. Saha B, Singh AK, Ghosh A, Bal M.(2008).Identification and characterization of a vancomycin–resistant Staphylococcus aureus isolated from Kolkata (South Asia). *J Med. Microbiol.* 57:72–9.

185. Flayhart D, Hindler JF, Bruckner DA, Hall G, Shrestha RK, Vogel SA, et al.(2005). Multicenter evaluation of BBL CHROMagar MRSA medium for direct detection of methicillin-resistant staphylococcus aureus from surveillance cultures of the anterior nares. J. Clin. Microbiol.,43(11): 5536-40.
186. Beam JW, Buckley B.(2006). Community-acquired methicillin-resistant staphylococcus aureus: Prevalence and risk factors. J Athl Train.41(3):337- 40.

Syrian Arab Republic

Damascus University

Faculty of Medicine

Department of Physiology & Pharmacology



Prevalence Study of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) and Its Resistance to Glycopeptides in Children's Hospital in Damascus.

A thesis submitted for Ph.D. in department of physiology and pharmacology & therapeutics.

Prepared by:

Ahmed AL-Akydy

Under Supervision of:

Chief supervisor

Prof.Dr. Hend Daoud

Department of pharmacology and therapeutics

Faculty of Medicine

Participant supervisor

Prof.Dr. Mueeb Mulhem

Department of children

Faculty of Medicine

2013-2014