الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة دمشق – كلية الطب البشري

قسم الأطفال

إنتانات الأسينتوباكتر و مقاومتها للمضادات الحيوية

The Infections of Acinetobacter and its Resistance to Antibiotics

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا (الماجستير) في طب الأطفال

بإشراف

الأستاذ الدكتور

مجيب ملحم

برئاسة

الأستاذ الدكتور

سمير سرور

إعداد طالبة الدراسات العليا

د. منى حسن جليلاتي

2017 م

الإهداء

إليك يا أبي...إلى روحك الطاهرة....

يا من أودعتك عند الله.....

لست أملك من كلمات إلا أن أقول لك شكرا"

شكرا" على أيام قضيتها

وتعب عانيته في سبيل دفعي نحو التميز والتفوق

إليك يا من حصدت الأشواك عن دربي لتمهد لي طريق العلم

أدعو الله أن يكون هذا النجاح سبيلا" يقربني إليك وطريقا" لكسب رضاك

إلى الغائب بالجسد الحاضر بالروح : أبي

إليك يا ملاكي الذي ينير أماكن حياتي المظلمة

يا من تزرع عمري شجرا" وتملي ليلي شهبا"

يا من كلما ضاق بي ألمي زرت صدرك لأعيش في عالم الطمأنينة

يا طريقي المعبد إلى الجنة

إلى الإسم الذي يسري في دمي

إلى الغالية الحنونة : أمي

إلى سندي....

إلى السواعد الحنونة التي تدفعني إلى الأمام

إلى أخواتٍ كنَ وردات تناثرت في كل مكان فتلونت حياتي بطيب قلوبهن

يا من كبرنا معاً وكبرت أحلامنا معاً

يا من عشنا همومنا وفرحنا سوياً

وكنا خير سندٍ لبعضنا

فأدامكن الله خيراً لي

أخواتي : (إيمان , يارا , ماسة)

إلى كل من ساندني ووقف بجانبي من عائلتي وقدم لي النصيحة وكان لي عوناً في خطوات حياتي

إلى أصدقائي الذين أهدتني إياهم الحياة .... الذين بدأت و أكملت معهم مشوار الدراسة والنجاح وكانوا لي خير رفاق

إليكم يا من هونتم عليي المصاعب

عائلتي و أصدقائي

كلمة شكر

أتوجه بالشكر الجزيل والإمتنان لمن كان نبعاً لا ينضب من العطاء, لمن اكتسبت منه العلم والمعرفة والحكمة , لمن أشرف على هذا البحث وأغناه بملاحظاته وتوجيهاته القيمة.....

إليك أستاذي القدير الغالي:

الأستاذ الدكتور مجيب ملحم المحترم

مع كل احترامي وشكري الكبير لأعضاء لجنة التحكيم المحترمين:

الأستاذ الدكتور عصام أنجق , والأستاذة الدكتورة هالة ونوس الذين تفضلا بمناقشة هذا البحث.

الإختصارات الواردة في البحث:

MDR: Multidrug resistance.

XDR: Extensive drug resistance.

MIC: The minimal inhibitory concentration.

MBC: The minimal bactericidal concentration.

LPS: Lipopolysaccharide.

PL: Phospholipid.

PBP: Pencillin binding protin.

مخطط البحث

الموضوع	الصفحة
1) القسم النظري	**9**
مقدمة تاريخية	10
الصفات الكيماوية الحيوية والشكلية	11
عوامل الفوعة الإمراضية	11
الوبائيات	12
التظاهرات السريرية	12
ذات الرئة المكتسبة	13
إنتان الدم	13
الرضوض والجروح	14
الإنتانات البولية	14
التهاب السحايا	14
العوامل المؤهبة للإصابة	15
التشخيص	16
المعالجة	16
الصادات	17

2) المقاومة الدوائية **18**

تعريف وتحديد المقاومة 19

اختبار الحساسية للصادات 20

آليات المقاومة الجرثومية 22

منشأ المقاومة الدوائية 26

المقاومة المكتسبة للصادات المختلفة 28

إجراءات الوقاية لمنع تطور سلالات المقاومة للصادات 30

3) القسم العملي **31**

أهداف الدراسة 32

مكان و زمان الدراسة 32

مجموعة الدراسة 32

طريقة إجراء الدراسة 33

توزع العينات حسب العمر 34

توزع العينات حسب الجنس 35

توزع العينات حسب مصدرالزرع 36

توزع العينات حسب شعب و أقسام المشفى 37

توزع العينات حسب نتائج الإصابة 38

توزع العينات حسب أسباب الوفاة 39

توزع العينات حسب نتائج التحسس للصادات 40

الحكم الإحصائي 43

المناقشة والمقارنة 44

الخلاصة 51

التوصيات 52

المراجع 53

القسم النظري

أولاً - مقدمة تاريخية:

تعتبر عائلة جراثيم الأسينتوباكتر سبب هام للإنتانات المكتسبة, وهي في تزايد في إحداث وبائيات تنتشر بشكل واسع في المشافي[1].

تاريخياً :تم اكتشاف الأسينتوباكتر عام 1911 حيث أطلق عليها العالم Beijerinck اسم Micrococcus calcoaceticus

بقيت هذه الجراثيم غير معرفة بشكل واضح حتى وقت طويل من الزمن وصنفت ضمن عدة أجناس كال Moraxella كما أطلق عليها عدد كبير من الأسماء, عرفت بالنهاية بإسم الأسينتوباكتر عام 1950[2] .

تم تمييزها بشكل نهائي وفصلها عن باقي الأجناس من قبل Jung and Park عام 1954على أنها جراثيم سلبية الغرام لها أصناف إيجابية الأوكسيداز وأصناف سلبية الأوكسيداز[3].

في عام 1974وضع Bergys Manual of Bacteriology هذه الجراثيم ضمن عائلة النيسريا على أنها صنف أساسي Acinetobacter calcoaceticus وتحت صنفين A.anitratum و A.lwoffii بالإعتماد على ملاحظة مدى قدرة تلك الجراثيم على إنتاج الحمض من أكسدة الغلوكوز, أما التصنيف الجديد الحالي [2]□[3]:

المجال : Bacteria

الشعبة :Proteobacteria

العائلة: Moraxellaceae

الجنس: Acinetobacter

الأنواع : A. baumanii – A.haemolyticus – A. calcoaceticus

ثانياً ـ الصفات الكيماوية الحيوية والشكلية:

الأسينتوباكتر عصيات سلبية الغرام تبدو قصيرة ممتلئة بقطر (1-1,5) ميكرومتر وطول (1,5-2,5)ميكرومتر في الطور السريع من الإنقسام وتصبح كروية أكثر في الطور الثابت من الإنقسام, تظهر عادة على شكل أزواج أو سلاسل طويلة بأطوال متباينة [4].

تشبه بالمظهر ال Haemophilus influenza بتلوين غرام [4].

إن الأسينتوباكتر تملك استقلاباً هوائياً إجبارياً , غير متحركة,إيجابية الكاتالاز , سلبية الإندول, سلبية الأوكسيداز, إيجابية السيترات [5].

تنمو الأسينتوباكتر على أوساط الزرع الشائعة دون الحاجة لعوامل نمو خاصة بها, حيث على آغار الدم تظهر المستعمرات وصفية الشكل والحجم غير ملونة(لون أبيض أو أبيض كريمي) أو تظهر مخاطية عندما تكون ممحفظة , بقطر (1-2) ميكرومتر بعد حضن 18-24 ساعة بدرجة حرارة 37 درجة سيليسيوس.

أما على آغار MacConkey تكون بلون أرجواني فاتح مشيرة لعدم تخمير اللاكتوز [4،5].

ثالثاً ـ عوامل الفوعة الإمراضية:

تعتبر الأسينتوباكتر من الجراثيم ذات الفوعة القليلة ,ولكنها قادرة على إحداث مرض هام في حال وجود زرع أعضاء أو نقص عدلات أو وجود عوامل خطورة للإصابة, وعوامل الفوعة الإمراضية المحتملة هي [4،6] :

خلايا السطح اللامائية , بروتينات الغشاء الخارجي وعديدات السكريد السمية,كما تقوم بإنتاج عدة عوامل مثل: أنزيمات خارج خلوية , ذيفانات سمية للخلايا وعوامل تؤثر في النفوذية الوعائية, وكلها تلعب دوراً هاماً في الآلية الإمراضية وتحدث أذية في خلايا وأنسجة المضيف.

من العوامل الأخرى التي قد تلعب دوراً في الإمراضية هو إنتاج بعض الأنزيمات متل الإستيراز و الببتيداز و الفوسفاتاز الحامضية [7].

رابعاً - الوبائيات:

تنتشر سلالات الأسينتوباكتر في كل مكان كالتراب,الماء ,مياه المجاري, الطعام(كالخضار النيئة والفواكه الملوثة ومنتجات الحليب الملوث), الإنسان(خاصة فريق العمل الطبي ومرضى المشافي), وأيضا" الحيوانات (كالطيورو الأسماك). [3][8]

كما تعتبر جزءاً من الفلورا الجرثومية للجلد , الأغشية المخاطية , البلعوم والطرق التنفسية ,حيث تم عزلها من الأشخاص الأصحاء من الأنف, الأذن, البلعوم, الرغامى, الملتحمة, اليدين, المهبل, العجان و الأماكن الرطبة كالمناطق الإبطية والإربية وبين الأصابع [8].

ومع ذلك فقد تسبب مجموعة واسعة من الإنتانات الموضعية والجهازية بمافيها : ذات الرئة, إنتان دم وإنتانات الجروح خاصة عند مرضى المشافي فهي جراثيم قادرة على تحمل الظروف الجافة لفترة طويلة قد تصل حتى 4 أشهر لذلك قد تسبب إنتانات مشفوية إنتهازية, إذ تم عزلها من الأدوات الطبية مثل أنابيب التهوية الآلية , المرطبات , أحواض الماء, أدوات جمع البول , القثاطر الوريدية أو البولية [9].

خامساً - إنتانات الأسينتوباكتر(التظاهرات السريرية):

إنَ معظم الإنتانات التي تسببها الأسينتوباكتر تحدث في الأعضاء التي تحوي نسبة عالية من السوائل كالجهاز البولي , التنفسي ,الجوف البريتواني والدم [10], وأغلب ما تكون عند مرضى المشافي خاصة في وحدة العناية المشددة, وعندها تحدث مرضاً هاماً قد يكون خطيراً , إذ تبلغ نسبة الوفيات تقديرياً بالأسينتوباكتر بشكل عام حوالي 30% [9][10].

من أهم تلك الإنتانات:

1 – ذات الرئة المكتسبة:

أغلب حالات الإصابة بالأسينتوباكتر تم عزلها من الطرق التنفسية لدى مرضى المشافي خاصة في وحدة العناية المشددة لاسيما الموضوعين على جهاز التهوية الآلية بوجود أنابيب داخل الرغامى أو خزع رغامى[11].

ومن الصعب أن يتم التمييز في عينة القشع بين كون هذه العضيات مستعمرة في الطرق التنفسية العلوية (كجزء من الفلورا الجرثومية) أو أنها مكتسبة و تسبب ذات رئة حقيقية إلا من خلال السريريات.

تمتلك تلك الجراثيم القدرة على الإنتقال من مكان إلى آخر وبالتالي إحداث إصابات متعددة.

ذكرت حالات قليلة و نادرة لذات رئة مكتسبة في المجتمع بالأسينتوباكتر في بعض المناطق المدارية من آسيا و أستراليا مترافقة مع وجود قصة الإدمان على الكحول أو وجود أمراض رئوية إنسدادية مزمنة [11].

نسبة حدوث ذات الرئة المكتسبة في وحدة العناية المشددة 3-5% مع معدلات وفاة عالية تصل حتى 30-75%

2 - إنتان الدم:

يحدث إنتان الدم بهذه العضيات غالباً بسبب القثاطر الوريدية أو أنابيب التهوية داخل الرغامى في وحدة العناية المشددة ,كما تعتبر جروح العمليات الجراحية والحروق والقثاطر البولية مصدراً لإنتان الدم لكن أقل تواردا ً [12].

في حوالي 20-70% من الحالات لا يعرف مصدر الإنتان .

قد يحدث إنتان الدم بالأسينتوباكتر خارج وحدة العناية لكن بشكل أقل شيوعاً .

نسبة حدوث إنتان الدم بالأسينتوباكتر بشكل عام 1,3% مع معدلات وفاة قد تصل داخل وحدة العناية المشددة ل 34-43% و خارجها حوالي 16%

يبدو أن إنتان الدم بهذه العضيات شائعٌ لدى الأطفال ناقصي المناعة مع وجود عوامل مؤهبة متل الإستعمال المديد للصادات , وجود القثاطر الوريدية أو البولية و نقص وزن الولادة وغيرها [12،4].

وقد تتنوع التظاهرات السريرية من إنتان بسيط إلى صدمة إنتانية و تخثر منتشر داخل الأوعية ومن ثم وفاة.

3 – الرضوض والجروح :

قد تحدث إنتانات الجلد والأنسجة الرخوة بالأسينتوباكترحيث تصل نسبة تلك الإنتانات داخل وحدة العناية المشددة حتى 2%, وتزداد إحتمالية الإصابة بشكل واضح بوجود الحروق والجروح النافذة والكسور.

كما سجلت بعض الحالات النادرة لحدوث التهاب مفصل إنتاني أو ذات عظم ونقي [11].

4 – إنتانات الطرق البولية:

يعتبر حدوث الإنتان البولي بالأسينتوباكتر نادر الحدوث إذ تبلغ نسبة حدوثه في وحدة العناية المشددة حوالي 1,6% ويكون عادة مكتسب عبر وجود قثطرة بولية [11،9].

من غير المعتاد حدوث إنتان بولي خارج مشفوي بالأسينتوباكتر.

5 – التهاب السحايا:

معظم التهابات السحايا بالأسينتوباكتر والمعندة على معظم الصادات تكون مكتسبة بعد التداخلات الجراحية العصبية (جروح نافذة أو تركيب شنت ضمن البطينات) إذ تعتبر مسؤولة عن 4% من التهابات السحايا المكتسبة وتملك معدلات وفاة عالية قد تصل ل70% [12،11].

6 – إصابات أخرى:

ذكرت حالات نادرة متفرقة للإنتانات بالأسينتوباكتر تتضمن : التهاب الشغاف خاصة بوجود دسامات صنعية , التهاب البرتوان خاصة بوجود قثطرة رحض برتواني , التهاب ملتحمة أو قرنية بوجود عدسات صنعية ملوثة أو تداخل جراحي على العين [3] [8].

سادساً - العوامل المؤهبة للإصابة بالأسينتوباكتر:

تعتبر الأسينتوباكتر من أشيع العوامل المسببة للأخماج الإنتهازية المشفوية, فهي تستطيع أن تسبب أخماجاً تالية في آفة ما سواءً كانت تلك الآفة رضية, ورمية, خمجية, أو ضعف مناعي كالولدان, أو تثبطاً مناعياً .

من العوامل التي تلعب دوراً مهماً في الإمراضية [13]:

-استعمال صادات واسعة الطيف تسبب ظهور زمرة جرثومية مقاومة بدل النبيت الجرثومي الطبيعي.

-خضوع المرضى لإجراءات طبية وجراحية, كوضع قثاطر ثابتة (وريدية أو بولية) أو تنبيب رغامي أو رحض بريتواني أو تركيب شنت دماغي بريتواني.

-وجود تثبط مناعي كما هو حال الخدج ناقصي وزن الولادة أو الكهول , أو مرضى العلاج الكيماوي.

-قدرة هذه العضويات على الإلتصاق بمادة القثطرة الوريدية مما يسهل استعمارها وبالتالي إمكانية إحداث أخماج خطيرة.

-حدوث انتقال للعوامل الفوعية من أنواع جرثومية أخرى بواسطة البلاسميدات, مثل تلك المسؤولة عن نقل المقاومة لصادات البيتالاكتام.

سابعاً - التشخيص:

لا يوجد اختبارات متوفرة لكشف الأجسام الضدية أو المصلية.

يعتمد تشخيصها على عزل الجرثوم من خلال زرع سوائل الجسم المخموجة , تفحص العينات بعد تلوين غرام حيث تظهر تلك الجراثيم على شكل عصيات مزدوجة سلبية الغرام أو على شكل أنماط متعددة للجرثوم , ويتم تفريقها عن مستعمرات النيسيريا والموراكسيلا بتفاعل الأوكسيداز حيث يكون سلبياً لدى الأسينتوباكتر [5] [13].

ثامناً" - المعالجة:

لا يوجد علاج نوعي واحد,إذ توجد تغيرات واسعة في الحساسية للصادات مع مقاومة متغيرة للعديد منها, حتى أن المقاومة قد تشمل جميع الصادات المؤثرة عادةً , ومن هنا يعتبر إجراء الزرع والتحسس أساسي في المعالجة والتي ترتكز على التحسس الجرثومي من جهة وعلى موضع الخمج من جهة أخرى للحد من المراضة والوفيات [14].

العلاج قد يكون أحادي أو بالمشاركة بين صادين مثل : أميكين أو كوليستين +- ريفامبسين , حيث بينت الدراسات أن المشاركة بين صادين يخفف من حدوث المقاومة الجرثومية [15].

-أهم الصادات المستخدمة في علاج الأسينتوباكتر:

1- Carbapenems (Meropenem – Imipenem):

تعتبر من الصادات واسعة الطيف القاتلة للجراثيم, آليتها من خلال تثبيط إصطناع الجدار الجرثومي.

فعال ضد معظم إيجابيات و سلبيات الغرام.

على كل الأحوال فإن الكاربابينيم يبقى العلاج المفضل في حال كان الزرع متحسس عليه [15] [16].

2- Sulbactam :

يعتبر السولباكتام مثبط ل بيتالاكتاماز حيث يظهر فعالية جيدة ضد الأسينتوباكتر في الزجاج, وهو ملائم للإنتانات الخفيفة.

العلاج الملائم (حسب الزرع) بالسولباكتام يعتبر شافي بنسبة 67% من حالات التهاب السحايا , التهاب البرتوان , ذات الرئة , إنتانات الجروح و إنتانات الطرق البولية والتي أظهرت مقاومة على ال imipenem [14] [16].

3- Aminoglycosides :

يرتبط بشكل غير عكوس مع تحت الوحدة 30S مما يمنع التعرف على اصطناع البروتين وبالتالي يثبط نمو الجرثوم.

يعتبر ال amikacine وtobramycine و gentamicine بعض الأمينوغليكوزيدات التي تستخدم كمعالجة فعالة في علاج إنتانات الأسينتوباكتر المقاومة لمعظم الصادات, حيث تستخدم بالمشاركة مع صادات أخرى في مثل تلك الحالات [14].

4- Colistin [18] [19] :

يعتبر جزء من عائلة الpolymyxin (colistimethate or colistinsulfomethate or polymyxin E) وهو واحد من الصادات القوية واسعة الطيف.

أول ما استخدم هذا الدواء عام 1960 ولم يصرح باستخدامه إلا من فترة قصيرة بسبب وجود تأثيرات جانبية له كالسمية الكلوية و العصبية.

يرتبط بالفوسفوليبيدات الغشائية , يغير النفوذية و يخرب الغشاء السيتوبلاسمي للخلية. يستخدم حالياً الكوليستين في حالات المقاومة

الجرثومية العالية لباقي الصادات حيث أظهرت دراسات حدوث شفاء أو تحسن واضح لدى مرضى مصابين بالأسينتوباكتر مقاومة لباقي الصادات في سوائل الجسم المختلفة وذلك بنسبة تصل ل 57 – 77%

5- Rifampin:

يثبط اصطناع ال DNA في الجرثوم عبر الارتباط مع تحت الوحدة بيتا من RNA polymerase مما يمنع نسخ ونقل RNA [16] .

6- باقي الصادات:

بشكل عام فإن باقي الصادات مثل:

first , second and third generation cephalosporins , macrolides and penicillin لها تأثير قليل على الأسينتوباكتر .

بعض السلالات قد تكون حساسة بشكل جيد على cefepim and ceftazidime. [14][17]

- المقاومة الدوائية:

مدخل إلى المقاومة الدوائية:

تعتبر المقاومة الجرثومية من أخطر المشاكل التي تواجه المجتمع بسبب زيادة خطر المراضة والوفيات .

خلال السنوات الأخيرة أظهرت سلالات الأسينتوباكتر مقاومة جديدة ضد الصادات الحيوية و أصبحت تلك المشكلة تتفاقم مع مرور السنوات [20][22].

ومع تطور أساليب العلاج و فرط الاستعمال العشوائي للصادات أصبح هذا الاستخدام المفرط للصادات في المشافي والمجتمع يدفع الجراثيم لتطوير أساليب مقاومة جديدة ضد المضادات الحيوية يوماً بعد يوم [11].

إن وجود جراثيم مقاومة للصادات يجعل تدبير الإنتان معقداً و يزيد نسبة الوفيات و أيضاً مدة الاستشفاء و تكلفة العلاج على المريض والمشفى.

تعريف و تحديد المقاومة الدوائية:

تعريف المقاومة الدوائية سريرياً :هي عدم القدرة على معالجة و استئصال الخمج باستخدام الصادات الحيوية [21].

خلال السنوات الأخيرة طورت سلالات الأسينتوباكتر مقاومة جديدة لمعظم الصادات الحيوية ,عرفت تلك السلالات باسم MDR (multidrug resistant)Acinetobacter أو باسم XDR (extensive drug resistant) حسب درجة المقاومة للصادات ,حيث انتشرت بشكل واسع في المشافي حول العالم وأصبحت من أكثر العضيات الممرضة المسيطرة فيها [20 23].

في البداية عرفت تلك الجراثيم (MDR): بأنها الجراثيم التي تقاوم على الأقل ثلاث مجموعات من الصادات مثل : البنسلينات, السيفالوسبورينات , فلوروكينولونات و الأمينوغليكوزيدات [20 21].

ثم اقترح تعديل التعريف لتصبح ال MDR وهي تلك الجراثيم التي تقاوم اثنين أو أكثر مجموعة الصادات التالية:

سيفالوسبورينات المضادة للأسينتوباكتر (سيفتازيديم أو سيفيبيم) , كاربابينيم المضادة للأسينتوباكتر (ايميبينيم أو ميروبينيم) , أمبيسيللين + سولباكتام , فلوروكينولونات (سيبروفلوكساسين , ليفوفلوكساسين) و الأمينوغليكوزيدات (جنتامايسين, توبرامايسين أو أميكين)

أما XDR.Acinetobacter فهي سلالات ال MDR التي تقاوم أيضا ال كاربابينيم وال بوليميكسين[15] .

- في الوقت الحالي أصبحت الطرائق المخبرية بالاعتماد على اختبارات الحساسية مع المعايرات المصلية قادرة على التنبؤ بدرجة المقاومة الدوائية.

-اختبار الحساسية للصادات:

يعتبر حاليا" ال (MIC) أي :

The minimal inhibitory concentration هو المعيار الذهبي لتحديد المقاومة الجرثومية على الصاد ويعرف بأنه التركيز الأصغري من الصاد القادر على تثبيط النمو الجرثومي,والمصطلح الأوسع من MIC هو (MBC) أي The minimal bactericidal concentration وهو التركيز الأصغري من الصاد القادر على قتل الخلية الجرثومية.

عندما يكون الصاد قاتل للخلية الجرثومية(bacteticidal) أو مثبط للنمو الجرثومي(bacteriostatic) فذلك ليس له علاقة مباشرة بآلية المقاومة الجرثومية وإنما ذلك يلعب دوراً كبيراً في نتائج العلاج خاصة بوجود إنتانات خطيرة[21] .

- هناك طريقتين أساسيتين لتحديد حساسية الجراثيم المعزولة تجاه المضادات الحيوية في الزجاج وهما [6]□[20]:

1- طريقة التمديد (Dilution Method):

حيث يتم إدخال المضادات الحيوية المراد دراستها بتراكيز متدرجة في سلسلة من الأوساط الجرثومية السائلة أو الصلبة المشربة بالجرثومة المدروسة بحيث تحتوي هذه الأوساط كميات متساوية من الجرثومة المعزولة, مع الإحتفاظ بشاهدين أحدهما لا يحتوي الصاد والآخر لا يحتوي الجرثوم, ثم حضن هذه الأوساط في درجة حرارة 37 سيليسيوس

لمدة 24 ساعة, وبعدها تتم مقارنة نمو الجراثيم في الأوساط التي تحتوي الجرثوم مع الوسط الشاهد الذي لا يحتوي الصاد, ومن ثم نعين التركيز الأصغري المانع لنمو الجراثيم , ونميز تأثير الصاد هل هو قاتل أم مثبط للجرثوم.

إن اختبارات الحساسية بالتمديد بالآغار لها استخدامات محدودة , كما أن تلك الاختبارات بالتمديد بالمرق تعتبر مرهقة لكن تكمن فائدتها بأنها تتيح تسجيل النتيجة الكمية التي تشير إلى كمية الدواء الضروري إعطاؤها لتثبيط أو قتل العضويات الدقيقة المدروسة.

2- طريقة الإنتشار (Diffusion Method):

اختبار القرص الحساس:

حيث يوضع قرص ورقة ترشيح مشرب بتركيز معين من الصاد أو كوب مع مسام أو اسطوانة تحوي كميات ثابتة ومحددة من الصاد في وسط صلب (غراء) مزروع سابقاً بكمية معينة من العضويات المدروسة.

إن رطوبة الوسط سوف تؤدي إلى انتشتر متتابع للصاد في ذلك الوسط مترافقا" مع تناقص متدرج في تركيز الصاد كلما ابتعدنا عن القرص, وبعد الحضن بدرجة حرارة 37 سيليسيوس ولمدة 24 ساعة نلاحظ وجود أو عدم وجود هالة محيطية حول القرص خالية من كل نمو جرثومي .

إن قطر هذه الهالة يؤخذ كقياس لقوة تثبيط الصاد تجاه الجرثومة المفحوصة.

تقرأ النتائج على النحو التالي إذا لم يوجد مسطرة قياس محددة من قبل الشركة المصنعة للقرص:

1- ذراري حساسة : قطر التثبيط أكبر من 15 ملم.

2- ذراري متوسطة الحساسية : قطر هالة التثبيط أقل من 15 ملم.

3- ذراري مقاومة : لا توجد أي هالة لتثبيط النمو الجرثومي.

وفي حال وجود ذراري حساسة تتم المقارنة بين درجات الحساسية بإعطاء إشارات + أو ++ أو +++ حسب قطر هالة التثبيط الجرثومي حول توضع الصاد.

- تجدر الإشارة إلى أن هناك طرائق أخرى لاختبار الانتشار غير طريقة القرص الحساس مثل اختبار E (E-test) حيث يستخدم فيه شريط ضيق طويل مشرب بتراكيز متدرجة من الصاد , يطبق هذا الشريط على الوسط المشرب بالجراثيم معطيا" مساحة بيضوية من التثبيط بعد الحضن , فيكون ال MIC النقطة التي يلاقي فيها الشريط مساحة التثبيط.

- هناك اختبارات أخرى لتحديد المقاومة الدوائية:

هذه الاختبارات لا تكتفي بتحديد المقاومة الدوائية وإنما تحديد آليتها, مثال عليها: الاختبارات التي تحدد البيتالاكتاماز و الكلورأمفينيكول أستيل ترانسفيراز ..... وغيرها.

- بالإضافة للاختبارات سابقة الذكر هناك اختبارات نوعية يمكن أن تجرى في العديد من المخابر وتعمل على الكشف المورثي لمرمزات المقاومة في متتاليات ال DNA , مثال عنها كشف الجينات التي ترمز لأنزيمات إزالة تفعيل الأمينوغليكوزيدات, ولكن لسوء الحظ فإن هذه الاختبارات لا تستطيع التنبؤ بالحساسية.

-آليات المقاومة الجرثومية:

بشكل عام إن جميع الصادات المستخدمة تؤثر بالخلية الجرثومية بعدة آليات: إما بالتأثير على اصطناع الجدار الخلوي أو على وظيفة الغشاء أو على تركيب البروتينات أو على الحموض النووية.

تتضمن آليات المقاومة الجرثومية ما يلي ^{6} ^{15} ^{20} :

1-الأنزيمات المعطلة للصاد:

يعتبر إنتاج أنزيمات معطلة للصاد من أكثر آليات المقاومة للصادات شيوعاً , حيث يتم إنتاج أنزيمات معينة تمنع قتل الخلية الجرثومية بالصاد المستخدم,وعندما يتم استخدام صنف صاد آخر تظهر المقاومة للصادات.

مثال عن تلك الأنزيمات هو Beta-lactamases التي تنتجها كل من إيجابيات الغرام وسلبيات الغرام حيث تعمل على هدركسلة حلقة بيتا لاكتام في البنسلينات و السيفالوسبورينات وبالتالي تحويلهم إلى مشتقات غير فعالة.

ملاحظة: بسبب اختلاف سماكة الجدار الخلوي في كل من إيجابيات وسلبيات الغرام فإن آلية تأثير بيتالاكتاماز تختلف فيهما, ففي إيجابيات الغرام وبسبب رقة الجدار يتم إنتاج بيتالاكتاماز بشكل محرض وإفرازها خارج جدار الخلية لتؤثر بالصاد الحيوي , بينما في سلبيات الغرام وبسبب سماكة الجدار الخلوي يتم إنتاج بيتالاكتاماز بشكل بنيوي أو محرض حيث يتيح اصطناعها في البلازما وإفرازها للحيز السيتوبلاسمي المحيط, وبهذه الآلية فإن سلبيات الغرام تحتاج لإنتاج كميات قليلة من الأنزيمات لتمنع وصول صادات البيتالاكتام إلى مواقعها الهدف(البروتينات الرابطة للبنسلينات PBP).

إن بعض B-لاكتاماز يتصف بفعالية أكبر تجاه البنسلينات ويدعى البنسليناز , وبعضها الآخر ذو فعالية أكبر تجاه السيفالوسبورينات ويدعى السيفالوسبوريناز, وحالياً تعتبر ال B-لاكتاماز واسعة الطيف ذات فعالية كبيرة ضد كل من البنسلينات و السيفالوسبورينات.

كذلك الأنزيمات المعدلة للأمينوغليكوزيدات تعتبر الآلية الأساسية لإكتساب المقاومة الجرثومية للأمينوغليكوزيدات في كل من إيجابيات و سلبيات الغرام.

الأصناف الثلاثة الكبرى لتلك الأنزيمات هي: acyetyltransferases,phosphotransferases and adenyltransferases كل واحدة منها تعمل على تعديل الأمينوغليكوزيدات عبر نقل المجموعة الكيميائية الخاصة فيها(acetyl,phosphoryl and adenyl group) إلى الجزء المحدد من السلسلة مما يؤدي إلى إنقاص ربط الصاد من قبل الريبوزومات الرابطة له [20].

ومن الأمثلة الأخرى على الأنزيمات المعدلة للصادات تم وصف chloramphenicol acetyltransferases [21].

2 – إنقاص دخول الصاد إلى الموقع الهدف:

إن وصول الصاد إلى الهدف في الخلية الجرثومية يلعب الدور الأساسي في الحساسية لذلك الصاد.

معظم الجراثيم سلبية الغرام تعتبر مقاومة لطيف واسع من الصادات وذلك بسبب سماكة الجدار الخلوي الذي يمنع دخول الصادات بسهولة بالمقابل هناك بعض الايجابيات مثل المكورات العقدية والمكورات المعوية تعتبر مقاومة للأمينوغليكوزيدات بسبب نقص نفوذية الجدار الخلوي لها [6].

-الآليات الرئيسية لنقص دخول الصاد داخل الخلية الجرثومية هي [16]:

1- إنقاص نفوذية الغشاء:

تعتبر آلية شائعة لمقاومة الصادات في العضيات سلبية الغرام حيث أن الغشاء الخلوي مكون من طبقة ليبيدية مضاعفة حيث اللبيدات الخارجية هي lipopolysaccharide(LPS) والداخلية هي phospholipids يندخل بينهما بروتينات ناقلة عبر الغشاء مثل ال porins ,وتتوزع على

سطحها ثقوب تشكل قنوات محبة للماء تنفذ عبرها الصادات المحبة للماء مثل الأمينوغليكوزيدات والبيتالاكتامات وبعض الكينولونات,في حين تعبر الصادات الكارهة للماء كالتتراسيكلين عبر الطبقة الشحمية الفوسفولبيدية.

إن تغيير كمية أو قوام أو وظائف ال porins و LPS يؤدي إلى إنقاص نفوذية الغشاء الجرثومي وبالتالي حدوث المقاومة الجرثومية.

2- ضخ الدواء خارج الخلية drug efflux :

تعتبر آلية هامة للمقاومة الجرثومية , أول ما وصفت بدراسة تأثير tetracycline على E.coli , منذ ذلك الوقت تم اكتشاف و دراسة عدد من العائلات التي تملك بشكل وراثي مضخات تطرح الصاد خارج الخلية الجرثومية.تم وصف وجود هذه المضخات فيما بعد في دراسة سبب المقاومة الجرثومية لكل من chloramphenicol و quinolones .

3- حصر أو حجز الصاد antibiotic – trapping or sequestration.

حيث يتم وضع مصيدة للصادات أو يتم تعريضها للتشظي في الجدار الخلوي.

3- التغيير في الجزيئات الهدف:

كما لاحظنا بأن الصادات تؤثر على الخلية الجرثومية من خلال أهداف معينة موجودة داخل الخلية. على الرغم من أن تلك الأهداف تعتبر مهمة من أجل عمل الخلية إلا أن هناك مجموعة من الطفرات غير المميتة التي قد تظهر في تلك المواقع مؤدية إلى ظهور المقاومة الجرثومية.

مثال عليها: إحداث تغيير في البروتين الرابط للبنسلين يحدث عنه مقاومة جرثومية لصادات البيتالاكتام [15] [16].

هناك ثلاثة آليات لهذا النمط من المقاومة وهي:

1- إنتاج هدف مقاوم للصاد: أي نقص ألفة الهدف للإرتباط بالصاد.

2- اصطناع طريق استقلابي مقاوم لا يتأثر بالصاد.

3- زيادة إنتاج هدف حساس للصاد.

- منشأ المقاومة الدوائية:

المنشأ غير الوراثي للمقاومة الجرثومية:

لكي يتم تأثير الصادات الحيوية لابد من وجود التناسخ الجرثومي(Replication), وبناءً على ذلك فإن العضيات التي لا تكون فعالة استقلابياً تكون مقاومة للصادات الحيوية رغم أن ذريتها حساسة لها,مثال على ذلك: ما يحدث للعضيات الحساسة للبنسلين إذ يمكن أن تفقد الهدف النوعي لها لعدة أجيال خلال العلاج حيث تتبدل لشكل آخر فاقدة الجدار الخلوي(الشكل L)وتصبح عندها مقاومة للصادات التي تؤثر على الجدار الخلوي كالبنسلينات و السيفالوسبورينات, ولكن وبعد عدة أجيال تصبح حساسة ثانيةً عندما تعود إلى الأشكال الجرثومية السابقة.

هذا وقد تخمج العضويات الدقيقة المضيف لها في عدة مواقع وتأخذ توضعات تكون المضادات الحيوية غير قابلة للوصول إليها, مثل السالمونيلا حيث لا تعطى الأمينوغليكوزيدات في الحمى المعوية كونها لا تصل لداخل الخلايا [20] [21].

المنشأ المورثي للمقاومة الجرثومية:

تعتبر الأسس المورثية ذات علاقة وثيقة بالآلية الكيماوية الحيوية للمقاومة الجرثومية وهي مهمة في تحديد سرعة ظهور المقاومة الجرثومية تجاه الصاد في مجموعة جرثومية معينة.

تضم الآلية المورثية للمقاومة الجرثومية [20]:

1-المقاومة الصبغية (Chromosome- mediated Resistance):

تحدث بسبب تطور طفرات عفوية في الصبغيات بشكل متكرر في مواقع تؤثر على حساسية الصاد المعطى.

يختلف تواتر حدوث تلك الطفرات حسب الأنواع الجرثومية وحسب الصادات فمثلاً تظهر تلك الطفرات بشكل أوضح في المقاومة لRifampin أكثر من غيرها من الصادات, لذلك تعتبر المعالجة الدوائية الوحيدة بالريفامبين فاشلة في معظم الأحيان.

في بعض الحالات السريرية مثل ذات الرئة ب Pseudomonas في الداء الكيسي الليفي أو التدرن مثلاً يكون هناك عدد كبير من الجراثيم في مكان الإنتان مما يؤدي لزيادة احتمال حدوث تلك الطفرات, لذلك يتم في مثل هذه الحالات مشاركة أكثر من صاد في العلاج حيث تبلغ نسبة حدوث الطفرات في وقت واحد لكلا الصادين قليل جداً .

إن الآليات الدقيقة للمقاومة للصادات مثل إنقاص نفوذية الغشاء أو التغيير في الهدف غالباً ما تترافق مع مقاومة متواسطة بالصبغي.

2- Inducible chromosomal Resistance

قد تنتج المقاومة الجرثومية من إنتاج أو إعادة تنظيم في تعبير مقاومة محددة كامنة, مثال عليها: إنتاج خميرة البيتالاكتاماز الصبغية من قبل Pseudomonas.

إن المقاومة الجرثومية المتواسطة بالنفوذية لعدد واسع من الصادات قد ينتج أيضا" من آليات المقاومة المحرضة.

3- المقاومة خارج الصبغية(Plasmid- mediated Resistance)

تعتبر محددات المقاومة الجرثومية المرمزة على البلاسميدات الأساس الوراثي الأكثر شيوعاً للمقاومة.

إن هذا الجزء الصغير من DNA ذاتي التنسخ يسمح بتبادل المعلومات الوراثية ونقل مورثات المقاومة ضمن السلالات الجرثومية وبين الأجناس الجرثومية, وأكثر ما تحدث هذه المقاومة في الجراثيم سلبية الغرام.إن تواتر اقتران وانتقال البلاسميدات يصل حتى 10^{5} لذلك فإن إمكانية اكتساب محددات طفرات جديدة أكثر سهولة من الطفرات الصبغية.

أحياناً هناك عدد من الموثات القافزة(transposones) تكون متجمعة على نفس البلاسميد مؤدية الى انتقال محددات مقاومة جرثومية متعددة من خلال اقتران واحد.

أكثر ما يصف المقاومة الجرثومية المتواسطة بالبلاسميد هو إنتاج الأنزيمات المعطلة للصادات التي تكون مرمزة بالبلاسميدات مثل chloramphenicol acetyltransferase و aminoglycoside altering enzymes ومعظم ال B-lactamases.[17]

-المقاومة المكتسبة لAcintobacter للصادات المختلفة:

مقاومة ال Aminoglycosides :

ناتجة عن وجود جين يرمز للأنزيمات المعدلة للأمينوغليكوزيدات في الأسينتوباكتر المقاومة للصادات مثل acetyltransferases, nucleotidyltransferases and phosphotransferases

تكون موجودة على بلاسميدات قابلة للنقل.

من الآليات الأخرى المقترحة للمقاومة : تعديل بروتينات الريبوزومات الهدف , إضعاف آلية نقل الأمينوغليكوزيد الى داخل الخلية الجرثومية أو تدفق مجموعة وسائط لإزالة الأمينوغليكوزيد من الخلية [15].

- مقاومة ال quinolones :

يعتبر تبديل بنية ال DNA gyrase أو topoisomerase من خلال طفرات في المنطقة المحددة لمقاومة الكينولونات هي الآلية الرئيسية في المقاومة.

هذه التغييرات تؤدي إلى ضعف ألفة الكينولونات للإرتباط بمعقد

DNA-enzyme

من الآليات الأخرى في المقاومة أيضا" : تدفق وسائط كيماوية تمنع تجمع الصاد داخل الخلية الجرثومية [14][15].

- مقاومة ال polymyxin

إن كل من بوليميكسين B و بوليميكسين E (كوليستين) عبارة عن صادات ببتيدية تم استخدامها مؤخرا بشكل واسع في علاج MDR . Acinetobacter

لكن لسوء الحظ فان تطور مقاومة جرثومية تجاهه يعتبر علامة سوء إنذار.

تبقى آلية المقاومة غير محددة حتى الآن[14][18][19] .

إجراءات الوقاية لمنع تطور السلالات الجرثومية المقاومة:

1- عدم الإفراط في استخدام الصادات بشكل عشوائي وإنما استخدامها عند الحاجة إليها و لمدة كافية .

2- التركيز على اختيار الصاد الأفضل و الأمثل(حسب التحسس) و القادر على الوصول إلى موقع الإنتان وتحقيق تراكيز علاجية كافية.

3- عند استخدام الصادات بالمشاركة يجب الحرص على ألّا يكون بينها مقاومة متصالبة (أي لا يقاوم الجرثوم الصادين بنفس الآلية).

4- السيطرة على الإنتانات في المجتمع وفي المشافي بهدف إنقاص انتشار الإنتان من خلال غسل الأيدي الجيد ضمن الطاقم الطبي في المشفى ومنع تكرر استخدام الأدوات التي تستوطن بها الجراثيم.

5- البحث عن الآليات الأساسية للمقاومة الجرثومية لاكتشاف كيفية حدوث تلك المقاومة وكيف تتم الوقاية منها.

القسم العملي

- أهداف الدراسة:

1- دراسة مدى انتشار إنتانات الأسينتوباكتر في مشفى الأطفال.

2- تحديد أهم عوامل الخطورة المؤهبة للإصابة بتلك الإنتانات بهدف تفاديها والحد منها.

3-إظهار أهم أسباب الوفيات لدى المرضى الذين ثبت لديهم إنتان بالأسينتوباكتر.

4- دراسة حساسية الأسينتوباكتر للصادات الحيوية بهدف اختيار الصاد الأكثر فعالية في علاجها.

5- مقارنة النتائج مع دراسة أ.د. هالة ونوس عام 2003 في مشفى الأطفال الجامعي في دمشق.

- مكان و زمن الدراسة:

أجريت دراسة حشدية راجعة في مشفى الأطفال الجامعي في دمشق, وشملت الدراسة جميع الأطفال المقبولين في أقسام وشعب المشفى في عام 2015(باستثناء شعب الإسعاف والإقامة المؤقتة والعيادات), والذين كان لديهم عينات زرع إيجابي للأسينتوباكتر مثبتة بالزرع الجرثومي .

- مجموعة الدراسة:

الأطفال المقبولين في المشفى من مختلف الفئات العمرية الذين لديهم زرع إيجابي للأسينتوباكتر من عينات سوائل الجسم المختلفة(دم, بول, سائل دماغي شوكي, حبن , جنب , حرق ..... وغيرها) وذلك من كافة شعب المشفى عدا الإسعاف والعيادات والإقامة المؤقتة (لعدم وجود عينات فيها).

- طريقة إجراء الدراسة:

تم استخراج أضابير الأطفال المقبولين الذين كانت لديهم زروعات إيجابية للأسينتوباكتر من مفرزات وسوائل الجسم المختلفة مع نتائج التحسس في عام 2015 , حيث تمَت الدراسة على 200 عينة من أصل 250عينة وذلك بعد أن تمَ استبعاد العينات التالية:

1- العينات إيجابية الزرع للأسينتوباكتر والتي لم ترفق معها ورقة تحسس ضمن الإضبارة.

2- العينات التي كانت نتائج الزرع فيها أكثر من نوع جرثومي ومن ضمنها الأسينتوباكتر.

3- العينات المتكررة المزروعة لنفس الشخص ومن نفس المصدر لأكثر من مرة والتي كانت نتائج زروعاتها المتعددة أسينتوباكتر.

4- العينات التي لم يكتب فيها رقم الإضبارة ضمن أرشيف المخبر.

طريقة تحديد المقاومة الدوائية:

تم تحديد التحسس على الصادات الحيوية في دراستنا في مشفى الأطفال من خلال طريقة الإنتشار عبر القرص (يدويا") بالإعتماد على معايرة التركيز الأدنى من المضاد الحيوي القادر على تثبيط النمو الجرثومي mic وتكون النتيجة إما مقاوم أو مقاومة متوسطة أو حساس , وقد تم شرح هذه الطريقة بالقسم النظري من الدراسة بشكل مفصل.

بعد ذلك تم ترتيب المعطيات التي ظهرت لدينا ووضع النتائج وتحليلها ومقارنتها مع دراسة أ.د. هالة ونوس التي أجريت عام 2003 على 343 عينة إيجابية الزرع للأسينتوباكتر,ومن ثم التوصل إلى النتائج والتوصيات اللازمة.

- النتائج:

توزع العينات حسب العمر:

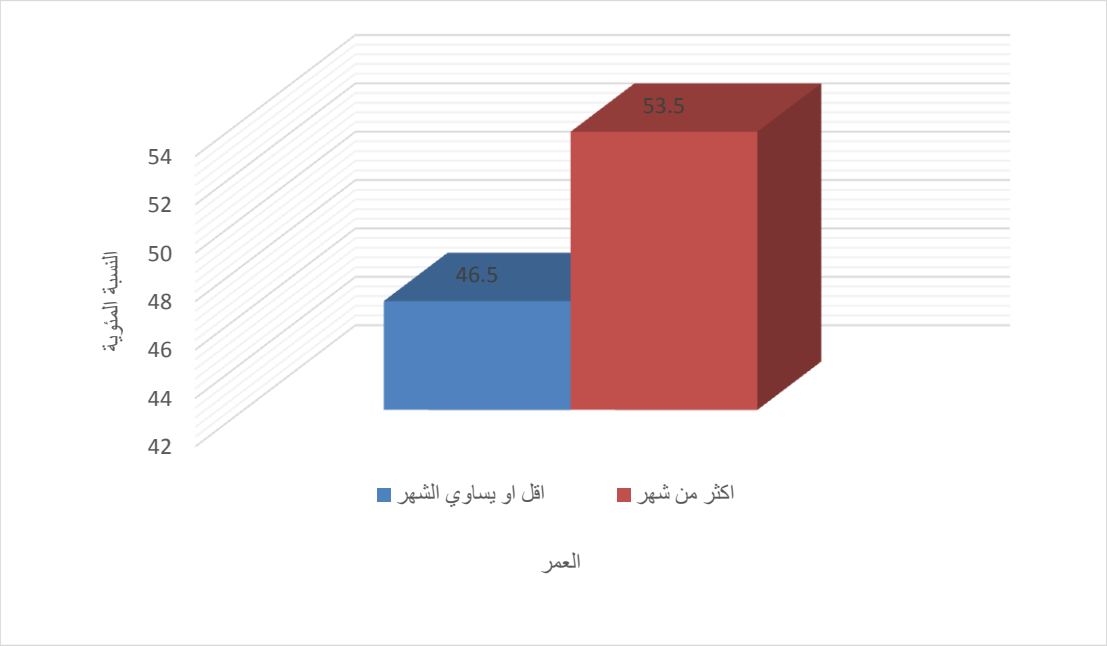
تم تقسيم التوزع إلى فئتين عمريتين:

الأولى بعمر شهر أو أقل , والثانية بعمر أكبر من شهر.

فكان التوزع حسب الجدول التالي :

الجدول (1): توزع العينات حسب العمر

العمر	عدد المرضى	النسبة المئوية
أقل من أو يساوي شهر	93	46,5
أكثر من شهر	107	53,5
المجموع	200	100



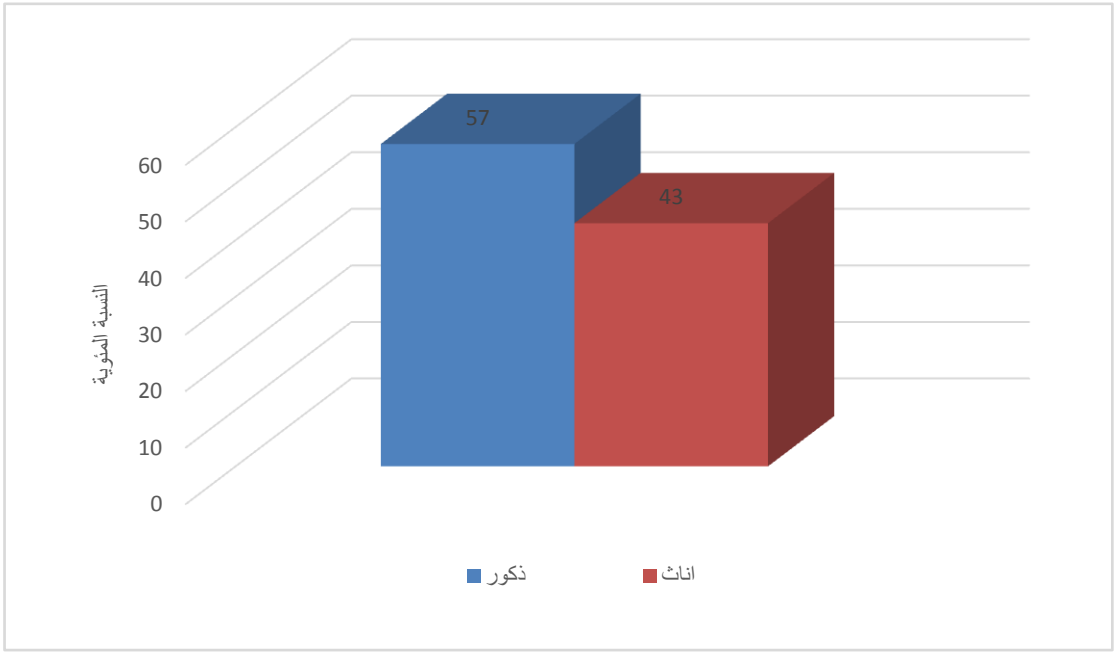
المخطط (1): توزع العينات حسب العمر

توزع العينات حسب الجنس:

تمت دراسة توزع العينات حسب الجنس فكانت النتائج على الشكل التالي:

الجدول(2): توزع العينات حسب الجنس

الجنس	عدد المرضى	النسبة المئوية
ذكور	114	57
إناث	86	43
المجموع	200	100



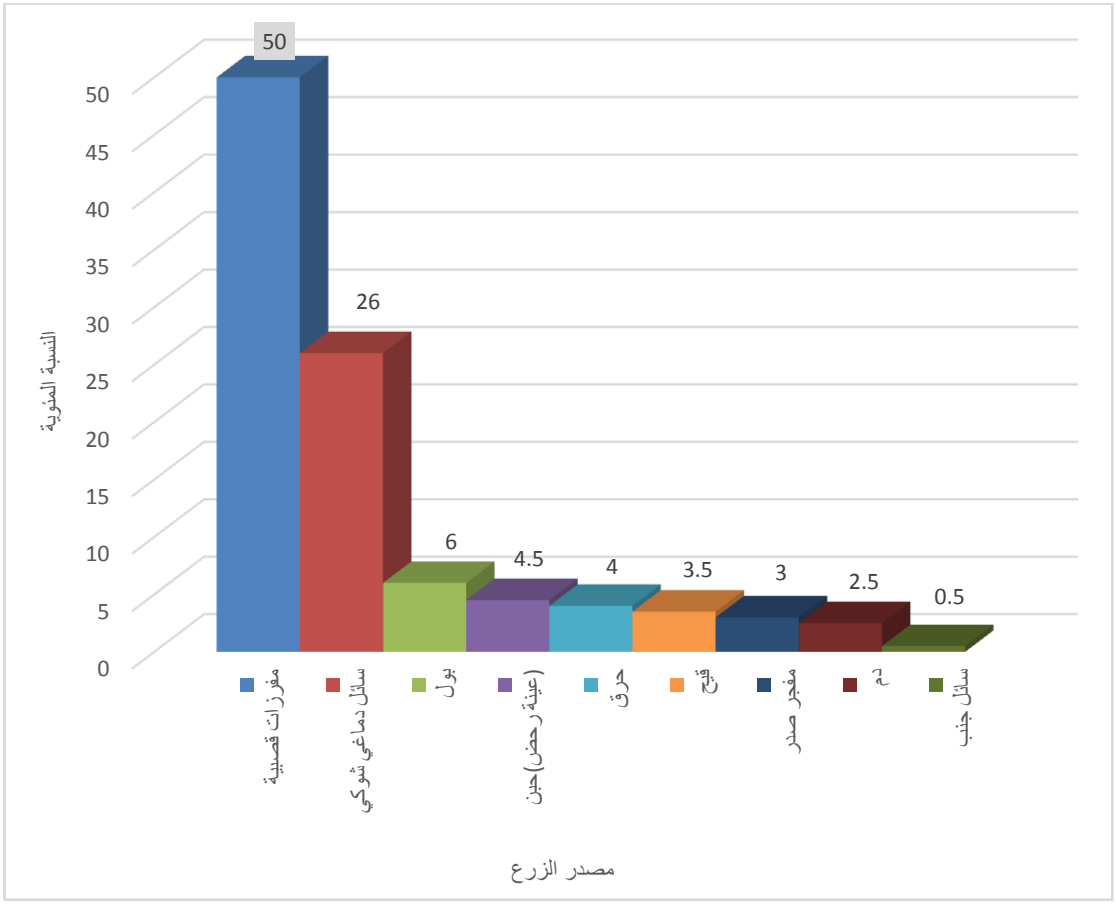
المخطط (2): توزع العينات حسب الجنس

توزع العينات حسب مصدر الزرع:

بدراسة توزع عينات الإنتان حسب مصدر الزرع كانت النتائج على الشكل التالي:

الجدول (3): توزع العينات حسب مصدر الزرع

مصدر الزرع	عدد المرضى	النسبة المئوية
مفرزات قصبية	100	50
سائل دماغي شوكي	52	26
بول	12	6
حبن (عينة رحض)	9	4,5
حرق	8	4
قيح	7	3,5
مفجر صدر	6	3
دم	5	2,5
سائل جنب	1	0,5
المجموع	200	100



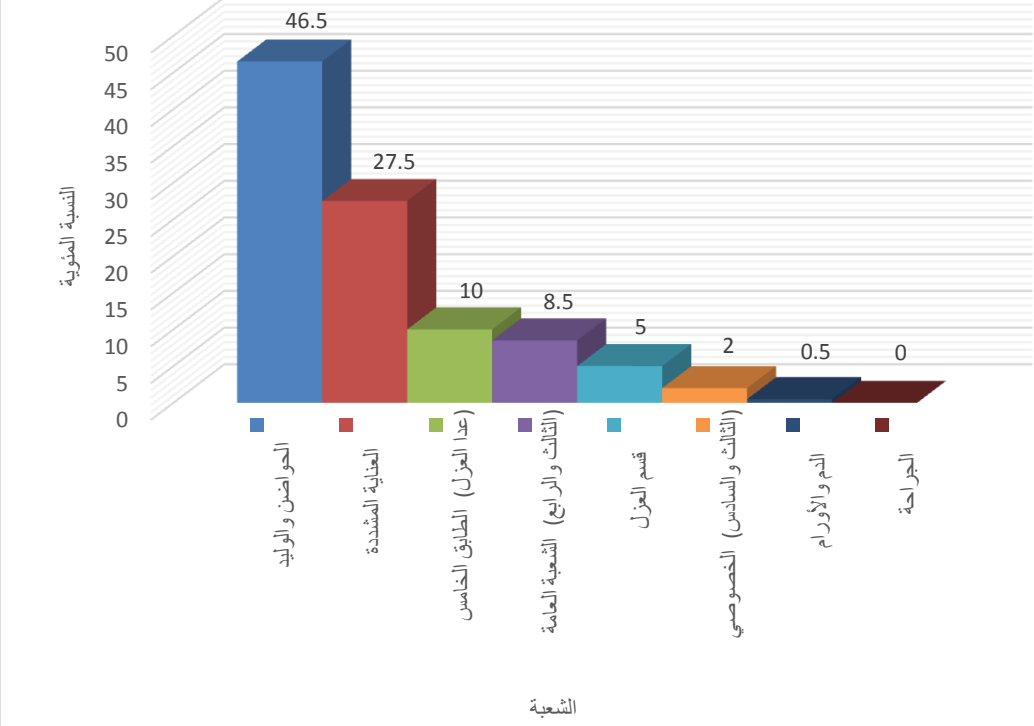
المخطط(3): توزع العينات حسب مصدر الزرع

توزع العينات حسب شعب وأقسام المشفى:

تمت دراسة توزع المرضى الذين لديهم زرع إيجابي للأسينتوباكتر مهما كان مصدر الانتان حسب شعب المشفى وكانت النتائج على الشكل التالي:

الجدول(4): توزع العينات حسب شعب و أقسام المشفى

الشعبة	عدد المرضى	النسبة المئوية
الحواضن والوليد	93	46,5
العناية المشددة	55	27,5
الطابق الخامس (عدا العزل)	20	10
الشعبة العامة (الثالث والرابع)	17	8,5
قسم العزل	10	5
الخصوصي(الثالث والسادس)	4	2
الدم والأورام	1	0,5
الجراحة	0	0
المجموع	200	100



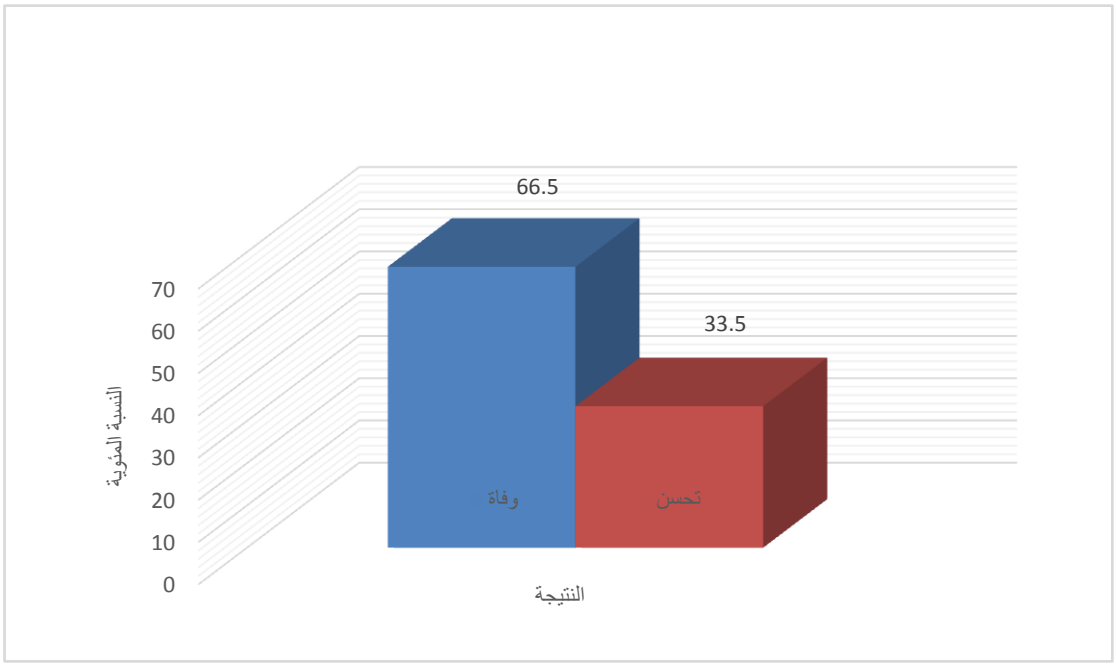
المخطط (4): توزع العينات حسب شعب و أقسام المشفى

توزع العينات حسب نتائج الإصابة:

درس توزع العينات حسب نتائج الإصابة بالإنتان بالأسينتوباكتر فكانت النتائج على الشكل التالي:

الجدول (5): توزع العينات حسب نتائج الإصابة

النتيجة	عدد المرضى	النسبة المئوية
تحسن	67	33,5
وفاة	133	66,5
المجموع	200	100



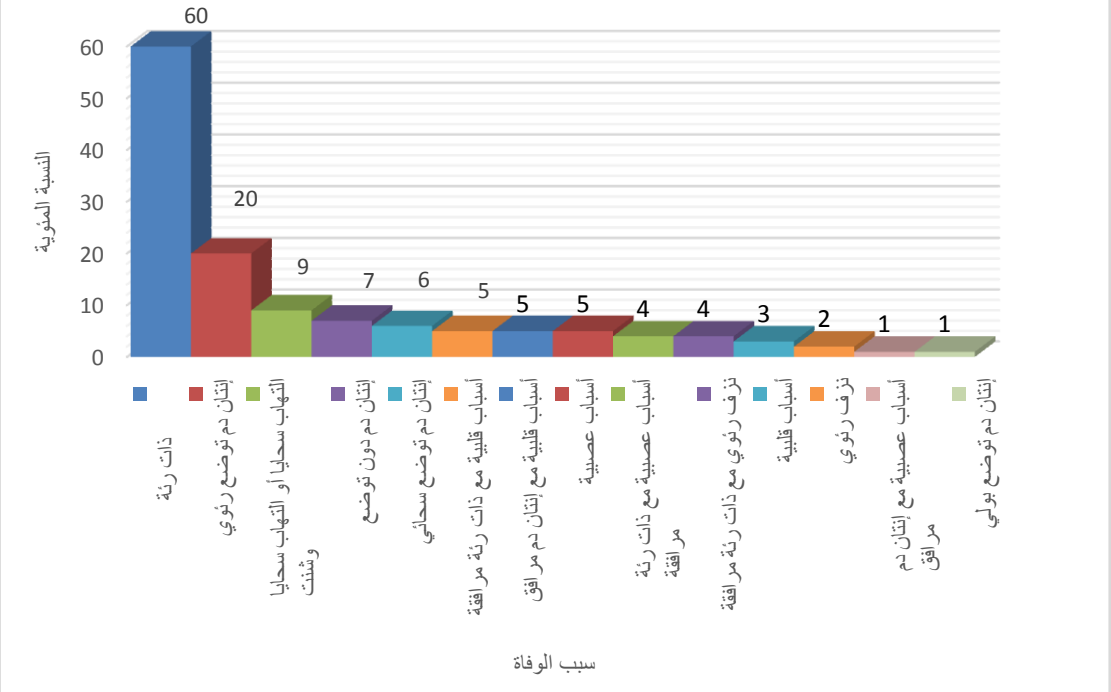
المخطط (5): توزع العينات حسب نتائج الإصابة

توزع العينات حسب أسباب الوفاة:

تمَت دراسة أسباب الوفاة لدى الأطفال المخموجين فكانت على الشكل التالي:

الجدول (6): توزع العينات حسب أسباب الوفاة

سبب الوفاة	عدد المرضى	النسبة المئوية
ذات رئة	60	45
إنتان دم توضع رئوي	20	15
التهاب سحايا أوالتهاب سحايا وشنت	9	6,3
إنتان دم دون توضع	7	5,3
إنتان دم توضع سحائي	6	4,5
أسباب قلبية مع ذات رئة مرافقة	5	3,7
أسباب قلبية مع إنتان دم مرافق	5	3,7
أسباب عصبية فقط	5	3,7
أسباب عصبية مع ذات رئة مرافقة	4	3,5
نزف رئوي مع ذات رئة مرافقة	4	3,5
أسباب قلبية فقط	3	2,2
نزف رئوي فقط	2	1,5
نزف رئوي مع إنتان دم مرافق	1	0,7
أسباب عصبية مع إنتان دم مرافق	1	0,7
إنتان دم توضع بولي	1	0,7
المجموع	133	100



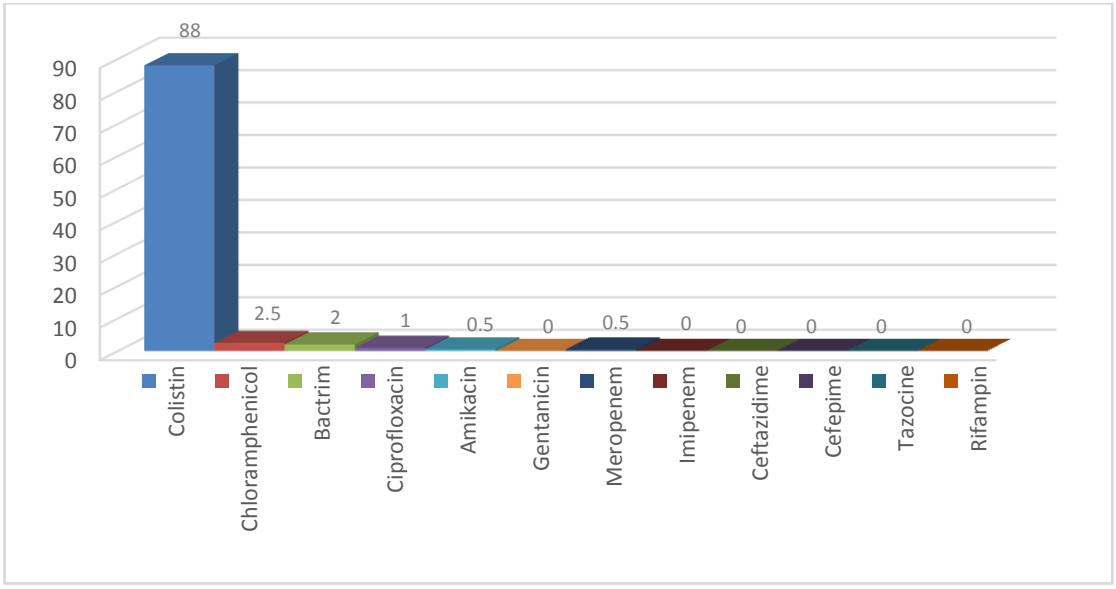
المخطط (6): توزع العينات حسب أسباب الوفاة

توزع العينات حسب نتائج التحسس على الصادات:

تمت دراسة مدى تحسس الأسينتوباكتر على خمسة عشر صاد حيوي وكانت النتائج على الشكل التالي:

الجدول (7): توزع العينات حسب نتائج التحسس على الصادات

اسم الصاد		S		I		R		
	عدد الحالات المجرى عليها التحسس	عدد العينات	النسبة المئوية	عدد العينات	النسبة المئوية	عدد العينات	النسبة المئوية	عدد حالات التحسس
Colistin	170	150	88,2	0		20	11,8	150
Chloramphenicol	200	5	2,5	0		195	97,5	5
Bactrim	200	4	2	0		196	98	4
Ciprofloxacin	200	0		2	1	198	99	2
Amikacin	200	1	0,5	0		199	99,5	1
Gentanicin	200	0		0		200	100	0
Meropenem	200	0		1	0,5	199	99,5	1
Imipenem	200	0		0		200	100	0
Ceftazidime	200	0		0		200	100	0
Cefepime	200	0		0		200	100	0
Tazocine	200	0		0		200	100	0
Rifampin	180	0		0		180	100	0
Sulbactam	200	0		0		200	100	0
Cefotaxime	200	0		0		200	100	0
Ceftriaxone	200	0		0		200	100	0



المخطط (7) : توزع العينات حسب نتائج التحسس على الصادات

ـ دراسة علاقة الأسينتوباكتر متعددة المقاومة للصادات مع عوامل الخطورة المختلفة:

نورد فيما يلي جدولا" لدراسة علاقة الأسينتوباكتر متعددة المقاومة الجرثومية للصادات مع عوامل الخطورة من حيث الجنس والعمر ووجود الإجراءات الغازية (تنبيب أنفي رغامي, قثطرة وريدية, قثطرة بولية, قثطرة تحال بريتواني ..... وغيرها)

حيث استخدمنا الإختبار الإحصائي كاي مربع لاستخراج قيمة P:

الجدول (8) :علاقة الأسينتوباكتر متعددة المقاومة للصادات مع العمر والجنس و عوامل الخطورة

	حساسة للكوليستين	مقاومة للكوليستين	قيمة P-value
الجنس			0,342
ذكور	103	11	
إناث	77	9	
العمر			0,275
أقل من شهر	86	7	
أكثر من شهر	94	13	
إجراءات غازية			0,01
نعم	154	16	
لا	26	4	

الحكم الإحصائي:

كلما كانت قيمة P-Value أصغر من 0,05 كان هناك علاقة ارتباط (أي أن العلاقة ليست بمحض الصدفة) ,أما إذا كانت أكبر من ذلك فلا يوجد ارتباط.

وبناء" على ذلك يمكن القول بأنه لدينا علاقة ارتباط بين مقاومة الأسينتوباكتر للكوليستين و التعرض لإجراءات غازية كعامل خطورة مرافق.

-المناقشة و المقارنة:

بإلقاء نظرة سريعة على عدد عينات الأسينتوباكتر المعزولة في مشفى الأطفال الجامعي عام 2015 والذي بلغ 200 عينة خلال العام , نلاحظ مدى خطورة تلك الجراثيم و أنها جراثيم مشفوية انتهازية وقد أظهرت مقاومة عالية على الكثير من الصادات الحيوية , بالإضافة الى أن الإنتان بهذه الجراثيم يزداد من عام إلى آخر, إذ أصبحت جراثيم الأسينتوباكتر من أخطر الجراثيم المنتشرة في المشافي والتي تفاقم الوضع السريري السيئ للمريض.

تمت مقارنة دراستنا مع دراسة أ.د.هالة ونوس التي أجريت في مشفى الأطفال الجامعي في دمشق بين عامي 2000-2001بعنوان:

(الأسينتوباكتر , أخماجها ومقاومتها على الصادات) بإشراف أ.د. مجيب ملحم, والتي اشتملت على343 عينة إيجابية الزرع للأسينتوباكتر بالمقارنة مع 200 عينة في دراستنا في عام واحد فقط (عام 2015).

- لاحظنا في دراستنا أن الأسينتوباكتر جراثيم إنتهازية سلبية الغرام لذلك فهناك استعداد خاص لدى الخدج و حديثي الولادة للإصابة بها بسبب العوز المناعي الفيزيولوجي لديهم, حيث أظهرت دراستنا أن نسبة إنتانات الأسينتوباكتر لدى الولدان والخدج بعمر أقل أو يساوي شهر 46,5%وهي نسبة هامة عند الأخذ بعين الاعتبار الفترة الزمنية القصيرة من العمر(أي شهر واحد) , بالمقارنة مع نسبة 53,5% لدى بقية الأعمار (أكثر من شهر وحتى 14 سنة) وهذا ما يتوافق مع دراسة أ.د. هالة ونوس حيث بلغت نسبة إصابة الأطفال أكثر من عمر الشهر في تلك الدراسة 62,4% بالمقارنة مع37,6% أقل أو يساوي عمر الشهر.

- ومن خلال دراستنا لتوزع إنتانات الأسينتوباكتر حسب الجنس لاحظنا أن نسبة إصابة الذكور أعلى وذلك بنسبة 57% مقابل 43% لإصابة الإناث ,وهذا ما يتوافق مع دراسة أ.د. هالة ونوس حيث بلغت نسبة إصابة الذكور في تلك الدراسة 63% أما الإناث 37%,علماً أنَه لا يوجد أي مرجع علمي يشير إلى رجحان إصابة الأسينتوباكتر لدى الذكور.

- وعندما تمت دراسة توزع عينات الزرع إيجابية الأسينتوباكتر حسب مصدر الزرع , وجدنا أن المفرزات القصبية (عبر التنبيب الرغامي) كانت مصدر الزرع الأكثر شيوعاً للإنتان وذلك بنسبة 50% من الحالات مما يدل على أهمية وجود الأنبوب الرغامي كعامل خطر للإصابة بالأسينتوباكتر في وحدة العناية المشددة, هذا ويعتبر إجراء زرع المفرزات القصبية أشيع من إجراء غيرها من الزروعات في مشفى الأطفال خاصة في قسم العناية المشددة و الحواضن والوليد, وقد يكون لذلك دور في ارتفاع تلك النسبة.

يأتي بالمرتبة الثانية زرع السائل الدماغي الشوكي بنسبة 26% من الحالات, وقد كانت تلك الحالات إمَا ناتجة عن إجراء البزل عبر الشنت الدماغي البرتواني (أي بعد التداخلات الجراحية العصبية) بنسبة 57,7% أو إجراء البزل عبر القيلات بنسبة 36,5% أو من خلال إجراء البزل القطني مباشرة وذلك بنسبة 5,7% , وهذا ما يدل على أهمية التداخل الجراحي العصبي(مثل تركيب الشنت ضمن البطينات) كعامل خطورة مؤهب للإصابة بالإنتان.

يليها بالدرجة الثالثة كمصدر للإنتان زرع البول بنسبة 6% من الحالات وكانت معظم تلك الإنتانات مكتسبة عبر وجود قثطرة بولية بنسبة 83,3% , بينما بلغت نسبة الإنتان البولي بالأسينتوباكتر المكتسب دون وجود قثطرة بولية حوالي16,6% ,مما يدل على أهمية وجود جسم أجنبي كالقثطرة البولية كعامل خطر للإصابة بالإنتان بالأسينتوباكتر.

يليها زرع عينة الحبن بنسبة 4,5% من الحالات وكانت جميع تلك الحالات عبر وجود قثطرة رحض بريتواني(جسم أجنبي) كعامل مؤهب.

يليها من حيث النسب وجود حرق و زرع عينات النز القيحي من الحرق بنسبة 4% من الحالات وذلك بعد أن تم استبعاد الحالات التي كانت نتائج زروعاتها أكثر من نوع جرثومي ومن ضمنها الأسينتوباكتر.

إنَ عينات القيح المأخوذة من قرحة في الجسم(كالقرحة الإضطجاعية أو بعد حوادث السير و الرضوض و غيرها...) أو عينات القيح من سوائل الجسم المختلفة (كالمأخوذة من البطن و غيرها...) تشكل نسبة 3,5% من الحالات, كما أنَ وجود مفجر صدر (انصباب جنب أو ريح صدرية) لفترة أكثر من أسبوع كما هي العينات المدروسة يعتبر عامل خطر هام إذ وصلت نسبة زرع رأس مفجر الصدر حتى 3% من الحالات.

أما زرع الدم إيجابي الأسينتوباكتر وصل حتى 2,5% من الحالات وكانت جميع تلك الحالات مع وجود قثطرة وريدية لفترة أكثر من أسبوعين وتسريب سوائل وريدية.

كانت ضمن الدراسة عينة واحدة بنسبة 0,5% من الحالات لزرع عينة بزل انصباب جنب بسبب ذات رئة وكانت نتيجة الزرع أنه إيجابي الأسينتوباكتر.

أمَا بمقارنة النتائج مع نتائج دراسة أ.د. هالة ونوس نلاحظ بعض الاختلافات إذ بلغت زروعات الدم أعلى نسبة إصابة في تلك الدراسة 45% يليها زرع القيح بنسبة 14% ثم زرع السائل الدماغي الشوكي بنسبة 12,9% يليها زرع البول بنسبة 11,2% ثم زرع المفرزات القصبية بنسبة 5,4% ثم زرع عينات من التقرحات والحروق بنسبة 2,7% يليها زرع رأس المفجر بنسبة 1% وأخيرا" زرع سائل الجنب بنسبة 0,2%

وبتوزيع المرضى الذين لديهم إنتان بالأسينتوباكتر على شعب المشفى بعد استبعاد قسم العيادات والإسعاف والإقامة المؤقتة في دراستنا فقد حصلنا على أعلى نسبة في شعبة الحواضن والوليد 46,5%وهذا مفسر سابقاً باستعداد الولدان للخمج والإصابة بسبب العوز المناعي الفيزيولوجي أولاً بالإضافة إلى إمكانية اكتساب الإنتان من الأم أثناء الولادة ثانياً أو حتى إمكانية اكتساب الإنتان في المشفى بسبب الإجراءات ضمن المشفى التي يتعرض لها الولدان بكثرة في تلك الشعبة مثل :(قثطرة وريدية , قثطرة سرية , قثطرة بولية , تبديل دم)

أما في المرتبة الثانية تأتي شعبة العناية المشددة بنسبة 27,5% من الحالات حيث أنه من المعروف أن جراثيم الأسينتوباكتر هي جراثيم مشفوية انتهازية تتواجد في بيئة المشافي بشكل شائع خاصة في الأوساط الرطبة , أجهزة التنفس الاصطناعي , القثاطر , وانتقالها عبر الأدوات الطبية وأيدي الطاقم الطبي.... وهذا ما يلاحظ في وحدة العناية المشددة.

بالمرتبة الثالثة يأتي الطابق الخامس بنسبة 10% حيث يكثر وجود الأطفال مع قيلات قطنية أو مجرى لهم شنت دماغي برتواني, يليها الشعبة العامة بنسبة 8,5% حيث يقبل معظم مرضى القصور الكلوي المجرى لهم قثاطر بولية أو رحض بريتواني , يليه قسم العزل والحروق بنسبة 5% واخيرا" قسم الخصوصي بنسبة 2% وقسم الدم و الاورام بنسبة 0,5% أما الجراحة فلم يتم الحصول على أي عينات موثقة في الاضبارة.

وبإجراء المقارنة مع دراسة أ.د. هالة ونوس نلاحظ أن قسم الحواضن والوليد احتل المرتبة الأولى(كما في دراستنا) ولكن بنسبة أقل 37,6% تلاها قسم الإسعاف بنسبة 14,5% ثم الطابق الخامس(دون العزل) بنسبة 12,8%, يليها الشعبة العامة (الطابق الثالث والرابع) بنسبة 19,7% من الحالات , ثم قسم العناية المشددة إذ بلغت نسبة الزروعات الإيجابية 6,7% يليها قسم الدم والأورام بنسبة 3,6%

وبعدها قسم الجراحة بنسبة 2,3% ثم الخصوصي(الثالث والسادس) بنسبة 2% , و أخيرا" قسم العزل بنسبة 0,8% من الحالات.

نلاحظ من خلال دراستنا مدى خطورة إنتانات الأسينتوباكتر مهما كان توضعها في مرضى المشافى إذ بلغت نسبة الوفاة لدى أولئك المرضى 66,5% مقابل33,5% تحسن و تخريج من المشفى, مما يشير إلى أهمية تحديد العامل الممرض المسبب للخمج في أبكر وقت ممكن, وتحديد الصاد المناسب في العلاج بناءً على نتائج الزرع والتحسس.

و باستخراج أضابير المتوفين و دراسة أسباب الوفاة كان أبرز سبب للوفاة هو ذات الرئة بالأسينتوباكتر بنسبة 45% من الحالات يليها إنتان الدم مع توضع رئوي بنسبة 15% من الحالات , ثم التهاب السحايا أو التهاب سحايا وشنت بنسبة 6,3% ,يليها إنتان دم دون توضع بنسبة 5,3% من الحالات ,ثمَ إنتان دم مع توضع سحائي بنسبة 4,5% من الحالات.

أما الأسباب القلبية (مثل: فرط التوتر الرئوي, اعتلال العضلة القلبية , آفات القلب الخلقية وغيرها....) بالمشاركة مع وجود ذات رئة بالأسينتوباكتر مرافقة كانت مسؤولة عن 3,7% من الوفيات ,و كذلك المشاركة بين وجود آفة قلبية و إنتان الدم بالأسينتوباكتر كان مسؤولاً عن 3,7% من الوفيات.

كما شكلت الأسباب العصبية (مثل: التهاب الدماغ, ADEM, اعتلال الدماغ بفرط الضغط, وجود ورم دماغي , غيلان باريه ..... وغيرها فيما عدا التهاب السحايا) نسبة 3,7% من الوفيات.

أما المشاركة بين وجود أمراض عصبية مع ذات رئة بالأسينتوباكترمرافقة أو المشاركة بين وجود نزف رئوي مع ذات رئة مرافقة فقد كان كل واحد منها مسؤولاً عن 3,5% من الوفيات.

شكّلت الأسباب القلبية لوحدها نسبة 2,2% من الوفيات , أمَا النزف الرئوي لوحده كان مسؤولاً عن 1,5% من الأسباب.

وأخيراً تبيَن من خلال دراستنا أن وجود المشاركة بين إنتان الدم بالأسينتوباكتر و النزف الرئوي ,أو إنتان الدم مع الأسباب العصبية تسبَب بوفاة 0,7% من الأطفال المدروسين لكل واحد منها, وكذلك الأمر في حال وجود إنتان دم مع توضع بولي فقد شكل 0,7% من الحالات.

وبمقارنة أسباب الوفاة في دراستنا مع الأسباب في دراسة أ.د. هالة ونوس نلاحظ اختلاف النتائج قليلا" إذ كان السبب الأول للوفاة في تلك الدراسة هو إنتان الدم بنسبة 30,5% يليها التهاب السحايا بنسبة 13,8% من الحالات ثم آفات القلب الولادية بنسبة 12,5% ثم القصور الكلوي والنزف الرئوي بنسب 6,9% و 5,5% على التوالي يليها الأسباب الأخرى(كالأسباب العصبية و الاستقلابية والتشوهات والخباثات....)

-إنَ الأسينتوباكتر هي جراثيم مشفوية انتهازية وهي حالياً في زيادة مستمرة في مقاومتها للصادات وبالتالي صعوبة في علاجها و طول مدة الاستشفاء ومن خلال دراستنا لحساسية ومقاومة هذه الجراثيم للصادات في مشفى الأطفال تم تقسيم المضادات الحيوية المدروسة والتي أجري عليها اختبارات التحسس إلى أربع مجموعات

1) B-Lactames:
. Sulbactam
. Cephalosporins
. Carbapenem
. Tazocin
2) Aminoglycosides:
. Amikacin
.Gentamycine
3) Fluroquinolones:
. Ciprofloxacine
4) Polymyxin:
. Colistin

وبناءً على ذلك يمكن تصنيف المقاومة الجرثومية للمضادات الحيوية بشكل عام في ثلاث مجموعات حسب مبدأ التقسيم الأمريكي للمقاومة الجرثومية تجاه المضادات الحيوية:

1- مجموعة حساسة على كل المضادات الحيوية.

2- مجموعة مقاومة على واحد أو أكثر من المضادات الحيوية.

3- مجموعة ذات مقاومة متعددة تكون مقاومة على جميع المضادات الحيوية الموجودة في مجموعتين على الأقل من المجموعات المدروسة التي أجري عليها اختبارات التحسس.

حسب التقسيم السابق نلاحظ أن جراثيم الأسينتوباكتر في دراستنا تعتبر جراثيم ذات مقاومة متعددة(Multiresistance (MR على المضادات الحيوية .

ففي المجموعة الأولى كان هناك حالة وحدة فقط متحسسة على Meropenem وبشكل متوسط أي بنسبة 0,5% من الحالات , أي أن نسبة مقاومة الأسينتوباكتر للمجموعة الأولى من الصادات هي 99,5%

كذلك الأمر في المجموعة الثانية من الصادات حيث في دراستنا ظهرت حالة واحدة متحسسة على Amikacin أي بنسبة 0,5% وبالتالي نسبة المقاومة الجرثومية للمجموعة الثانية من الصادات هي 99,5%

أما في المجموعة الثالثة فقد كان هناك حالتي تحسس على Ciproflxacin بنسبة 1% من الحالات , أي نسبة المقاومة الجرثومية للمجموعة الثالثة هي 99%

أما المجموعة الرابعة فقد كانت نسبة التحسس لها هي الأعلى بين المجموعات إذ بلغت نسبة التحسس على ال Colistin نسبة 88,2% من مجمل الحالات المجرى التحسس عليها والتي بلغت 170 حالة.

هناك صادات أخرى تم إجراء اختبار التحسس عليها لم تصنف ضمن تلك المجموعات حيث وجد 5 حالات في دراستنا إيجابية التحسس على Chloramphenicol بنسبة 2,5%

وكذلك 4 حالات متحسسة على Bactrim

(trimethoprim+ sulfamethoxazole)بنسبة 2% من الحالات

كانت نسبة التحسس على Rifampin تساوي 0% (من أصل 180 عينة تم إجراء التحسس عليها).

ملاحظة:

من خلال دراستنا تبين أن هناك 20 حالة إيجابية الزرع للأسينتوباكتر كانت مقاومة لجميع المضادات الحيوية بما فيها Colistin أي بنسبة 10% من مجمل الحالات.

أما بإجراء المقارنة مع دراسة أ.د. هالة ونوس نلاحظ اختلاف بنتائج التحسس والمقاومة الجرثومية على الصادات المتنوعة حيث كان الإيميبينيم هو الصاد الأكثر فعالية على الأسينتوباكتر حيث بلغ نسبة التحسس عليه 85,3% يليه مباشرة السيبروفلوكساسين بنسبة 70% ثم بالمرتبة الثالثة الأميكاسين بنسبة 58,6% ثم السيفتازيديم بنسبة حساسية 48,2%

وبالنسبة لبقية السيفالوسبورينات جيل ثالث فكانت الأسينتوباكتر تمتلك مقاومة عالية عليها بسبب إستخدامها الواسع إذ بلغت في تلك الدراسة نسبة المقاومة على سيفوتاكسيم 47,5% بينما 100% في دراستنا

وكذلك سيفترياكسون بلغت نسبة المقاومة عليه 49% بينما 100% في دراستنا,أما باكتريم فقد كانت نسبة التحسس عليه في دراسة أ.د. هالة ونوس حوالي 37% بينما في دراستنا نسبة التحسس .

بعد إجراء الدراسة و المقارنة نلاحظ تزايد نسب المقاومة الجرثومية تجاه جميع الصادات (عدا الكوليستين) ولتلك الزيادة صلة وثيقة بزيادة تواتر استخدام هذه الصادات في معالجة الإنتانات البولية والمعوية وغيرها في الفترة الأخيرة وهذا ما أدى إلى زيادة التعنيد على هذه الصادات وبالتالي زيادة الحاجة لاستخدام colistin و بالتالي زيادة إمكانية تطور المقاومة تجاهه.

الخلاصة:

1- ارتفاع نسبة مقاومة الأسينتوباكتر لجميع الصادات المدروسة تقريبا" بالمقارنة مع دراسة أ.د.هالة ونوس عام 2003

وهي نسب هامة إذ تفوق ماهو موجود في الأدب الطبي المنشور في الخارج (حوالي 35%).

2- تزايد مقاومة الأسينتوباكتر لمركبات الكاربابينيم بشكل كبير بعد أن كانت من أكثر الصادات حساسية" لها.

3- يمكن استخدام الكوليستين في علاج إنتانات الأسينتوباكتر بسبب وجود نسب تحسس عالية عليها (90%) , كما يمكن اعتبار كلورأمفينيكول أو باكتريم من الخيارات الجيدة المتاحة بوجود المقاومة تجاه بقية المضادات الحيوية.

4- تلعب عوامل الخطورة دوراً هاماً في تطور المقاومة الدوائية عند عضويات الأسينتوباكتر, كالتثبط المناعي والتهوية الآلية وعدم الالتزام بالتعقيم الجيد واستخدام القثاطر الوريدية والبولية وقثاطر الرحض البريتواني بالإضافة إلى الإستخدام المديد و العشوائي للصادات الحيوية.

التوصيات:

- إمكانية السيطرة على مصادر الإنتان بالأسينتوباكتر في المشافي خاصة في قسم الخديج والوليد , وقسم العناية المشددة من خلال الالتزام بارتداء الغاونات والقفازات والتركيز على ضرورة تعقيم كل الأدوات الطبية والمعدات المستخدمة في المشفى.
- التقيد بالوسائل والإجراءات التي تساعد على ضبط انتشار الإنتانات المستوطنة في المشافي عن طريق غسيل الأيدي الجيد ضمن طاقم العمل الطبي ومنع تكرر استخدام الأدوات التي تستوطن بها تلك الجراثيم (كالقثاطر الوريدية أو البولية , أنابيب التنبيب الرغامي , السوائل الوريدية .....) مع التقيد بالعزل التام للمرضى المخموجين لمنع الإنتشار و التفشي.
- توعية الناس لعدم الإستخدام العشوائي للصادات والإستخدام الحكيم لها بوجود وصفة طبية للتخفيف قدر المستطاع من المقاومة الجرثومية.
- إيقاف استخدام بعض الصادات التي تظهر مقاومة شديدة عليها لبعض الوقت مثل الأمبيسللين و الريفامبسين و الجنتامايسين و السيفالوسبورينات ..... وغيرها ريثما تعود حساسية الجراثيم عليها , و استخدام الصادات المناسبة بالإعتماد على الزرع والتحسس.
- تأخير استخدام الكوليستسن للحالات المعندة على الصادات الأخرى في محاولة لإنقاص ظهور مقاومة عليه.
- الفهم الجيد والمتطور لآليات المقاومة الجرثومية بهدف اكتشاف كيفية انتشار الجراثيم وإمكانية الوقاية منها والتغلب عليها بأدوية جديدة.

المراجع:

1- Jonast. Johnson , Victor. Yu, Et AL: Infectious diseases and antimicrobial therapy ,1998 .p 555

2- Falagas ME, Rafailidis PI. Attributable mortality of Acinetobacter baumannii : no longer a controversial issue, Crit Care, 2007, vol. 11(3) p.134

3- Jones RN, Deshpande L, Fritsche TR, Sader HS. Determination of epidemic clonality among multidrug-resistant strains of Acinetobacter spp. And Pseudomonas aeruginosa in the MYSTIC Programme (USA, 1999-2003), Diagn Microbial Infect Dis, 2004, vol. 49 (3)(p. 211-216)

4- J.G.Collee, A.G.Fraser,B.P.Marmion, A. Simmons, Mackie&Mc Cartney: Practical Medical Microbiology: Fourteenth edition,1999, p294.

5- Betty A.Forbes, Daniel F, Alice S, Weissfeld. Diagnostic Microbiology; 80-260,1998.

6- Burns JL,MD: Mechanism of Bacteria Resistance: Pediatric Clinics of North America , Vol 24,No.3, June 1995 .p 497-507.

7- Ralph D. Feigin,MD, james D,Cherry,MD, M.S.C: Text book of pediatric infectious diseases:1998,Edition 4, Vol 1, p 1390,1391,1392,1393,2547,2548,2549,2550,2551, Acinetibacter: Armando G.Correa.

8- Baltimore RS,Duncan RL,Shapiro ED,et al. Epidemiology of pharyngeal colonization of infants with gram negative rod bacteria. J Clin Microbial 1990;27:91-5.

9- Chetchotisak P, Phelps Cl, Hartstein Al: Assessment of bacterial cross- transmissionas as a cause of infections in patients in intensive care units. Clin Infect Dis 18:929,1994

10- Sher Wood L. Gorbach, M.D,Matthew Falagas, MD, Msc: Minute Infectious diseases consult:2001, p 420.

11- American academy of pediatrics dedicated to the children.Red book.

12- Grauel EL, Halle E,Bollman R,et al. Neonatal septicemia: Incidence, etiology and outcome: a 6-year analysis. Acta Paediatr Scand 1989;360(suppl.):113-19.

13- Sader HS,Tosin I, Sejas L, Miranda E. Comparative evaluation of the in vitro activity of three combinations of beta-lactams with beta-lactams inhibitors: piperacillin/tazobactam, ticarcillin/clavulanic and ampicillin/sulbactam: Braz J Infect Dis 2000 Feb; 4(1):22-832- Sanyal SC, Mokaddas EM.

14- Harry L. Keyserling, MD, FAAP. Red book:2015 Report of the Committeeon Infectious Diseases,30th Edition p:874-876.

15- Gruson D,Hilbert G, Valentino R, Allergy A, Bebear C,Gbikpi-Benissan G, Cardinaud JP. Rotation and restricted use of antibiotics in a medical intensive care unit. Impact on the incidence of ventilator- associated pneumonia caused by antibiotic-resistant gram-negative bacteria Am J Rerpir Crit Care Med 2000 Sep;162(3 Pt):837-43.

16- Higgins CS, Murtough SM, Williamson E, Hiom SJ, Payne DJ,Walsh TR. Resistance to antibiotics and biocides among non-fermenting gram-negative bacteria. Clin Microbiol Infect 2001 June;7(6):308-15

17- Moore RA, Hancock REW: Antimicrobial Agent Chemother;30:923,1986

18- Gounden R, Bamford C, van Zyl-Smit R, Cohen K, Maartens G. Safety and effectiveness of colistin for multidrug resistant Acinetobacter baumannii infections, BMC Infect Dis, 2009, vol.9 pg. 26

19- Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: the re-emerging antibiotic for multidrug resistant gram-negative bacterial infections, Lancet Infect Dis, 2006, vol. 6(9) (pg.589-601)

20- Rissing JP etal: The Development of Antibiotic Resistance,2000, The Certified Medical Represantative Institute. Inc,Roanoke VA 24018.

21- The Institute of science in society, Po Box 32097, London Nw1 Oxr: Radical solutions needed for antibiotic resistance: Isis report.25 June, 2001.

22- Nikaido H: Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science 264:382,1995.

23- Johanson WG, Pierce Ak, Sanford JP, et al: Nosocomial respiratory infections with gram- negative bacilli. The significance of colonization of the respiratory tract. Ann Intern Med 77:701, 1988.

24- الأسينتوباكتر, أخماجها – ومقاومتها على الصادات للدكتورة هالة ونوس بإشراف أ.د. مجيب ملحم عام 2003