



جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الطب المخبري

التأثير التآزري للصادات في الزجاج تجاه الجراثيم سلبية الغرام واسعة
المقاومة للصادات.

**In vitro synergistic effect of antibiotics versus
extensively drug resistant XDR gram negative
bacteria**

بحث علمي أعد لنيل شهادة الماجستير في الطب المخبري

بإشراف

برئاسة

الأستاذ المساعد الدكتور

الأستاذة الدكتورة

تيسير البني

تهاني علي

إعداد الطالبة

د. إسراء فاتح العبد الزياب

٢٠١٤ - ٢٠١٥ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

حَقْلُ الشُّكْرِ وَالْحَمْدِ

الحمد لله الذي اختارني لأداء هذا العمل ووقفني لإنجازه ، وأرجو من الله أن يكون ذا فائدة

للعاملين في حقل الجراثيم الطبية المخبرية والأمراض الخمجية .

أهدي هذا العمل إلى والدي الغاليين الحبيبين الذين وفرا لي جو الدراسة والتعلم والعمل وقدما ولا

يزالان يقدمان لي وإخوتي كل أسباب التفوق والنجاح.

إلى من طلب مني القيام بهذا العمل وأشرف على نتائجه واستمر في دعمه المعنوي لي حتى بعد

إنجازه إلى كل من الدكتور محمد وحيد رجب بيك والغائبه الحاضرة الدكتورة امتثال رزق وإلى من

أرشدني إلى كيفية عرض بياناته وإخراجه الأستاذ المتفهم الدكتور نزار الضاهر.

والشكر الموصول :

لكل أستاذ فاضل أفادني بمعلوماته وخبرته في علم الجراثيم :

أ.م.د.تيسير البني ، أ.م.د.صلاح الدين شحادة ، د.محمود نحلاوي

لمرشدة الطلاب ومسعفتهم ، الناصح الأمين والمربي المعين أستاذتي الغالية الدكتورة عبير

الكفري.

لصاحبة الهمة العالية الأستاذة الدكتورة تهاني علي من استمرت في تقديم الدعم المعنوي لي

حتى آخر لحظة في إنجاز هذا العمل وعرضه.

لجميع زميلاتي و زملائي في قسم الطب المخبري وقسم الأمراض الخمجية وأخص منهم بالذكر
من أقدت منهم في إنجاز هذا العمل :

د. علا التباع /ماجستير في الطب المخبري ، السبابة في الولوج إلى مخبر الجراثيم ومن مهدت
لنا الطريق لتسيير من خلفها وأفادتنا بنصائحها وخبرتها.

د. إيمان المصري /ماجستير في الأمراض الخمجية من أفادتني وأفادت غيري من المبتدئين من
خبرتها في علم الصادات.

د. براء زنبركجي /ماجستير في الطب المخبري ، قدوتي في العمل منذ اليوم الأول لي في هذا
الاختصاص .

ولأعضاء الهيئة الفنية في قسم الأحياء الدقيقة في كلية الطب البشري وعلى رأسهم شعبة النشاط
المشرفة خانم مدور.

لجميع العاملين في مخبر الجراثيم في مشفى المواساة وأخص بالشكر الكيميائية هيفاء عراط وكل
من أعضاء الهيئة الفنية آلاء معطي وهدى المؤذن على تعاونهم وحرصهم على تسيير إنجاز
هذا العمل.

وأرجو أن أكون قد أديت المطلوب إلى حد قريب والحمد لله رب العالمين.

مخطط البحث

المقدمة النظرية

- حجم المشكلة
- آليات المقاومة
- التصنيف الحديث للجرائم المقاومة
- مقاصد المعالجة التشاركية للأخماج الجرثومية
- بعض الدراسات السريرية التي أثبتت فائدة العلاج التشاركي
- طرق كشف التآزرات في الزواج
- بعض الدراسات المخبرية التي أظهرت تآزر الصادات في الزواج
- الربط بين التآزرات في الزواج ونجاح المعالجة التشاركية عند المريض

هدف البحث

الحزء العملي

المواد والطرائق

- مكان الدراسة
- زمان الدراسة
- مجموعة الدراسة
- حجم العينة
- معايير إدراج المرضى في الدراسة
- خطوات العمل

نتائج الدراسة

مناقشة النتائج

الاستنتاجات

التوصيات والمقترحات

المراجع

المقدمة النظرية

١. حجم المشكلة

- ✕ صدر في نيسان ٢٠١٤ تقرير منظمة الصحة العالمية يحذر من اتجاه العالم إلى مرحلة ما بعد الصادات حيث ستصبح العدوى التي كانت قابلة للعلاج مميتة ، كما ستصبح الصادات غير فعالة في الوقاية من العدوى عند المرضى منقوصي المناعة (1)
- ✕ كما أشار إلى الانتشار المتزايد للجراثيم المقاومة في مختلف بقاع العالم وإلى ازدياد الخسائر الاقتصادية المترتبة على ذلك.

- ✕ هنالك فجوة كبيرة بين الجهود التي تبذل حالياً لتطوير صاد جديد يخلصنا من معضلة المقاومة الجرثومية لسلبات الغرام والتزايد الكبير المتسارع في ظهور تلك المقاومة فقد أوقفت العديد من شركات الأدوية الكبرى برامجها البحثية لتطوير علاج جديد (2,3)

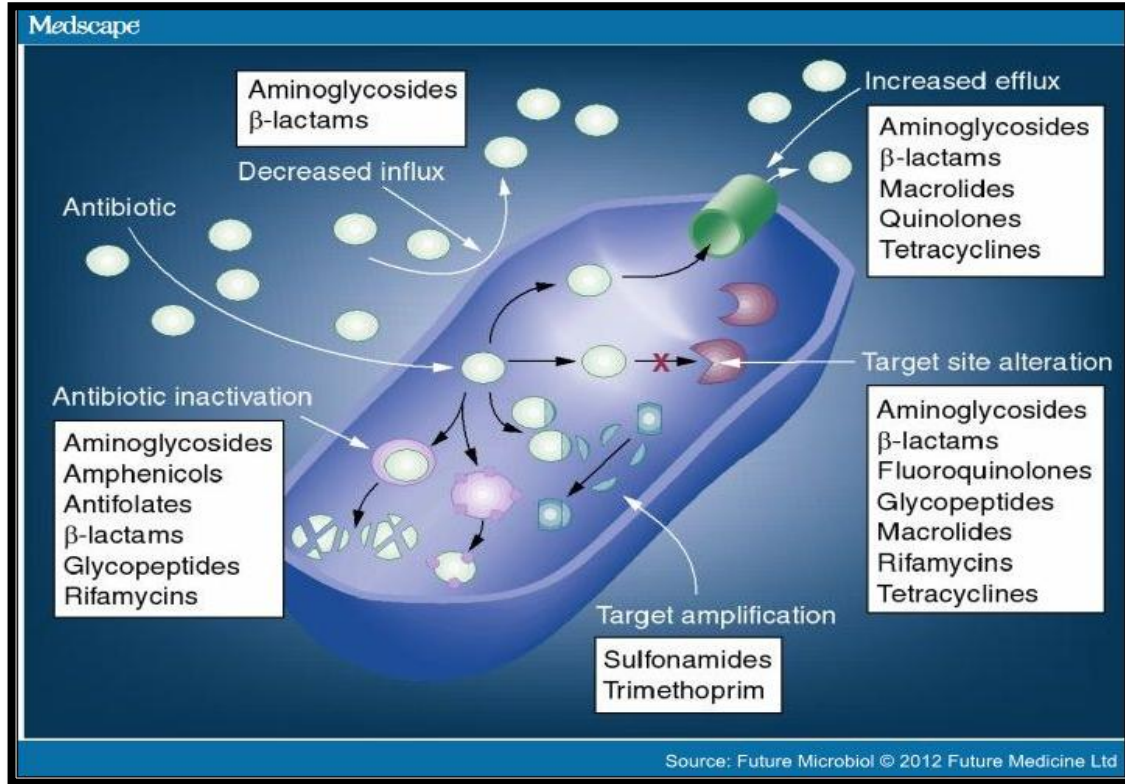
كيف استطاعت الجراثيم خلق مثل هذه المعضلة؟

٢. آليات المقاومة الجرثومية للصادات: الشكل (١) ، الجدول (١)

الآلية	مثال	الدواء المتأثر غالباً
تعطيل الدواء	قص بوساطة البيتا لاكتاماز	صادات البيتا لاكتام (بنسلينات، سيفالوسبورينات)
تعديل هدف الدواء في الجرثوم	طفرة في البروتينات الرابطة للبنسلين	البنسلينات
	طفرة في البروتين في الوحيدة 30 S	الأمينوغليكوزيدات
	استبدال الألائين بلاكات في المورين	الفانكومايسين
	طفرة في جبراز الدنا	الكينولونات
	طفرة في بوليميراز الرنا	الريفامبين

الإيزونيازيد	طفرة في بيروكسيداز-كاتالاز	
البنسلينات والأمينوغليكوزيدات	طفرة في بروتينات البورينات	إنخفاض نفوذية الدواء
النتراسكلينات و السلفوناميدات	مضخة المقاومة الدوائية المتعددة	تصدير الدواء من الجرثوم

الجدول (١) بعض آليات المقاومة الجرثومية للمضادات



الشكل (١) تقسيم المضادات إلى مجموعات حسب آليات المقاومة الجرثومية

كما تنتشر المقاومة بين الجراثيم أثناء انتقال المعلومات الوراثية من خلية إلى آخر بإحدى

الطرق الثلاث التالية : الشكل (٢)

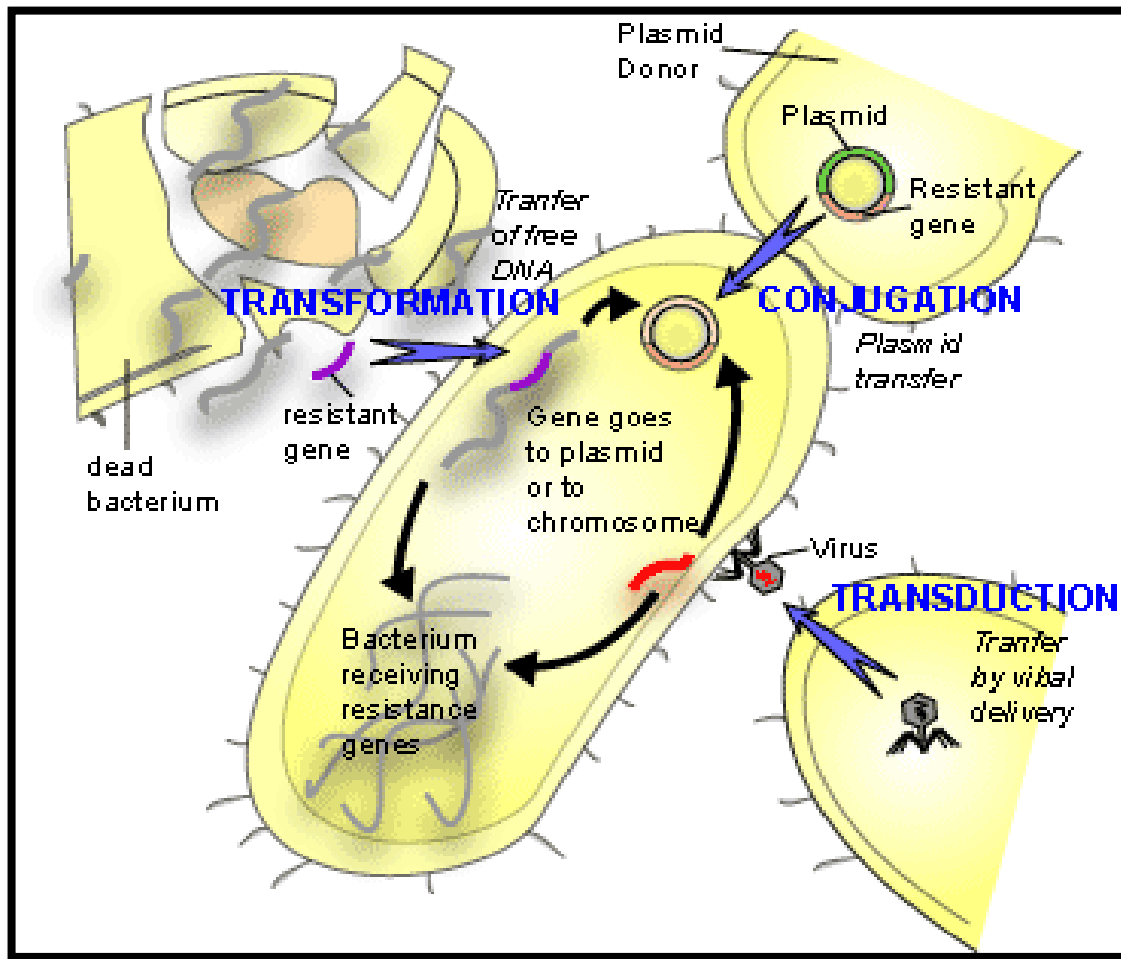
الاقتتران conjugation: حيث تنتقل المعلومات الوراثية عبر بلازميد من خلية إلى أخرى.

التتبيع transduction: خلال نمو العاثية ضمن الجرثوم تندمج قطعة من الدنا الجرثومي ضمن

مجين العاثية وتنتقل إلى الخلية الجرثومية عند حدوث الخمج الفيروسي.

التحويل transformation: تطلق الخلية الجرثومية بعد موتها الدنا الخاص بها فتلتقطه خلية

أخرى متقبلة .



الشكل (٢) يوضح آليات انتقال جينات المقاومة بين الخلايا الجرثومية

وقد تجتمع العديد من آليات المقاومة في ذات الجرثوم وأذكر على سبيل المثال لا الحصر بعضاً مما عرف عن آليات المقاومة عند الزوائف والراكدة

الجدول (٢) آليات المقاومة للصادات في الجرثومة الراكدة (4)

الصادات المتأثرة بها	الآليات الموروثة	آليات المقاومة
السيفالوسبورينات واسعة الطيف (متضمنة الجيل الثالث وزمرة السيفاماييسينات)	إدخال متتاليات ISAbai1, IS1135 بتواسط الصبغي لتزيد إنتاج البيتا لاكتاماز	أ. إنزيمات تعطيل الصادات (الحلمهة) AmpCBeta-lactamases[Acinetobacter derived cephalosporinase(ADCs)]
الكاربابينيمات	متواسطة بالبلاسميد والصبغي	Ambler class D OXA-type enzymes
الكاربابينيمات	عناصر جينية متحركة	Ambler class B metallo-b-lactamases (MBLs) مثل VIM, IMP
كل السيفالوسبورينات متضمنة الجيل الثالث ما عدا السيفاماييسينات	بلاسميد، صبغي أو عناصر جينية متحركة	Ambler class A ESBLs(TEM, SHV)
الكاربابينيمات	طفرات نقطية	ب. الحيلولة دون وصول الصادات إلى أهدافها داخل الجرثوم تغيير قنوات البورينات وباقي بروتينات الغشاء الخارجية
الكاربابينيمات	طفرات نقطية	ج. طفرات تغير الأهداف داخل الخلية للصادات
الكينولونات	طفرات نقطية في الأهداف الجرثومية gyrA, parC topoisomerase enzymes	طفرات DNA topoisomerase
الأمينوغليكوزيدات	بلاسميدات ، نيقولات	إنزيم تعديل الأمينوغليكوزيدات
التيتغاسكلين ، الأمينوغليكوزيد ، الكينولونات ، التتراسكلين	طفرات نقطية	إنتاج مضخة لتصدير الصادات إلى خارج الخلية
الكولستين	طفرات نقطية	تعديل عديد السكريد الشحمي في الغشاء الخلوي

الجدول (٢) آليات المقاومة للصادات في الزوائف (5)

آلية المقاومة	الصادات المتأثرة
المقاومة بالطفرات	
Amp ^c	البنسلينات ، السيفيمات، المونوباكتام
تغيرات الغشاء	البولي مكسين، الأمينوغليكوزيدات
فقد OprD	الكاربابنيم
إضعاف الألفة للتوبوإيزوميراز II,IV	الفلوروكينولونات
زيادة إنتاج مضخات تصدير الصادات MexAB-OprM	كل البيتالاكتامات ما عدا الإمينيم _الأمينوغليكوزيدات
MexCD-OprJ	بعض البيتالاكتامات (سيفويرازون، سيفبيروم، سيفبم، ميروبنيم) فلوروكينولون _ أمينوغليكوزيد
الجينات المكتسبة	
البيتالاكتاماز	
الصف A ضيق الطيف	بنسلينات _ سيفبيرازون
الصف B واسع الطيف	بنسلينات _ سيفم _ مونوباكتام
إنزيمات المعدنية الصف B	كل البيتالاكتامات ما عدا المونوباكتام
إنزيمات تعديل الأمينوغليكوزيدات	
AAC(3)-I	جنتاميسين
AAC(3)-II	جنتاميسين، توبراميسين، نتلمايسين
AAC(6)-I	توبراميسين، نتلمايسين، أميكاسين
AAC(6)-II	جنتاميسين، نتلمايسين، توبراميسين
AAC(2)-I	جنتاميسين، توبراميسين

3. التصنيف الحديث للجراثيم حسب مقاومتها للصادات

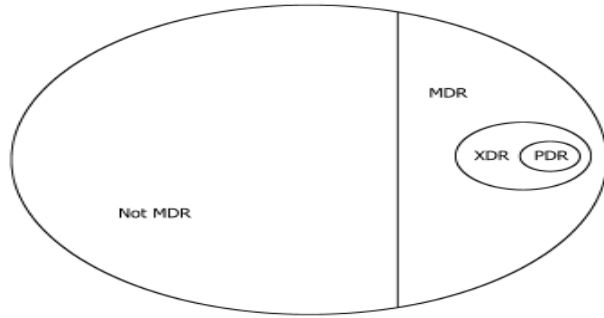
اعتمد في عام ٢٠١١ تعريف للجراثيم المقاومة في مراكز ضبط العدوى (6)

The European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC)

The Centers for Disease Control and Prevention (CDC)

بحيث صنف في ثلاث مجموعات:

- ✓ عديدة المقاومة (MDR) multi drug resistance
- ✓ واسعة المقاومة (XDR) extensively drug resistance
- ✓ كلية المقاومة (PDR) pan drug resistance



الشكل (٣) تصنيف الجراثيم حسب مقاومتها لفئات الصادات المختلفة

معايير تعريف MDR, XDR, PDR

MDR الجراثيم غير الحساسة لصاد واحد أو أكثر من ثلاث فئات على الأقل من فئات الصادات التي نختبرها حسب الجرثوم .

XDR الجراثيم غير الحساسة لصاد واحد أو أكثر من جميع فئات الصادات التي نختبرها حسب الجرثوم ما عدا فئتين منها.

PDR الجراثيم غير الحساسة لأي صاد من جميع الفئات التي نختبرها حسب الجرثوم.

على أن تحذف الصادات التي تبدي بعض أنواع الجراثيم مقاومة داخلية عليها ولا تدخل في الحساب عند تطبيق هذه المعايير .



الجدول(٤):الصادات التي يجب اختبارها على عائلة الأمعائيات لتصنيفها إلى MDR,XDR,PDR

Antimicrobial category	Antimicrobial agent	Results of antimicrobial susceptibility testing (S or NS)	Species with intrinsic resistance to antimicrobial agents or categories (51)*
Aminoglycosides	Gentamicin		<i>Providencia rettgeri</i> (<i>P. rettgeri</i>), <i>Providencia stuartii</i> (<i>P. stuartii</i>)
	Tobramycin		<i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Amikacin		
	Netilmicin		<i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
Anti-MRSA cephalosporins	Ceftaroline (approved only for <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i>)		
Antipseudomonal penicillins + β -lactamase inhibitors	Ticarcillin-clavulanic acid		<i>Escherichia hermannii</i> (<i>E. hermannii</i>)
	Piperacillin-tazobactam		<i>E. hermannii</i>
Carbapenems	Ertapenem		
	Imipenem		
	Meropenem		
	Doripenem		
Non-extended spectrum cephalosporins; 1st and 2nd generation cephalosporins	Cefazolin		<i>Citrobacter freundii</i> (<i>C. freundii</i>), <i>Enterobacter aerogenes</i> (<i>E. aerogenes</i>), <i>Enterobacter cloacae</i> (<i>E. cloacae</i>), <i>Hafnia alvei</i> (<i>H. alvei</i>), <i>Morganella morganii</i> (<i>M. morganii</i>), <i>Proteus penneri</i> (<i>P. penneri</i>), <i>Proteus vulgaris</i> (<i>P. vulgaris</i>), <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>Serratia marcescens</i> (<i>S. marcescens</i>)
	Cefuroxime		<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>S. marcescens</i>
Extended-spectrum cephalosporins; 3rd and 4th generation cephalosporins	Cefotaxime or ceftriaxone		
	Ceftazidime		
	Cefepime		
Cephamycins	Cefoxitin		<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i>
	Cefotetan		<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i>

تابع الجدول (٤): الصادات التي تختبر على الأمعائيات

Fluoroquinolones	Ciprofloxacin	
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim-sulphamethoxazole	
Glycylcyclines	Tigecycline	<i>M. morganii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> (<i>P. mirabilis</i>), <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
Monobactams	Aztreonam	
Penicillins	Ampicillin	<i>Citrobacter koseri</i> (<i>C. koseri</i>), <i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>E. hermannii</i> , <i>H. alvei</i> , <i>Klebsiella</i> spp., <i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
Penicillins + β -lactamase inhibitors	Amoxicillin-clavulanic acid	<i>C. freundii</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i> , <i>M. morganii</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
	Ampicillin-sulbactam	<i>C. freundii</i> , <i>C. koseri</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>H. alvei</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>S. marcescens</i>
Phenolics	Chloramphenicol	
Phosphonic acids	Fosfomycin	
Polymyxins	Colistin	<i>M. morganii</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i> , <i>S. marcescens</i>
Tetracyclines	Tetracycline	<i>M. morganii</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Doxycycline	<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>
	Minocycline	<i>M. morganii</i> , <i>P. penneri</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , <i>P. stuartii</i>

الجدول (٥) الصادات التي يجب اختبارها على الرائدة لتصنيفها إلى MDR,XDR,PDR

Antimicrobial category	Antimicrobial agent	Results of antimicrobial susceptibility testing (S or NS)
Aminoglycosides	Gentamicin	
	Tobramycin	
	Amikacin	
	Netilmicin	
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem	
	Meropenem	
	Doripenem	
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin	
	Levofloxacin	
Antipseudomonal penicillins + β -lactamase inhibitors	Piperacillin-tazobactam	
	Ticarcillin-clavulanic acid	
Extended-spectrum cephalosporins	Cefotaxime	
	Ceftriaxone	
	Ceftazidime	
	Cefepime	
Folate pathway inhibitors	Trimethoprim-sulphamethoxazole	
Penicillins + β -lactamase inhibitors	Ampicillin-sulbactam	
Polymyxins	Colistin	
	Polymyxin B	
Tetracyclines	Tetracycline	
	Doxycycline	
	Minocycline	

الجدول (٦) الصادات التي يجب اختبارها على الزوائف لتصنيفها إلى MDR,XDR,PDR

Antimicrobial category	Antimicrobial agent	Results of antimicrobial susceptibility testing (S or NS)
Aminoglycosides	Gentamicin	
	Tobramycin	
	Amikacin	
	Netilmicin	
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem	
	Meropenem	
	Doripenem	
Antipseudomonal cephalosporins	Ceftazidime	
	Cefepime	
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin	
	Levofloxacin	
Antipseudomonal penicillins + β -lactamase inhibitors	Ticarcillin-clavulanic acid	
	Piperacillin-tazobactam	
Monobactams	Aztreonam	
Phosphonic acids	Fosfomycin	
Polymyxins	Colistin	
	Polymyxin B	

الجدول (٧) مثال تطبيقي لتعريف الزائفة المقاومة:

Antimicrobial category	Antimicrobial agent	Isolate no. 1 (PDR)	Isolate no. 2 (XDR)	Isolate no. 3 (MDR)
Aminoglycosides	Gentamicin	X	X	
	Tobramycin	X		
	Amikacin	X		
	Netilmicin	X		
Antipseudomonal carbapenems	Imipenem	X	X	X
	Meropenem	X	X	
	Doripenem	X	X	
Antipseudomonal cephalosporins	Ceftazidime	X		X
	Cefepime	X	X	
Antipseudomonal fluoroquinolones	Ciprofloxacin	X	X	X
	Levofloxacin	X		
Antipseudomonal penicillins + β -lactamase inhibitors	Piperacillin-tazobactam	X		
	Ticarcillin-clavulanic acid	X	X	
Monobactams	Aztreonam	X	X	
Phosphonic acids	Fosfomycin	X		
Polymyxins	Colistin	X		
	Polymyxin B	X		

X تعني أن الجرثوم غير حساس للصاد المستخدم

غياب علامة X يعني إما أن الجرثوم حساس للصاد أو أننا لم نختبره تجاهه.

ما هي الخيارات العلاجية المستقبلية للجراثيم المقاومة؟

❖ يفرض علينا هذا التحدي الكبير البحث عن استراتيجيات جديدة لمكافحة الجراثيم المقاومة والخيارات المتاحة حالياً ثلاث:

➤ البدء بالمعالجة التجريبية الأنسب

➤ تعديل الجرعة ومدة العلاج

➤ المعالجة التشاركية



٤. مقاصد المعالجة التشاركية للأخماج الجرثومية (3)

أ- توسيع طيف التأثير

ب- منع أو تأخير المقاومة الطارئة أثناء العلاج

ت- التأثير التآزري للصادات الذي ظهر في الزجاج والذي قد يترافق مع فعالية علاجية أكبر عند الحي

أ-توسيع طيف التأثير:

أظهرت الدراسات زيادة في نسبة الوفيات المشفوية المرتبطة بالتأخر في استعمال
الصادات الفعالة المناسبة لذا تم التوجه للبدء بعلاج تجريبي واسع الطيف منذ بداية
إصابة المريض بالخمج خاصة إذا كان المريض من ذوي الخطورة للإصابة بالجراثيم
المقاومة للعديد من الصادات MDR وهم :

المريض مثبطو المناعة ،المقبولون في العناية المركزة ، مرضى نقص العدلات،مرضى
المنافس ،المصابون بإنتان دم أو صدمة إنتانية أو الذين تلقوا مؤخراً علاجاً واسع
الطيف حيث يزداد احتمال فشل العلاج التجريبي إذا كان معتمداً على صاد واحد(3)

□ في دراسة حشدية قهقرية reteroscopic cohort study تضمنت ٢٨ وحدة عناية

مشددة لتقييم الفائدة من العلاج التشاركي التجريبي للبيتا لاكتام مع كل من
الأمينوغليكوزيد، الفلوروكينولون، الماكروليد بالمقارنة مع العلاج التجريبي بالبيتا لاكتام
بمفرده شملت ٤٦٦٢ مريض مصاب بصدمة إنتانية مع زرع جرثومي إيجابي فكانت
المعالجة التجريبية التشاركية مرتبطة بانخفاض معدل الوفيات خلال ٢٨ يوم من ٣٦%
إلى ٢٩% ($p=0.002$) بالإضافة إلى قلة عدد الأيام التي يحتاج فيها المريض
للتهوية الآلية وتلك التي يعاني فيها من ارتفاع الضغط الشرياني(3,7)

□ أوضحت دراسة أخرى حشدية قهقرية أخرى العلاقة بين استخدام العلاج البدئي غير
المناسب بالصادات والنتائج السريرية لأخماج الزوائف و أظهرت أن الوفيات المشفوية
أعلى عند البدء بصادات غير مناسبة (٣١% بمقابل ١٨% مع $p=0.02$) (3,8)

□ وقد تكرر تواتر العلاج غير الملائم عند المرضى الذين يتلقون صاداً واحداً مقارنة مع

الذين تلقوا العلاج التشاركي (٣٥% بمقابل ٢١% مع $p=0.01$) (3,9)

❖ مثل هذه الدراسات تبين أننا يمكن أن نقلل تواتر المعالجات غير الفعالة باستخدام العلاج التشاركي على أننا يجب ألا نغفل عن صعوبة تقييم حدة المرض وعوامل الخطورة في هذه الدراسات وبالتالي إمكانية نسب الوفيات إلى عدم إعطاء العلاج الملائم.

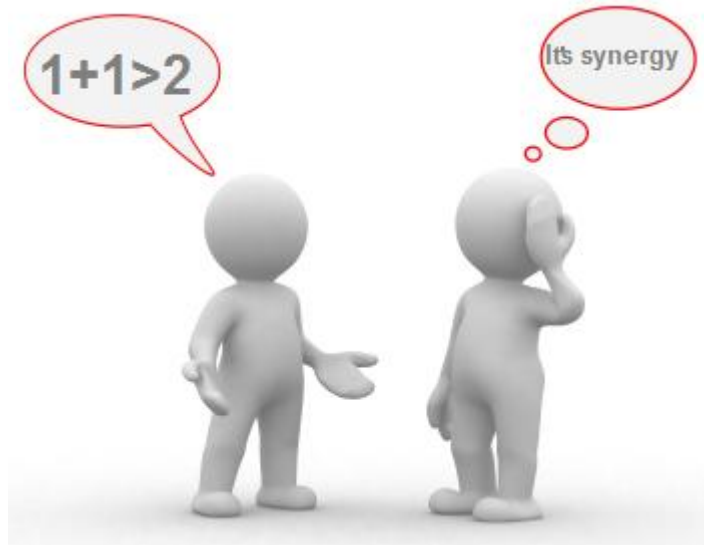
ب- منع أو تأخير نشوء المقاومة الطارئة خلال فترة العلاج

لا تزال إلى الآن فكرة نظرية لم تثبت بعد بالدراسات السريرية نظراً لقلّة الدراسات المهمة بالبحث عنها إذ تهتم معظم الدراسات السريرية بمقارنة الفعالية السريرية والسمية أكثر من اهتمامها بنشوء المقاومة.

الأبحاث السريرية التي تؤيد هذه الفرضية وإن كانت موجودة لكنها غير كافية. (3)

ث- التأثير التآزري للصادات

بمعنى أن فعالية الصادين عند مشاركتها أكبر من مجموع فعاليتها المستقلتين.



وسأعرض بعضاً من الدراسات التي أشارت إلى ظهور التآزر عند الحي وفي الزواج

٥. دراسات سريرية بحثت في فائدة العلاج التشاركي:

□ حظيت المعالجة التشاركية باهتمام كبير في الآونة الأخيرة بهدف الوصول إلى تأثير

تآزري بين الصادات المتوفرة حالياً .

□ لا تزال المعطيات السريرية قليلة وتتضمن دراسات قهقرية والقليل من الدراسات

المستقبلية بينما لا نزال نحتاج إلى الدراسات المعشاة لتقييم أفضل لفائدة المعالجات التشاركية المختلفة .

□ **بعض الدراسات لا تدعم الاستخدام الروتيني للعلاج التشاركي** إذ وجدت أن إضافة صاد

آخر لم تحسن النتائج العلاجية بل وأدت إلى زيادة التأثيرات السمية العلاجية بينما

□ **ظهرت دراسات أخرى تدعم اللجوء للمشاركة الدوائية ومنها:**

➤ الأبحاث التي تدعم استخدام المشاركة الدوائية في علاج الأمعائيات المفززة

للكاربابينيماز :إذ أظهرت العديد من الدراسات القهقرية reteroscopic والدراسات

المستقبلية prospective تحسناً في البقايا مع أفضلية في نتائج العلاج التشاركي

بالمقارنة مع العلاج الأحادي وذلك في أغلب الدراسات التي أجريت على المرضى

المصابين بتجرثم الدم بالكليسيلا المفززة للكاربابينيماز

➤ أول دراسة تحليلية قهقرية تضمنت ٤١ مريضاً مصاباً بتجرثم دم بالكليسيلا الرؤية

المفززة للكاربابينيماز وجدت أن المعالجة التشاركية ارتبطت بنسبة بقيا أفضل (وفيات

خلال ٢٨ يوماً كانت ١٣% لمرضى العلاج التشاركي بمقابل ٥٨% لمرضى العلاج

الأحادي). والتشاركات الأكثر استخداماً كانت الكولستين أو التيغاسكلين بالتشارك مع

الكاربابنيم. (10)

➤ وفي مراجعة نقدية أخرى ظهرت أفضلية العلاج التشاركي على الأحادي عند المرضى المصابين بأخماج شديدة بالأمعائيات المقاومة للكاربابنيم إذ كانت مشاركة الكاربابنيم مع الكولستين أو الأمينو غليكوزيدات أفضل من إعطاء كل منها على حدة. (11)

➤ أكبر دراسة قهقرية retrospective cohort study أجريت إلى الآن حلت النتائج العلاجية لـ ١٢٥ مريضاً مصاباً بتجرثم دم بالكليبيلا المفرفة للكاربابينيماز مقبولين في ثلاث مشاف تعليمية في إيطاليا كان معدل الوفيات ٤٢% وبدأ أعلى بشكل واضح عند الذين تلقوا معالجة أحادية بمقابل من تلقى العلاج التشاركي (٥٤% بمقابل ٣٤% مع $p=0.02$) (12)

➤ في مراجعة منهجية systematic review أجريت عام ٢٠١٢ شملت المقالات التي كانت قد حررت في الفترة بين (٢٠٠١-٢٠١١) والتي تحدثت عن مقارنة العلاج التشاركي للكليبيلا المفرفة للكاربابينيماز مع العلاج الأحادي تبين أن العلاج الأحادي يفشل بنسب أعلى من العلاج التشاركي خاصة فيما يتعلق بالأخماج التنفسية وذلك عند مشاركة الكولستين مع التيغاسكلين، الأمينوغليكوزيدات أو مع الكاربابنيم (13)

➤ وفي أخماج الزوائف قيمت فائدة العلاج التشاركي عند زمرة المرضى ذوي الحالة العامة السيئة الموضوعين على تهوية آلية ويعانون من انخفاض ضغط أو سبات فكانت البقيا ٥٣% مع العلاج التشاركي بمقابل ٨% بالعلاج الأحادي ($p>0.02$) (14)

➤ لقد حسنت مشاركة الصادات البقيا والاستجابة السريرية عند المرضى ذوي الخطورة

العالية المصابين بالأخماج خاصة المصابين بالصدمة الانتانية ،بينما لم تبد تلك

المشاركة فائدة جلية عند المرضى منخفضي الخطورة(15)

أفضل الخيارات العلاجية الحالية :

Carbapenems, Colistin, Tigecycline , Sulbactam , Doxycycline, Rifampin

لذا تجرى الأبحاث لاستخدامها كركائز قد تفعل صادات أخرى وهنا أشير إلى بعض هذه

الأبحاث:

مشاركة الكولستين

ربما كانت مشاركة الكولستين مع صاد آخر الأمل الوحيد الذي يمكن التعلق به حالياً

لمكافحة المقاومة المتزايدة على الكولستين والتي بدأت تنتشر في مختلف أنحاء العالم.

المشاركات التي حظيت بنسبة أكبر من الأبحاث كانت مشاركة الكولستين مع الريفامبين

ومشاركته مع الكاربابنيم وقد أبدت هذه نتائج واعدة في الزجاج وعند الحي أيضاً.(16)

ومن الدراسات المنشورة دراسة حشدية قهقرية(17) أوضحت أن المعالجة التشاركية بالكولستين

والميروبنيم حسنت البقيا وأعطت نتائج علاجية أفضل من المعالجة الأحادية.

مشاركة السلباكتام

في دراسة في تاوان سجلت أربع حالات أبدت نجاحاً في علاج مرضى مصابين بذوات رئة

و أخماج مرتبطة بالقنطرة بالراكدة المقاومة للكاربابنيم والسلباكتام وقد نجح العلاج عند

مشاركتهما معاً .(18)

مشاركة الريفامبين

أجريت دراسة سريرية مستقبلية Prospective (19) شملت ١٠ مرضى خلال ١٤ شهراً مصابين بأخماج بالجرثومة الراكدة مقاومة للامبينيم تلقوا علاجاً تشاركياً مكوناً من الريفامبين مع الامبينيم:

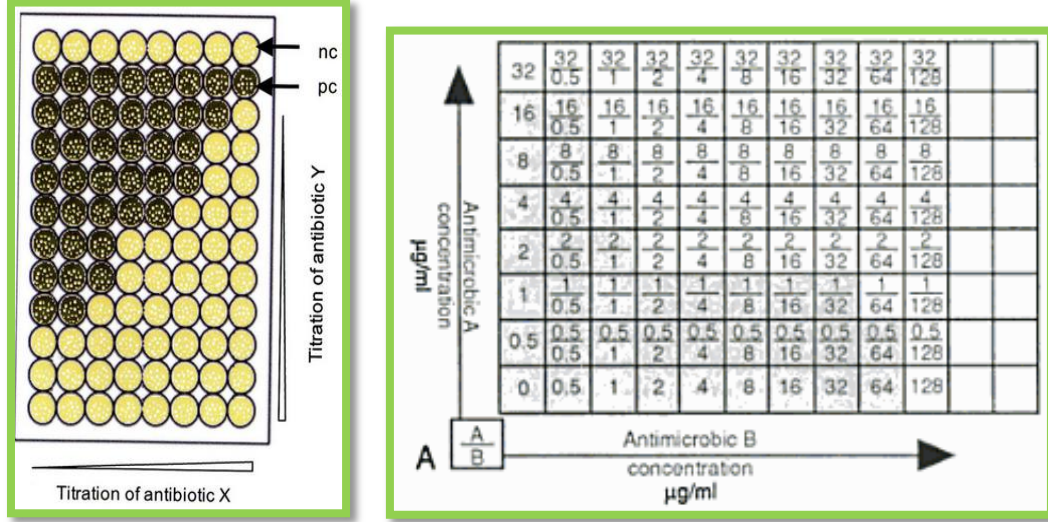
حدث الشفاء عند مريض تقيح جنب، مريض خمج مفصل ورك صناعي، تجرثم دم تالي لإدخال قثطرة، مريضين من ٤ مرضى مصابين بذات رئة مرتبطة بالمنافس ، مريضين من ٣ مرضى خراجات داخل البطن.

وفي دراسة مستقبلية أخرى Prospective (20)

شملت ١٣ مريضاً مصابين بذوات رئة مرتبطة بالمنفسة ناتجة عن الراكدة المقاومة تلقوا العلاج التشاركي كولستين مع الريفامبين وحصل الشفاء لدى الجميع .
ومع هذه النجاحات التي حققتها بعض المشاركات الدوائية سريرياً تواصلت الأبحاث لكشف التآزرات في الزجاج لمحاولة تطبيقها عند الحي.

٦. طرق كشف التأزر في الزجاج:

التمديد الأصغري بطريقة لوح الشطرنج **Checkerboard microdilution**



الشكل (٤) يوضح كيفية إجراء التأزر بتقنية لوح الشطرنج (checkerboard)

- لوح مؤلف من ٩٦ بئر .
- يملأ المحور الأفقي بتركيزات متزايدة من الصاد A والمحور العمودي بتركيزات متزايدة من الصاد B .
- نضيف المعلق الجرثومي ونحضن ١٨-٢٤ ساعة فيظهر في كل صف وكل عمود آبار رائقة تثبط فيها النمو الجرثومي.
- إذا حددنا أول بئر رائق في كل صف وفي كل عمود سينتج خط يحدد طبيعة العلاقة بين الصادين:

✓ إذا كان الخط منحنياً باتجاه الأسفل والأيسر فهناك تأزر

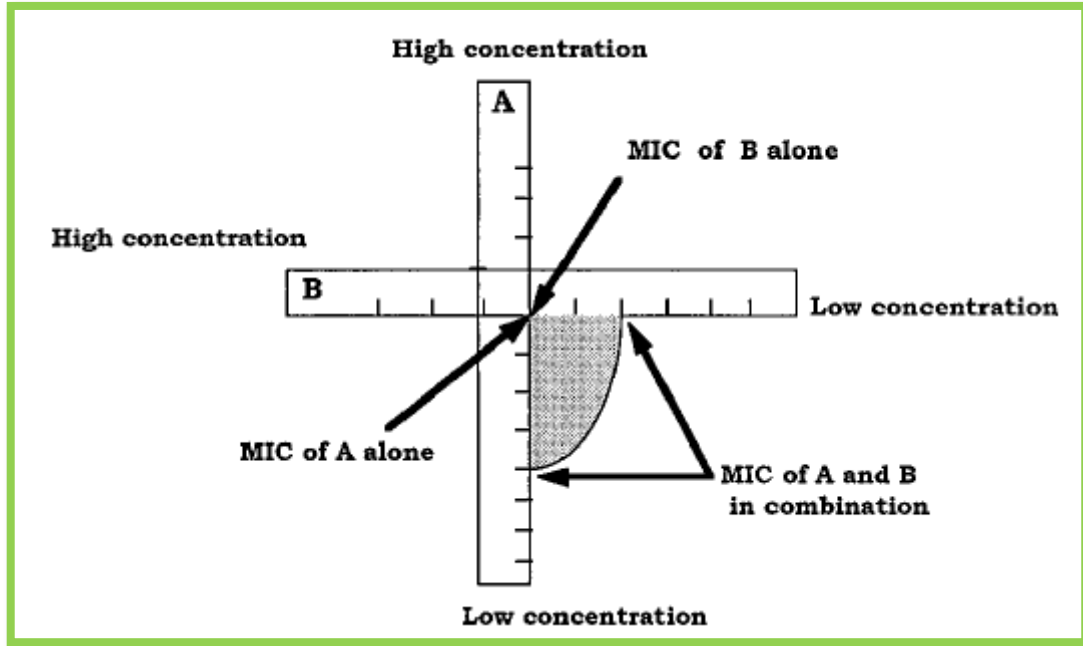
✓ إذا كان الخط مائلاً باتجاه الأعلى والأيمن فالعلاقة تضاد

✓ أما إذا كان مستقيماً فهناك تأثير إضافي

- العلاقة تأزرية عندما $FI \leq 0.5$ (21)

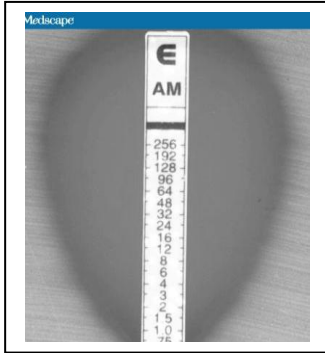
حيث: $A \setminus MIC_A + B \setminus MIC_B = FCA + FCB = FI$ (FRACTIONAL INDEX)

Etest The Epsilometer test agar diffusion



الشكل (٥) يوضح كيفية إجراء التآزر باستخدام Etest

- شريط بلاستيكي مغطى بتراكيز متدرجة من الصاد على أحد جانبيه بحيث يعلم



الجانب المقابل بسلم لقياس التركيز المثبط الأصغري.

- يوضع على الطبق بعد فرشته بالمعلق الجرثومي بعد حضانة ٢٤ ساعة

تنشيط النمو إهليلجية الشكل.

- نقطة تقاطع الهالة الإهليلجية مع الشريط تعبر عن MIC .

الشكل (٦) Etest

- ولكشف التآزر يوضع شريطان من الصادين المراد اختبارهما بشكل متعامد بحيث

تكون نقطة التقاطع هي التركيز المثبط الأصغري لكل منهما عند اختبار كل منهما

بمفرده فينتج عندها تركيز مثبط أصغري جديد لكل منهما.

- تحدد العلاقة التآزرية بالاعتماد على FIC INDEX كما في السابق . (22)

Timekill

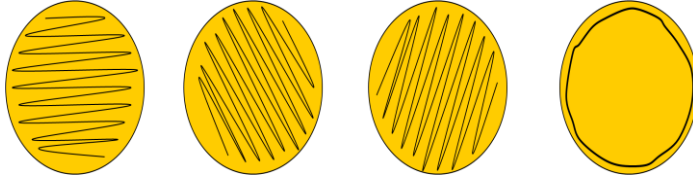
- يضاف المعلق الجرثومي إلى مرق يحوي تراكيز مختلفة من الصاد.
- يحسب عدد الوحدات المكونة للمستعمرة المتبقية بعد إضافة المعلق للمرق وفي فواصل زمنية مختلفة فيما بعد بإجراء عد للمستعمرات بعد القيام بتمديد تسلسلي لجزء من المزيج الناتج في كل أنبوب.
- يعرف التآزر بتناقص تعداد المستعمرات تناقصاً أكبر أو يساوي ١٠٠ ضعف بالمقارنة مع الصاد المفرد الأكثر فعالية . (22)
- إن الكلفة المرتفعة نوعاً ما للطرق الثلاث السابقة بالإضافة إلى صعوبة تأمين المواد اللازمة لها (صعوبة تأمين المادة الدوائية الخام في checkerboard,timekill وصعوبة تأمين شريط الاختبار في طريقة E test) تحول دون استخدامها بشكل روتيني للبحث عن التآزر الدوائية على كل جرثوم مقاوم يظهر في مشافينا .

اختبار التآزر ثنائي القرص

DDST double disk synergy test

- تقوم على تحسيس العزلات الجرثومية بطريقة كربي بورالوسط المستعمل لذلك وسط موللر هنتون الذي يحتوي على بروتينات قليلة ذات وزن جزيئي منخفض، PH معتدل (٧,٢ – ٧,٤) مما يجعله مناسباً لاختبار التحسس، يصب الوسط بعمق ٤ ملم في الأطباق المعقمة بقطر ٩ سم.

تم تحضير معلق جرثومي من مستعمرات نقية مستفردة بشكل جيد بمقدار عكري يعادل ٠,٥ وحدة ماك فارلاند McFarland (وهي وحدة عكرية عيارية من كبريتات الباريوم) ثم وزع المعلق بشكل متجانس على كامل الطبقة وبكل الاتجاهات باستخدام ماسحة قطنية عقيمة (كما في الشكل) ثم ترك ليصفى لمدة لا تزيد عن ١٥ دقيقة.

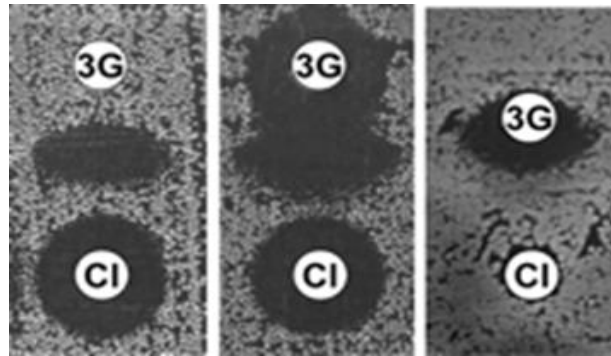
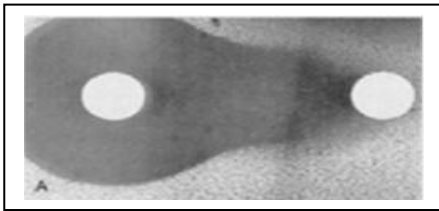


الشكل (٧) طريقة توزيع المعلق الجرثومي على الطبقة

يوضع كل قرصين مراد اختبار تآزرهما على مسافة معينة اعتمدها في بحثنا ١,٥ سم من المركز إلى المركز لأنها الأفضل تجريبياً ثم تحضن ١٨ - ٢٤ ساعة بدرجة ٣٥ س وتقرأ النتائج :

- حيث يبدي التآزر شكل عنق زجاجة الشامبانيا، الشكل الاهليلجي، ثقب المفتاح، منظر

الشبح كما في الشكل (٨)



الشكل (٨) بعض أشكال التآزر بطريقة DDST

- طريقة حساسة في كشف المقاومة الجرثومية extended spectrum betalactamas
- ESBL تقترب نتائجها من نتائج طرق البيولوجيا الجزيئية PCR والقرص المدمج (CD) combined disk (23,24)
- كما أنها مفضلة على طريقة القرص المدمج في كشف المقاومة الجرثومية MBL metallo betalactamase (25,26)
- طريقة بسيطة الإجراء رخيصة الكلفة .
- استخدامها يتيح البحث عن التآزر بين عدد كبير من الصادات بكلفة رخيصة ما يجعلها قابلة للتطبيق الروتيني على أي جرثوم واسع المقاومة .

٧. دراسات في الزجاج أظهرت التأثير التآزري

- لا توجد طريقة معيارية لإجراء التآزر في الزجاج وقد اختلفت أحياناً نتائج الدراسات في الزجاج باختلاف الطرق الثلاث التي تعتمد على تحديد التركيز المثبط الأصغري. (27,28,29,30,31,32)
- فبسبب التنوع في المشاركات الدوائية ، اختلاف تراكيز الأدوية المستخدمة واختلاف السلالات المخبرية المستخدمة أبدت التقارير الصادرة عن الأبحاث في الزجاج نتائج متباينة.
- تقييم checkerboard لتآزر الصادات تجاه الزوائف يشير إلى معدلات تآزر ٢٥-٠% لصادين من البيتا لاکتام، ٣٠-٠% للبيتا لاکتام مع فلورو كينولون ، ١٧-٠% للبيتا لاکتام

مع الأمينوغليكوزيد، ٠-٣٣% فلوروكينولون مع الأمينوغليكوزيد. (33,34,36)

- الدراسات التي اعتمدت time kill أكثر من تلك التي اعتمدت checkerboard

لكنها كانت تطبق على أعداد أقل من السلالات الجرثومية، سجلت هذه الدراسات تأزراً

بين الفلوروكينولون والأمينوغليكوزيد بنسبة ٠-٢٧%، البيتا لاكتام مع الأمينوغليكوزيد ١٤-

٥٠%، البيتا لاكتام مع الفلوروكينولون ٠-٥٠% (34,35,36)

- استخدمت طريقة الـ time-kill لتقييم فعالية التيغاسكلين لوحده وبالمشاركة مع الكولستين

والميروبنيم تجاه أمعائيات مفرزة للكاربابينيماز : ٤ كليبيلا رئوية ، ٢ أشريشكية قولونية

، ١ أمعائية مذرقية ، ١ سيراتية دابلة وجد أن مشاركة التيغاسكلين و الميروبنيم لم تبد تأزراً

تجاه الذراري الثمانية بينما تأزر الكولستين مع التيغاسكلين تجاه تلك الذراري وأظهر تأثيراً

قاتلاً في معظم التراكيز والفواصل الزمنية. (37)

- وفي دراسة للتأزر بين الامبنيم والكولستين (٣٨) أجريت على ٤١ عينة

metallo-beta-lactamase-producing K. Pneumoniae ظهر التأزر في

٥٠ % من العينات الحساسة للكولستين بغض النظر عن حساسيتها للامبنيم.

- في دراسة في الزجاج في شمالي تايوان استخدمت طريقة checkerboard تأزر

الأميكاسين مع البيراسللين بنسبة ٥٩% ومع السيفيم بنسبة ٧% تجاه الزوائف (39)

- وفي دراسة أخرى في تايوان ظهر تأزر الكاربابنيم مع السلباكتام عند المرضى وفي

الزجاج تجاه الراكدة المقاومة لكل منهما (40)

- كما ظهر في الزجاج تآزر التيفاسكلين مع كل من الكولستين والأميكاسين والامبينم تجاه
الراكدة المقاومة وذلك باستخدام الطرق الثلاث :

(41)Etest, checkerboard, timekill

- وفي دراسة ما بعد تحليلية metaanalysis لأبحاث منشورة على قاعدة بيانات
PubMed , Scopus شملت خمس عشرة بحثاً تقارن بين الكولستين لوحده
وفعالية المشاركة بين الكولستين وصادات أخرى : (42)



- ٦ أبحاث منها درست فعالية المشاركة الدوائية بين الكولستين وأدوية أخرى باستخدام
طريقة checkerboard microbroth dilution
- time-kill curve استخدمت في ٩ دراسات
- بينما Etest استخدم في دراسة واحدة

الصادات التي استخدمت في التآزر : ريفامبين، امبينم، ميروبنيم، جنتاميسين،
سيبروفلوكساسين، بيبراسلين، دوكسيسكلسن، سفتازديم، كوتريمازول.

ـالتآزر الأكثر تواتراً كان مع الريفامبين (في ١٠ دراسات)

(49,52,53) (في ٤ دراسات) ومع الكاربابنيم (43,44,45,46,47,48,49,50,51)

ـالجرثومة الأكثر تواتراً في الدراسات كانت الزوائف (47,52,53,54)

☒ أوجز هنا بعضاً من الأبحاث التي شملتها هذه الدراسة ما بعد التحليلية:

ـأظهرت دراسة أجريت في أمريكا تستخدم time kill لكشف التآزر تجاه الزوائف تآزر

الكولستين مع السفتازديم ولم تظهره مع السبروفلوكساسين (54)

ـقورنت فعالية الكولستين لوحده مع فعالية مشاركته بالريفامبين على ٧ ذراري من

الزوائف عديدة المقاومة حيث لم يكن للكولستين خواص قاتلة وفقد قدرته على التثبيط بعد

٦ ساعات بينما أصبح قاتلاً بالمشاركة مع الريفامبين واستمر تأثيره ١٢ ساعة (48)

ـ كانت النتائج ملتبسة عند مشاركة الكاربابنيم مع الكولستين تجاه الزوائف في دراسة

تركبية حيث وجد تأثير إضافي بمشاركة الكولستين مع الميروبنيم في سلالتين من ٥

سلالات بتقنية checkerboard ولم يحدث تغيير في باقي السلالات (49)

ـفي حين ظهر تآزر الامينيم مع الكولستين في سلالة وحيدة من الزوائف في

دراسة إيطالية بتقنية timekill (53)

ـوفي دراسة كندية وجد أن مشاركة الكولستين مع السبروفلوكساسين والكوتريمازول

والسفتازديم عززت التأثير القاتل للكولستين تجاه ١٦ ذرية زوائف جميعها حساسة

للكولستين (55)

سبع دراسات على الراكدة جميعها قارنت مشاركة الكولستين مع الريفامبين
(43,44,45,49,50,56) ودراسة واحدة فقط شاركت الكولستين مع الميروبنيم أو مع
الدوكسيسكلين(49)

وفي دراسة في المملكة المتحدة على ١٣ عينة من الجرثومة الراكدة كانت جميع
السلالات حساسة للكولستين و ٨٥% مقاومة على الريفامبين فظهر التأزر في ٨٥%
منها بينما ١٥% منها لم تبد فرقاً ولم يظهر أي تضاد بينهما(44)
في دراسة استخدمت time-kill curve assays ظهرت زيادة فعالية الكولستين بوجود
الريفامبين وكان التأزر معتمداً على تركيز الكولستين المثبط الأصغري إذ يزداد
بزيادته(42)

ظهر التأزر أيضاً في دراسة تركية بتقنية checkerboard على ٥ سلالات من الراكدة
عند مشاركة الكولستين مع الريفامبين(49)

وفي دراسة تركية أخرى استخدمت تقنية checkerboard على ٥ نزاري من الراكدة
كانت ٤ منها قد أظهرت تأزر الكولستين مع الريفامبين بينما تأزر الكولستين مع
الميروبنيم في ٣ منها كما تأزر الكولستين مع الدوكسيسكلين جزئياً في ٤ منها (49) .

٨. الربط بين التآزر في الزواج والنتائج السريرية للمشاركة الدوائية

- أبدت محاولات الربط بين التآزر في الزواج ونتائج المشاركات الدوائية السريرية نتائج متضاربة .
- فمثلاً عندما قورنت نتائج الحساسية التآزرية في الزواج مع النتائج السريرية لدى ٤١ مريض سوي العدلات مخموج بالزوائد لم يلاحظ دليل على الشفاء السريري عند المرضى المعالجين بالبيتا لاكتام مع الأمينوغليكوزيدات حتى بعد ظهور التآزر في الزواج. (57)
- بالمقابل في دراسة قهقرية reteroscopic على ٤٤٤ حالة تجرثم دم بسلبيات الغرام حصلت استجابة سريرية بنسبة ٨٠% للحالات التي تلقت مشاركة دوائية متآزرة في الزواج بطريقة checkerboard بينما حدثت الاستجابة السريرية بنسبة ٦٤% للحالات التي تلقت مشاركة دوائية غير متآزرة في الزواج وكانت $p < 0.05$. (58)
- في دراسة أخرى قهقرية reteroscopic عند مرضى نقص العدلات الشديد المصابين بتجرثم دم بالسلبيات ظهرت الاستجابة السريرية في ٧ من ١١ (٦٤%) من المرضى الذين ظهر لديهم التآزر في الزواج بمقابل ٠ من ٦ مرضى (٠%) عندما لم يظهر التآزر. (59)
- كما لوحظ أن التآزر في الزواج كان مرتبطاً باستجابة سريرية أفضل عند مرضى نقص العدلات والمصابين بصدمة إنتانية ومرضى أخماج الزوائد. (3)

هدف البحث

دراسة إمكانية الحصول على فعل تآزري للصادات في الزجاج تجاه الجراثيم المقاومة للصادات بطريقة الانتشار القرصي المضاعف لاقتراح معالجة تشاركية للأخماج التي تسببها هذه الجراثيم عند المريض مستقبلاً.

المواد والطرائق

مكان الدراسة: مشفى المواساة الجامعي.

زمان الدراسة: الفترة الممتدة بين ١٢ / ٢٠١٣ ولغاية ٩ / ٢٠١٤.

مجموعة الدراسة: عينات المرضى المخموجين بسلبيات الغرام المقاومة XDR أيّاً كان مصدر العينة.

معايير انتقاء العينة: الجراثيم سلبية الغرام (الزوائف ، الراكدة ، الكليبسلا ، الإشريكية

القولونية) التي تحقق تعريف الجراثيم واسعة المقاومة للصادات XDR.

حجم العينة : ١٥٠ عينة أيّاً كان مصدرها (بول ، قشع، جروح.....) .

المواد

وسط زرع EMB

وسط زرع موللر هنتون

وسط تفريقي كليغلير

وسط سيمون سيترات

جميع الأوساط المستخدمة هي من إنتاج شركة Abtek

سائل تحري الاوكسيداز من إنتاج شركة Biomerieux

أنابيب زجاجية عقيمة

ماسحات قطنية عقيمة

سلايدات

أطباق بتري عقيمة لإجراء التحسس

أقراص تحسس

الجدول (٨) أقراص التحسس المستخدمة

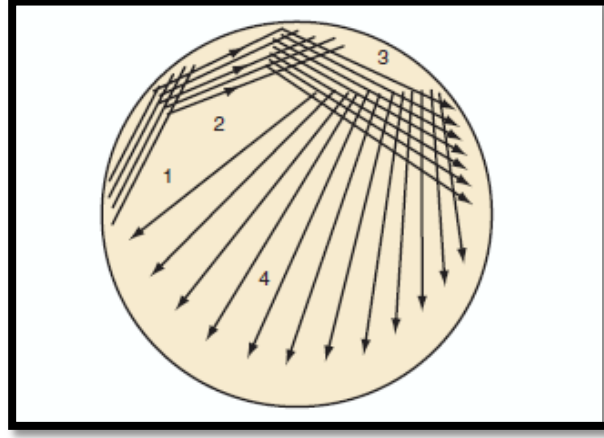
الرمز المستخدم	اسم الشركة	الفعالية	الصاد
AK	bioanalyse	30	amikacin
Gen	bioanalyse	10	gentamicin
lpm	bioanalyse	10	imipenem
CAZ	bioanalyse	30	Ceftazidime
FEP	bioanalyse	30	cefepime
Cip	bioanalyse	5	ciprofloxacin
cef	bioanalyse	30	Cefoxitin
atz	bioanalyse	30	aztreonam
CL	bioanalyse	10	Colistin
SXT	bioanalyse	25	Trimethoprim sulfamethoxazole
TE	bioanalyse	30	tetracycline
DO	bioanalyse	30	doxycycline
C	bioanalyse	30	chloramphenicol
Rf	bioanalyse	30	refampin
tzp	Abtek	85	-Piperacillin tazobactam
Amp	Abtek	10	ampicillin
Mero	Abtek	10	meropenem
UNZ	Abtek	20	-Ampicillin sulbactam
TGC	oxoid	15	tigecycline

وقد استخدمنا لضبط جودة أقراص التحسس والأوساط الزرعية السلالة E.coli ATCC25922

خطوات العمل:

1- رصد المزارع الجرثومية التي أظهرت مقاومة للصادات من نمط XDR في مخبر الجراثيم في مشفى المواساة أياً كان مصدر العينة المرضية (قشع، مسحات جروح، دم، بول، سائل دماغي شوكي.....) وقد تم جمع ٥٠ مزرعة زوائف، ٥٠ مزرعة كليسيلا، ٣٦ مزرعة راكدة، ١٤ مزرعة إشريكية قولونية.

2- إعادة استفراد المستعمرات بغية التأكد من كون المستعمرة نقية قبل تحسيسها.



الشكل (٩) طريقة الاستفراد المتبعة

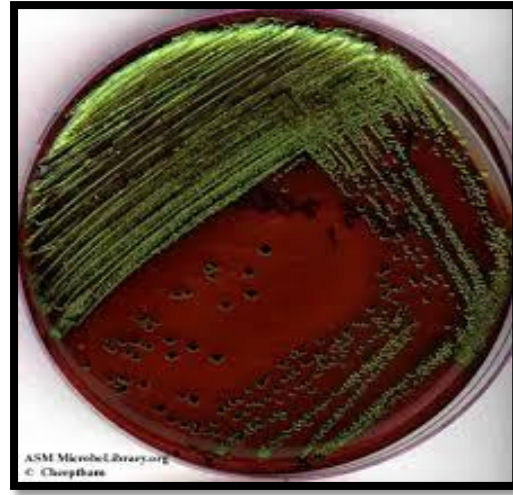
3- تحديد هوية الجرثوم بالطرق الاعتيادية:

- الصفات الشكلية للمستعمرة على EMB مع الاستفادة من خاصية تخمير اللاكتوز
- الفحص المجهرى للمستحلب الجرثومي
- الاستعانة بالأوساط التفريقية كليغلر و سيمون سترات
- اختبار الأوكسيداز

أ- شكل المستعمرة :

بعض الجراثيم تبدي شكلاً مميزاً على الأوساط مثل : اللمعة المعدنية للإشريكية القولونية

المظهر المخاطي للكليسيلا ، الحواف المشرشرة للزوائف .

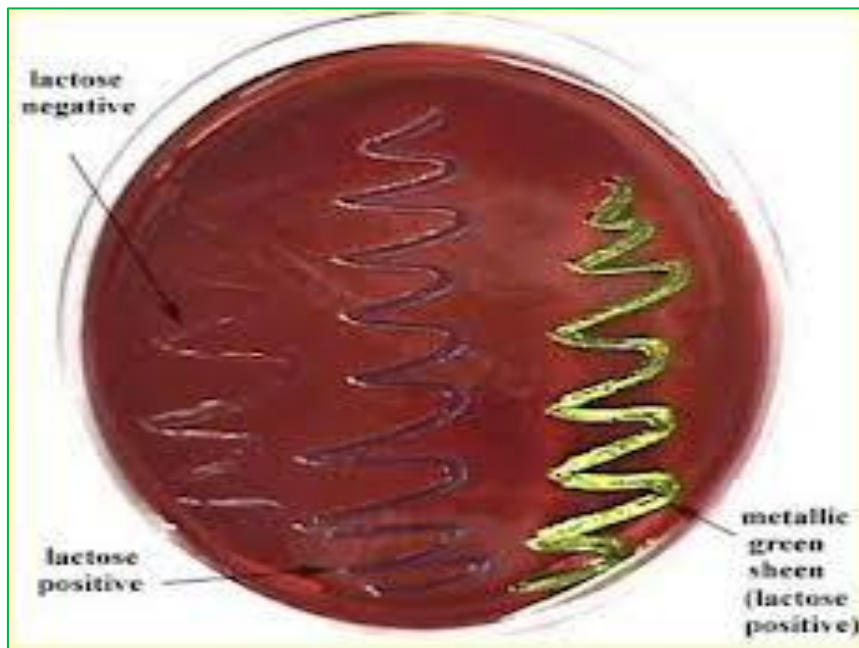


الشكل (١٠) اللثة المعرنية الخضراء للإشريكية الشكل (١١) مخاطية الكليبيسيلا

ب- صفة تخمير اللاكتوز على EMB:

تعتبر كل من الكليبيسيلا والإشريكية جراثيماً مخمرة

بينما الراكدة والزائفة غير مخمرة



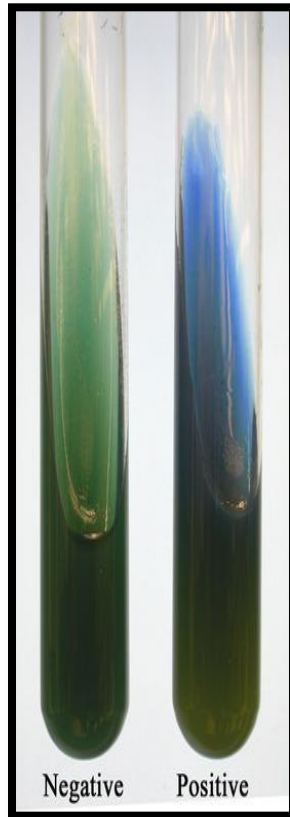
الشكل (١٢) صفة تخمير اللاكتوز

ج- تحديد بعض الصفات الكيميائية الحيوية:

١- الزرع على وسط كريغلر: الجدول (٩)

الأجناس الممثلة	H ₂ S	الغاز	القعر	السطح
الزائفة، الراكدة	-	-	قلوي	قلوي
الإشريكية، الكليسيلا، الأمعائية	-	+	حمضي	حمضي
الشيغلا، السيراتية	-	-	حمضي	قلوي
السلمونيلا، المتقلبة	+	+	حمضي	قلوي

Citrate utilization
reaction



الشكل (١٤)

وسط سيمون سيترات



Kligler Iron Agar (M078)

1. Control
2. Escherichia coli ATCC 25922
3. Enterobacter aerogenes ATCC 13048
4. Shigella flexneri ATCC 12022
5. Salmonella Paratyphi A ATCC 9150
6. Salmonella Typhi ATCC 6539
7. Proteus vulgaris ATCC 6380
8. Citrobacter freundii ATCC 8090
9. Salmonella Enteritidis ATCC 13076

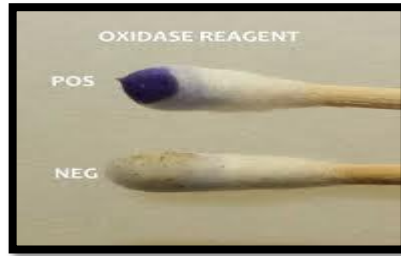
الشكل (١٣) وسط كليغلر

٢- وسط سيمون سترات: الجدول (١٠)

Genus	Citrate Utilization Reaction
<i>Citrobacter</i>	+ (Blue)
<i>Enterobacter</i>	+
<i>Escherichia</i>	- (Green)
<i>Klebsiella</i>	+
<i>Morganella</i>	-
<i>Proteus</i>	+/-
<i>Providencia</i>	+
<i>Salmonella</i>	+/-
<i>Serratia</i>	+
<i>Morganella</i>	-
<i>Shigella</i>	-

٣- اختبار الأكسيداز

إيجابي في حال كانت الجرثومة منتجة للسيتوكروم أكسيداز C



الشكل (١٥) اختبار الأكسيداز

والجراثيم إيجابية الأكسيداز هي:

Campylobacter spp ✓

Helicobacter spp ✓

Aeromonas spp ✓

Vibrio cholera ✓

Neisseria spp ✓

Pseudomonas spp ✓

Alcaligenes ✓

د- تلوين غرام

إذ تأخذ الراكدة غالباً شكل مكورات مزدوجات أو عصورات سلبية الغرام



الشكل (١٦) يظهر الجرثومة الراكدة بتلوين غرام

4- إجراء اختبار التحسس للعزلات السابقة بطريقة الانتشار القرصي على غراء مولر هنتون

بحيث نستعمل طريقة اختبار التآزر ثنائي القرص DDST

تبين تجريبياً أن البعد ١,٥ سم من المركز إلى المركز هو الأفضل لكشف أكبر عدد ممكن من

التآزرات في دراستنا إذ إن زيادة البعد إلى ٢ سم وإن كانت أظهرت بعض التآزرات إلا أنها

كانت تحول دون كشف التآزرات أحياناً ، الصورة (١) بينما إنقاصه إلى ١ سم كان يسبب

أحياناً تشويشاً في قراءة النتائج عند تقاطع أو تماس هالتي التثبيط بين القرصين المختبرين.

5- نحضن الأقراص بدرجة ٣٥ مئوية لمدة ١٨_٢٤ ساعة .

6- نقرأ النتائج حيث يبدي التآزر شكل عنق زجاجة الشامبانيا، الشكل الاهليجي، ثقب

المفتاح، منظر الشبح.



صورة (١): تآزر الكولستين مع الدوكسيسكلين تظهر أفضلية

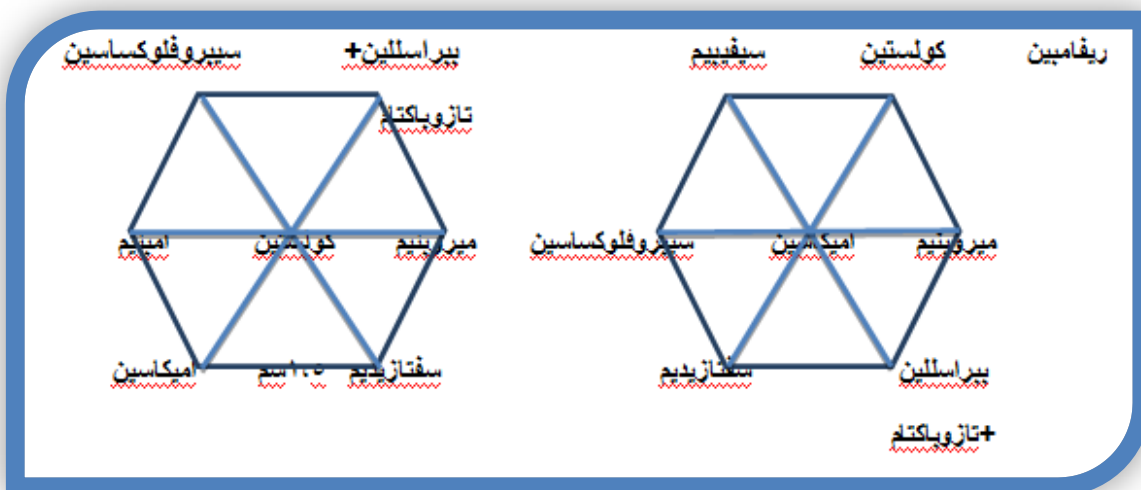
انتقاء البعد ١,٥ سم من المركز إلى المركز

لقد شملنا أثناء انتقاء الصادات لاختبار تآزرها تجاه الزوائف جميع الدراسات السابقة التي نجحت

في إظهار التآزر سواء عند الحي أو في الزجاج (٢٧، ٢٨، ٢٩، ٣٠، ٣٨، ٣٩، ٤٣، ٤٤،

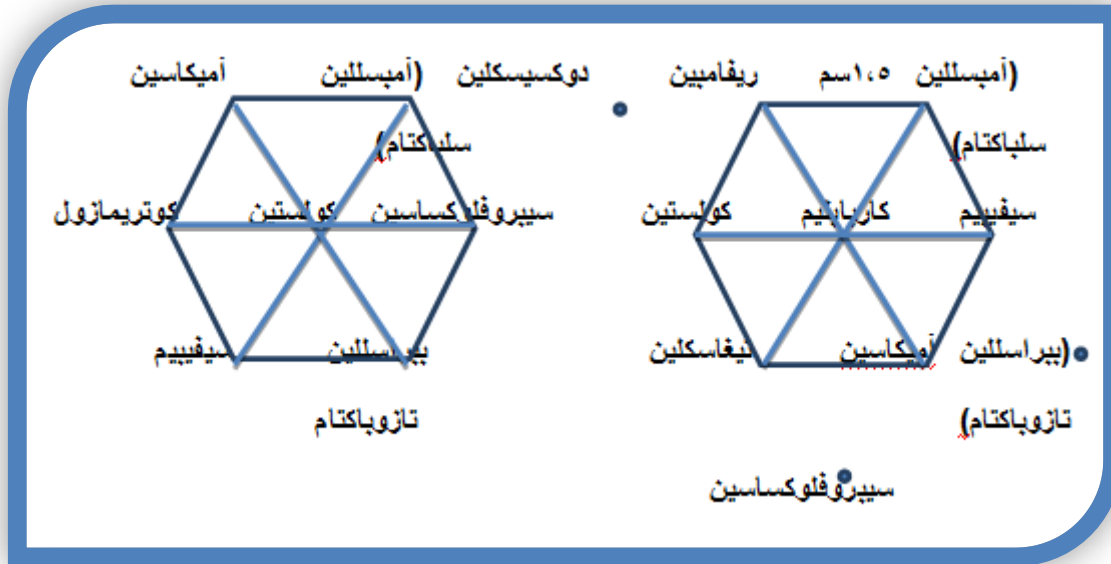
٤٥، ٤٧، ٥٠) بالإضافة إلى محاولتنا البحث عن تآزرات أخرى وإن لم نجد دراسات في

الزجاج قد بحثت عنها. الشكل (١٧)



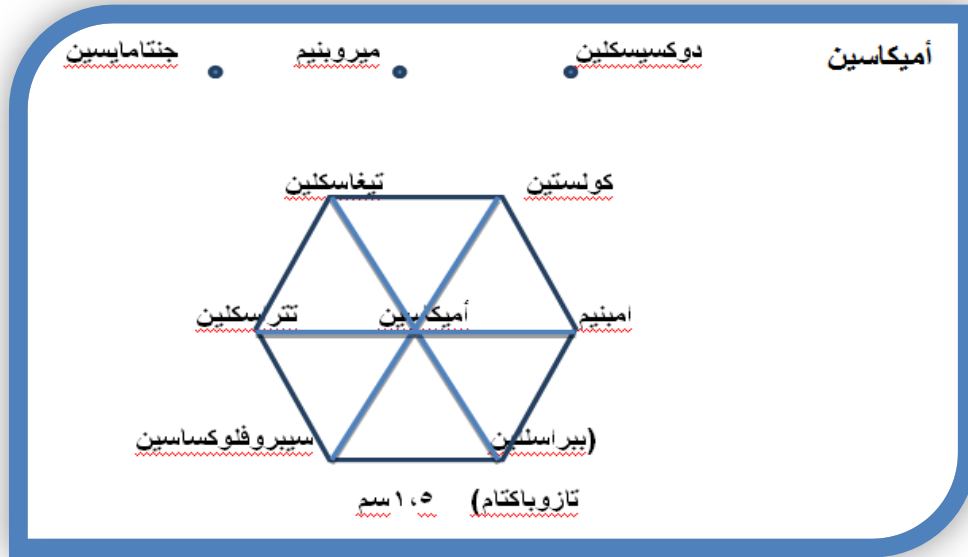
الشكل (١٧) يظهر طريقة صف الأقراص لاختبار تآزرها تجاه الزوائف

كما شملنا أثناء انتقاء الصادات لاختبار تأزرها تجاه الراكدة جميع الدراسات السابقة التي نجحت في إظهار التأزر سواء عند الحي أو في الزجاج (١٥، ١٦، ١٧، ٣٣، ٣٤، ٣٥، ٣٩، ٤٠، ٤٦، ٤٨، ٤٩) بالإضافة إلى محاولتنا البحث عن تأزرات أخرى وإن لم نجد دراسات في الزجاج قد بحثت عنها ، الشكل (١٨)



الشكل (١٨) يظهر طريقة صف الأقراص لاختبار تأزرها تجاه الراكدة

كذلك شملنا أثناء انتقاء الصادت لاختبار تآزرها تجاه الأمعائيات جميع الدراسات السابقة التي نجحت في إظهار التآزر سواء عند الحي أو في الزجاج (٧ ، ٨ ، ٩ ، ١٠ ، ٣١ ، ٣٢) بالإضافة إلى محاولتنا البحث عن تآزرات أخرى وإن لم نجد دراسات في الزجاج قد بحثت عنها،
الشكل (١٩)

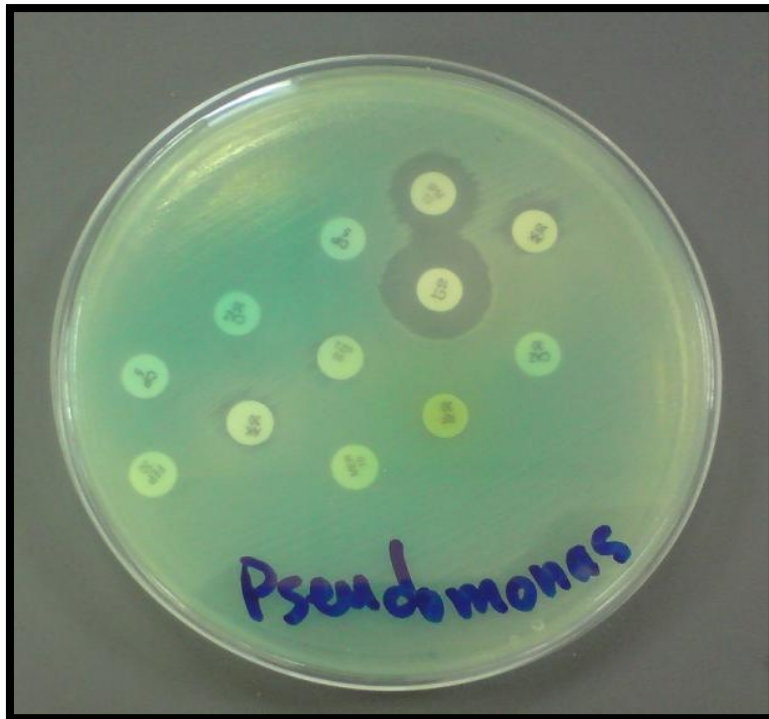


الشكل (١٩) يظهر طريقة صف الأقراص لاختبار تآزرها تجاه الأمعائيات

بعض نماذج العمل:



الصورة (٢) اختبار تآزر الصادات تجاه الراكدة



الصورة (٣) اختبار تآزر الصادات تجاه الزوائف

وهذه بعض أشكال التآزر التي ظهرت لدينا:



الصورة (٤) تآزر الأميكاسين مع الليبراسيلين تازوباكتام تجاه الزوائف



الصورة (٥) تآزر التيفاسكلين مع الأمبسلين سلباكتام على بعد ١ سم



الصورة (٦) تأزر الكولستين مع الامينيم تجاه الإشريكية القولونية



الصورة (٧) تأزر الامينيم مع الكولستين تجاه الزوائف

للتأكد من عدم وجود تأثير إضافي على التآزر من قبل الأقراص المجاورة أعدنا إجراء اختبار التحسس في اليوم التالي على القرصين المتآزرين فقط فلم نجد أي تأثير كهذا ، لكن التآزر لم يظهر عند إعادة إجراء هذا الاختبار على العزلات المحفوظة لفترة زمنية طويلة وليس لدينا تفسير لهذه الظاهرة.



الصورة (٨) تآزر الكولستين مع كل من الأميكاسين والكوتريمازول تجاه الراكدة



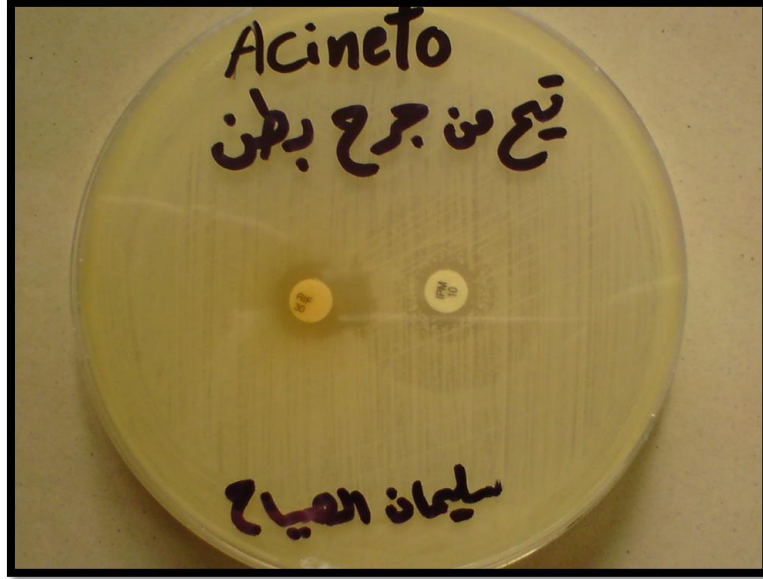
الصورة (٩) تآزر الريفامبين مع كل من الامبنيثم والأمبسلين سلباكتام تجاه الراكدة



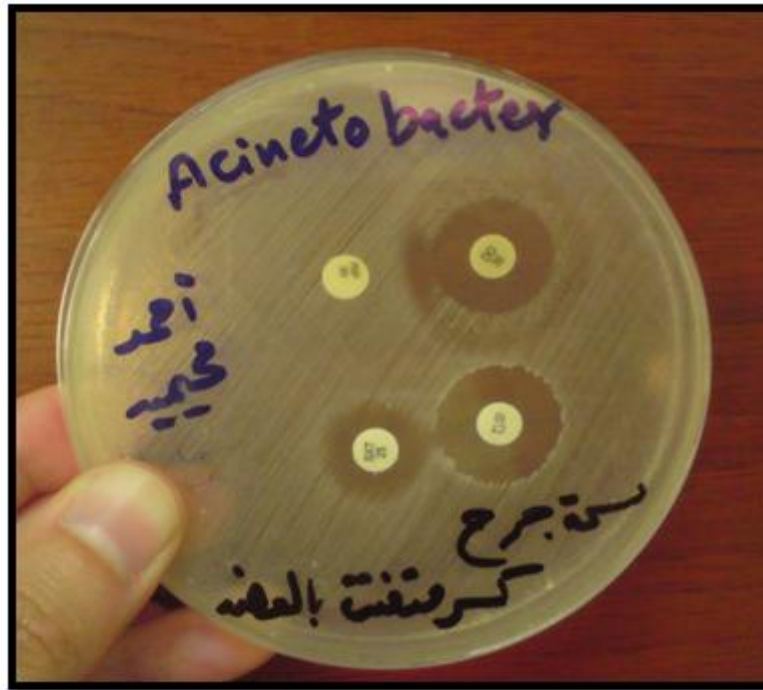
الصورة (١٠) تآزر السفتازديم مع الأميكاسين تجاه الزوائف



الصورة (١١) تآزر الأميكاسين مع البيراسلين تازوباكتام - الكولستين مع الامبينم تجاه الزوائف



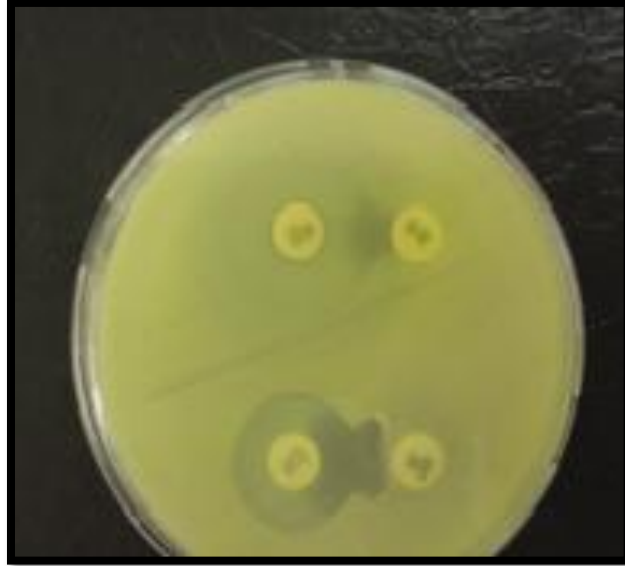
الصورة (١٢) تآزر الامينيم مع الريفامبين تجاه الراكة



الصورة (١٣) تآزر الدوكسيسكلين مع الريفامبين - الكولستين مع الكوتريمازول تجاه الراكة



الصورة (١٤) تآزر الأميكاسين مع كل من الامبنيوم والبيراسلين تازوباكتام تجاه الزوائف



الصورة (١٥) تآزر الدوكسيسكلين مع الريفامبين -الكولستين مع الكوتريمازول تجاه الراكدة

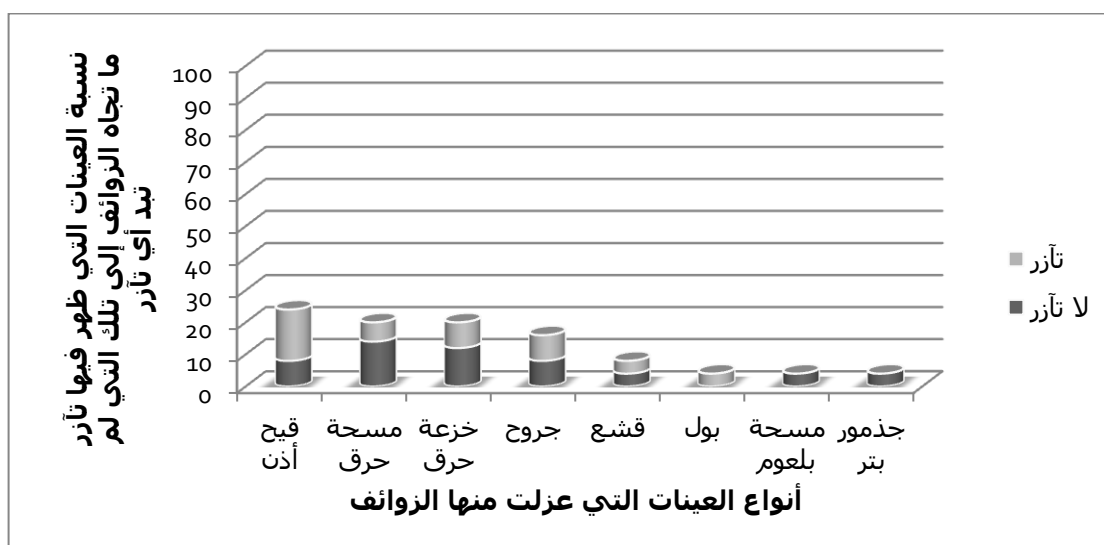


نتائج البحث

النتائج

تآزر الصادات تجاه الزوائف

الشكل (٢٠) نسب ظهور التآزر تجاه الزوائف باختلاف العينات التي عزلت منها



نلاحظ من الشكل (٢٠) أن أكبر نسبة لظهور الزوائف واسعة المقاومة كانت في عينات قيح

الأذن وتعادل 24% وأن التآزر ظهرت في ثلثي هذه العينات تليها مسحات وخزعات الحروق

بنسبة 20% وقد ظهر فيها التآزر بنسبة 60% لمسحات الحروق و 40% لخزعاتها

الجدول (١١) نسب ظهور التآثرات تجاه الزوائف باختلاف العينات التي عزلت منها

نوع العينة	نسبتها المئوية	نسبة العينات التي ظهر فيها التآثر	أنواع الصادات المتآثرة	نسبة ظهور كل زوج متآثر
مفرزات قححية أذنية	24%(12/50)	8/12	كولستين+بيراسللين تازوباكتام	2/12
			كولستين+أميكاسين	2/12
			كولستين+امبنيم	2/12
			بيراسللين تازوباكتام+أميكاسين	4/12
			أميكاسين+امبنيم	4/12
			أميكاسين+سفتازديم	2/12
			امبنيم+سيبروفلوكساسين	2/12
مسحة حرق	20%(10/50)	6/10	امبنيم+أميكاسين	4/10
			أميكاسين+بيراسللين تازوباكتام	4/10
			كولستين+سيبروفلوكساسين	4/10
			كولستين+ميروينيم	2/10
			كولستين+بيراسللين تازوباكتام	2/10
			كولستين+ريفامبين	2/10
خزعة حرق	20%(10/50)	4/10	كولستين+امبنيم	2/10
			امبنيم+أميكاسين	3/10
جروح	16%(8/50)	4/8	أميكاسين+بيراسللين تازوباكتام	4/8
			كولستين+ريفامبين	2/8
بول	4%(2/50)	2/2	امبنيم+كولستين	2/2

1/2	ريفامبين+كولستين			
_____	_____	0/2	4%(2/50)	مسحة بلعوم
2/4	امبنيـم+سيبروفلوكساسين	2/4	8%(4/50)	قشع
1/4	امبنيـم+أميكاسين			
_____	_____	0/2	4%(2/50)	جذموـر بتر

الجدول (١١) يظهر أن:

١- أكبر نسبة لظهور الزوائف واسعة المقاومة كانت في مفرزات قيح الأذن وتعاـدل ٢٤%

من عزلـات الزوائف . نسبة ظهور التآزرات في هذه العزلـات ١٢/٨ أي ثلثي عينات

الزوائف واسعة المقاومة. التآزر الأكثر تواتراً في هذه العينات كان بين الأميكاسين

والامبنيـم وبين الأميكاسين والبيراسلـلين تازوباكتام بنسبة ١٢/٤ أي ثلث عينات قيح

الأذن استجابت لمشاركة الأميكاسين مع الـامبنيـم أو مع البيراسلـلين تازوباكتام .

٢- ظهرت الزوائف واسعة المقاومة في كل من مسحات الحروق وخزعاتها بنسبة ٢٠% لكن

التآزرات التي ظهرت في مسحات الحروق أكثر عدداً وتنوعاً منها في خزعات الحروق.

التآزر الأكثر تواتراً كان بين الـامبنيـم والأميكاسين بنسبة ١٠/٣ أي ما يقارب ثلث عينات

خزعات الحروق المخموجة بالزوائف استجابت لمشاركة الـامبنيـم مع الأميكاسين. أما في

مسحات الحروق فإن أكبر تواتر لظهور التآزر كان بين (الأميكاسين_ امبنيـم)،

الأميكاسين_ بيراسلـلين تازوباكتام)،(كولستين_ سيبروفلوكساسين) بنسبة ١٠/٤ لكل منها

٣- عزلت الزوائف واسعة المقاومة من عينات الجروح بنسبة ١٦% من مجمل عزلـات

الزوائف وقد نجح تآزر البيراسلـلين تازوباكتام مع الأميكاسين في جميع هذه العينات.

٤- عزلت الزوائف واسعة المقاومة في عينات البول من عينتين فقط وقد نجح تأزر الامينيم

مع الكولستين في كليهما .

٥- عزلت الزوائف واسعة المقاومة من أربع عينات قشع وظهر تأزر السيبروفلوكساسين مع

الامينيم في عينتين منها .

٦- في حين لم نجد تأزراً في العينات التي عزلت من جذمور البتر أو مسحة البلعوم .

مجل التآزرات تجاه الزوائف

الشكل (٢١) النسب المئوية لتآزر الصادات تجاه الزوائف



نلاحظ من الشكل (٢١) أن الكولستين تآزر مع جميع الصادات المختبرة (الأميكاسين ، ريفامبين ، السيبروفلوكساسين ، الميرونيم ، الامينيم ، بيراسللين تازوباكتام ،) غير أنه لم ينجح في مؤازرة السفتازديم ولا السيفيم ، كما نلاحظ تآزر الأميكاسين مع الامينيم دون الميرونيم.

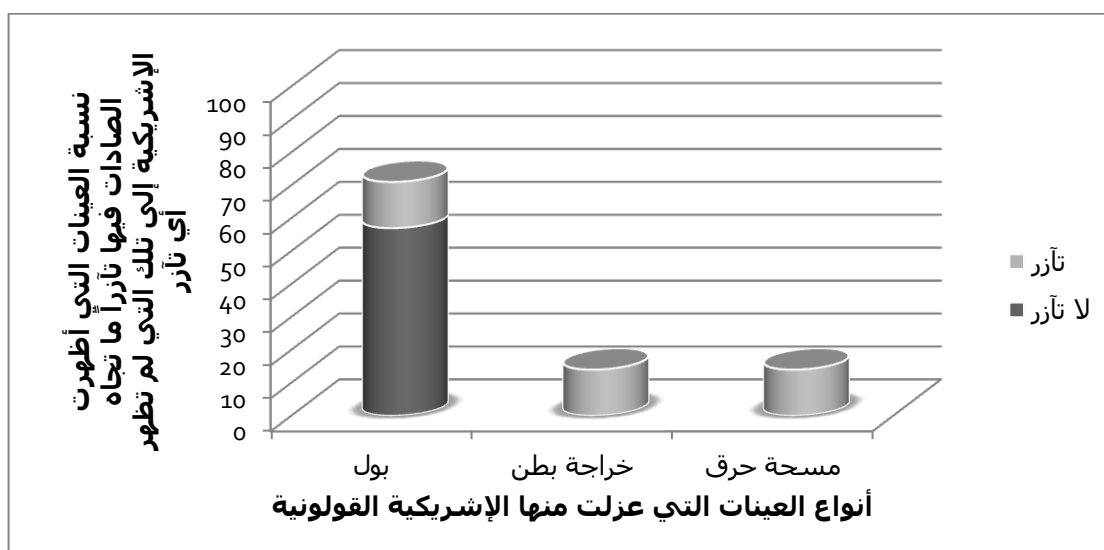
الجدول (١٢) النسب المئوية للصادات المتآزرة تجاه الزوائف

الصادان المتآزران	النسبة المئوية لتآزرهما
أميكاسين+امبنيم	24%
أميكاسين+بيراسللين تازوباكتام	24%
كولستين+امبنيم	12%
كولستين+ريفامبين	10%
كولستين+سيبروفلوكساسين	8%
كولستين+بيراسللين تازوباكتام	8%
سيبروفلوكساسين+امبنيم	8%
كولستين+أميكاسين	4%
كولستين+ميرونيم	4%
أميكاسين+سفتازديم	4%

نلاحظ من الجدول (١٢) أن أعلى نسبة للتآزر تجاه الزوائف حققها الأميكاسين إما مع الامبنيم أو البيراسللين تازوباكتام.

تآزر الصادات تجاه الإشرىكية القولونية

الشكل (٢٢) نسب ظهور التآزر تجاه الإشرىكية باختلاف العينات التي عزلت منها



الشكل (٢٢) يوضح أن أكبر نسبة لظهور الإشرىكية واسعة المقاومة كانت في عينات البول

بنسبة ٧١% من عزلات الإشريكية و قد بلغت نسبة ظهور التآزر فيها ٤٠%.

الجدول (١٣) نسب ظهور التآزر تجاه الإشريكية باختلاف العينات التي عزلت منها

نوع العينة	النسبة المئوية	نسبة العينات التي ظهر فيها تآزر	الصادات المتآزرة	نسبة ظهور كل زوج متآزر
بول	71% (10/14)	4/10	كولستين+دوكسيسكلين	2/10
			سيبروفلوكساسين+أميكاسين	2/10
خراجة بطن	14% (2/14)	2/2	كولستين+امينيم	2/2
مسحة حرق	14% (2/14)	2/2	تيغاسكلين+أميكاسين	1/2
			تيغاسكلين+ميروبنيم	1/2

في الجدول (١٣) نجد أن:

١- الإشريكية واسعة المقاومة عزلت من عشر عينات بول ، ظهر التآزر في أربع عينات

منها بحيث تآزر الكولستين مع الدوكسيسكلين في عينتين وتآزر الأميكاسين مع

السيبروفلوكساسين في العينتين الآخرين .

٢- عزلت الإشريكية واسعة المقاومة من خراجتي بطن وقد نجح تآزر الكولستين مع الامينيم

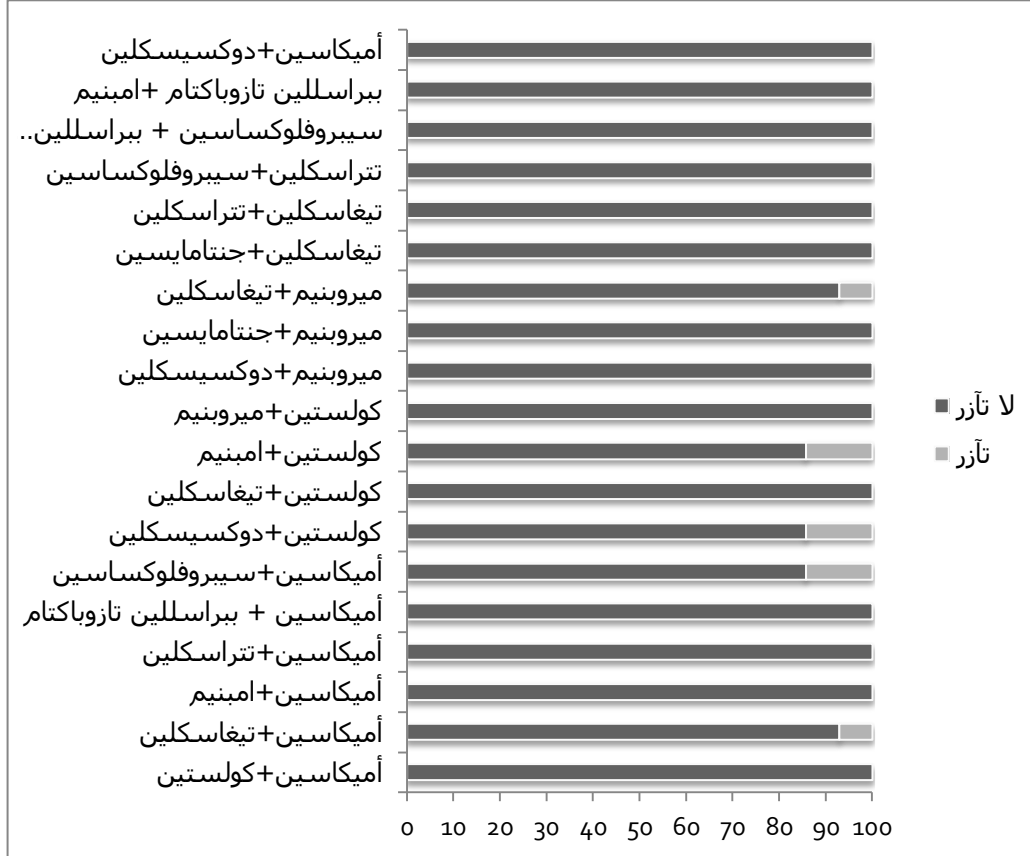
في كل منهما .

٣- عزلت الإشريكية واسعة المقاومة من مسحتي حرق وقد تآزر التيغاسكلين مع الأميكاسين

في إحداهما بينما تآزر التيغاسكلين مع الميروبنيم في الأخرى .

مجل التآزرز اتجاه الإشرىكة القولونية

الشكل (٢٣) النسب المئوية لتآزر الصادات تجاه الإشرىكة القولونية



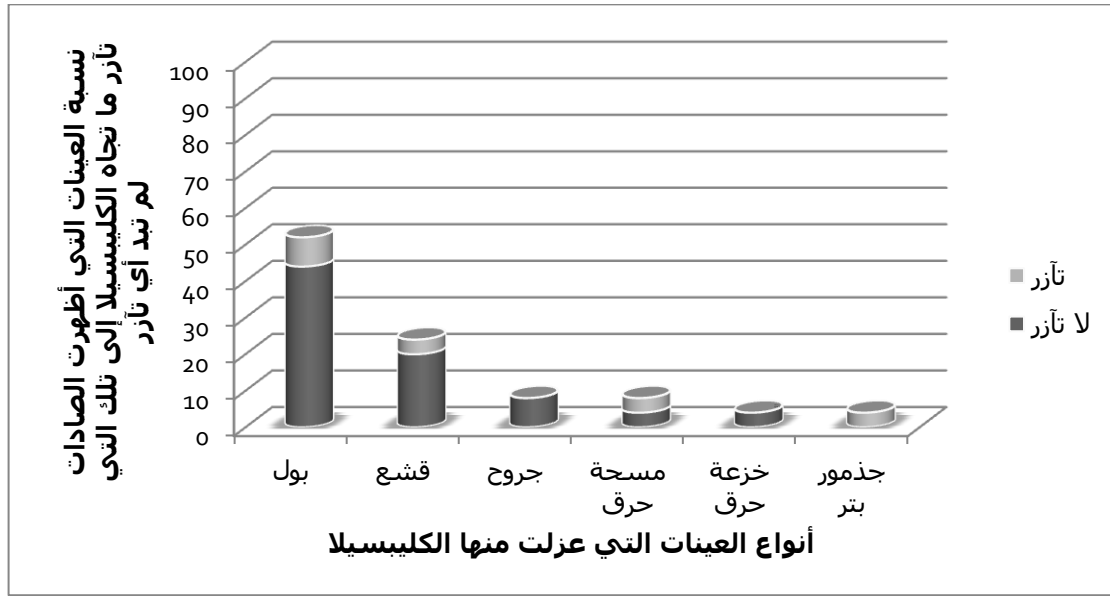
من الشكل (٢٣) يبدو أن تآزرز الإشرىكة قليلة العدد والتنوع إذ لم ينجح التآزر إلا في ٥ مشاركات اختبارها ، ولم نلاحظ تكراراً يميز أي صاد من الصادات المستخدمة لإعادة التفعيل صادات أخرى .

الجدول (١٤) النسب المئوية للصادات المتآزره تجاه الإشرىكة

الصادان المتآزران	النسبة المئوية لتآزرهما
سیبروفلوکساسین+ببراسلین تازوباكتام	14.29%
میرونیم+تیغاسکلین	7.14%
کولستین+امینیم	14.29%
کولستین+دوكسيسكلين	14.29%
أميكاسين+تیغاسکلین	7.14%

تآزر الصادات تجاه الكليسيلا

الشكل (٢٤) نسب ظهور التآزر تجاه الكليسيلا باختلاف العينات التي عزلت منها



الشكل (٢٤) يوضح أن أكبر نسبة لظهور الكليسيلا واسعة المقاومة كانت في عينات البول

بنسبة ٥٢% وأن نسب التآزر التي ظهرت في جميع عينات الكليسيلا كانت منخفضة

الجدول (١٥) نسب ظهور التآزر تجاه الكليسيلا باختلاف العينات التي عزلت منها

نوع العينة	النسبة المئوية	نسبة العينات التي ظهر فيها تآزر ما	الصادات المتآزرة	نسب ظهور الأزواج المتآزرة
بول	52%(26/50)	4/26	دوكسيسكلين+ميرونيم	2/26
			دوكسيسكلين+أميكاسين	3/26
			جنتاميسين+ميرونيم	2/26
قشع	24%(12/50)	3/12	دوكسيسكلين+أميكاسين	3/12

جروح	8%(4/50)	0/4	_____	_____
مسحة حرق	8%(4/50)	2/4	تيغاسكلين+أميكاسين	2/4
خزعة حرق	4%(2/50)	0/2	_____	_____
جذموه بتر	4%(2/50)	2/2	امينيم+بيراسلين تازوباكتام	2/2

من الجدول (١٥) نجد أن :

١- الكليبيسيلا واسعة المقاومة عزلت من ٢٦ عينة بول ظهر تآزر الصادات في ٤ عينات منها وقد تآزر الدوكسيسكلين مع الأميكاسين في ثلاث عينات منها وهو التآزر الأكثر تكراراً.

٢- عزلت الكليبيسيلا واسعة المقاومة من ١٢ عينة قشع نجح تآزر الدوكسيسكلين مع الأميكاسين في ثلاث منها فقط .

٣- عزلت الكليبيسيلا واسعت المقاومة من ٤ عينات جروح دون أن يظهر فيها أي تآزر ومن ٤ مسحات حروق تآزر التيغاسكلين مع الأميكاسين في عينتين منها أما في خزعة الحرق فلم يظهر أي تآزر وفي جذموه البتر تآزر الامينيم مع البيراسلين تازوباكتام .

مجل التآزرات تجاه الكليسيلا

الشكل (٢٥) النسب المئوية لتآزر الصادات تجاه الكليسيلا



نلاحظ من الشكل (٢٥) أن تآزرات الكليسيلا قليلة العدد و التنوع . لم ينجح التآزر إلا في ٥ مشاركات من ١٩ مشاركة اختبارناها والتآزر الأكثر تواتراً كان بين الأميكاسين والدوكسيسكلين ، والتآزرات الناتجة كانت تتضمن إما صاداً من مجموعة التتراسكلينات (الدوكسيسكلين أو التيغاسكلين) أو صاداً من مجموعة الكاربابنيمات (الامينيم أو الميرونيم).

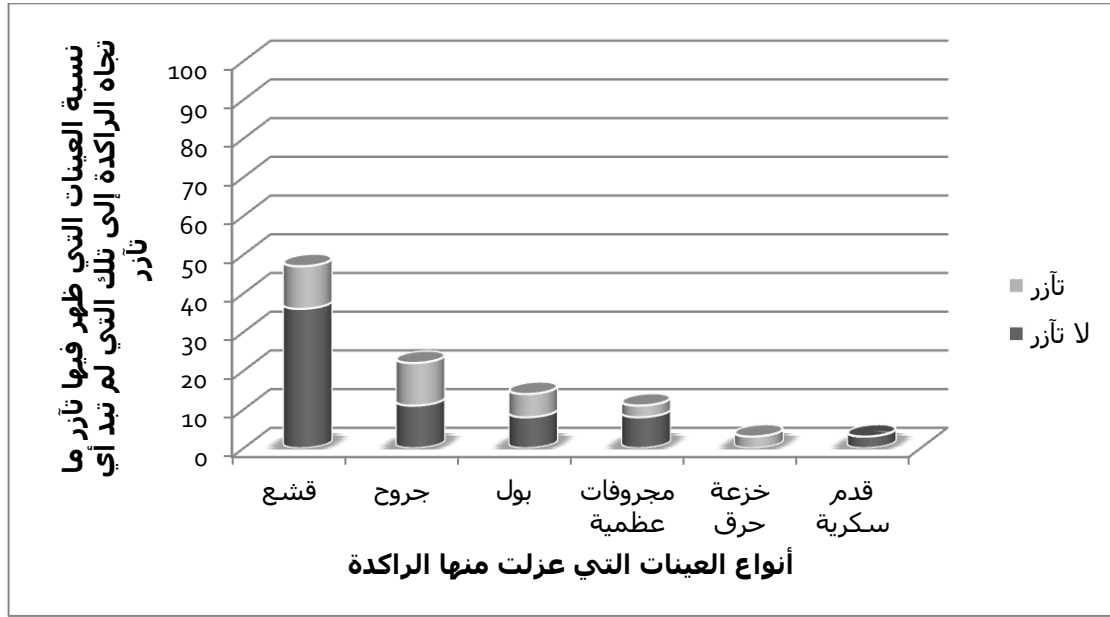
الجدول (١٦) النسب المئوية للصادات المتآزرة تجاه الكليسيلا

الصادان المتآزران	النسبة المئوية لتآزرهما
أميكاسين+دوكسيسكلين	12%
أميكاسين+تيغاسكلين	4%
ميروبنيم+جنتاميسين	4%
ميروبنيم+دوكسيسكلين	4%
امينيم+بيراسللين تازوباكتام	4%

نلاحظ من الجدول (١٦) أن أعلى نسبة للتآزر تجاه الكلبيسيلا كانت بين الأميكاسين والدوكسيسكلين.

تآزر الصادات تجاه الراكدة

الشكل (٢٦) نسب ظهور التآزر تجاه الراكدة باختلاف العينات التي عزلت منها



الشكل (٢٦) يوضح أن أكبر نسبة لظهور الراكدة واسعة المقاومة كانت في عينات القشع وقد نجح تآزر الصادات في ربع هذه العينات تقريباً تليها عينات الجروح وقد نجحت التآزر في نصف هذه العينات.

الجدول (١٧) نسب ظهور التآزر تجاه الراكدة باختلاف العينات التي عزلت منها

نوع العينة	النسبة المئوية	نسبة العينات التي ظهر فيها تآزر ما	الصادات المتآزرة	نسب ظهور الأزواج المتآزرة
قشع	47%(17/36)	4/17	تيغاسكلين+أمبسلين سلباكتام	1/17
			أميكاسين +كولستين	2/17
			ريفامبين +أمبسلين سلباكتام	1/17
جروح	22%(8/36)	4/8	ريفامبين +دوكسيسكلين	2/8

2/8	ريفامبين+امينيم			
1/8	ريفامبين+أميسلين سلباكتام			
1/8	كولستين+تريميتوبريم سلفا			
1/8	كولستين+دوكسيسكلين			
1/5	كولستين+ريفامبين	2/5	14%(5/36)	بول
1/5	كولستين+تريميتوبريم سلفا			
1/5	كولستين+أميكاسين			
1/4	كولستين+دوكسيسكلين	1/4	11% (4/36)	مجروفات عظمية
1/4	كولستين+دوكسيسكلين	1/1	3%(1/36)	خزعة حرق
_____	_____	0/1	3%(1/36)	قدم سكرية

من الجدول (١٧) نجد أن :

١- عزلت الراكدة واسعة المقاومة من ١٧ عينة قشع لم ينجح تآزر الصادات سوى في أربع

عينات منها. تكرر تآزر الكولستين مع الأميكاسين في عینتين من العينات الأربع.

٢- عزلت الراكدة واسعة المقاومة من ٨ عينات جروح نجح تآزر الصادات في نصف

العينات المعزولة وكانت تآزرات الريفامبين مع الدوكسيسكلين أو الامينيم هي الأكثر

تواتراً إذ ظهرت في عینتين من الثمانية .

٣- عزلت الراكدة واسعة المقاومة من ٥ عينات بول ظهر تآزر الكولستين مع الريفامبين في

أحدها وفي عينة أخرى تآزر الكولستين مع الأميكاسين ومع تريميتوبريم سلفا في ذات

العينة.

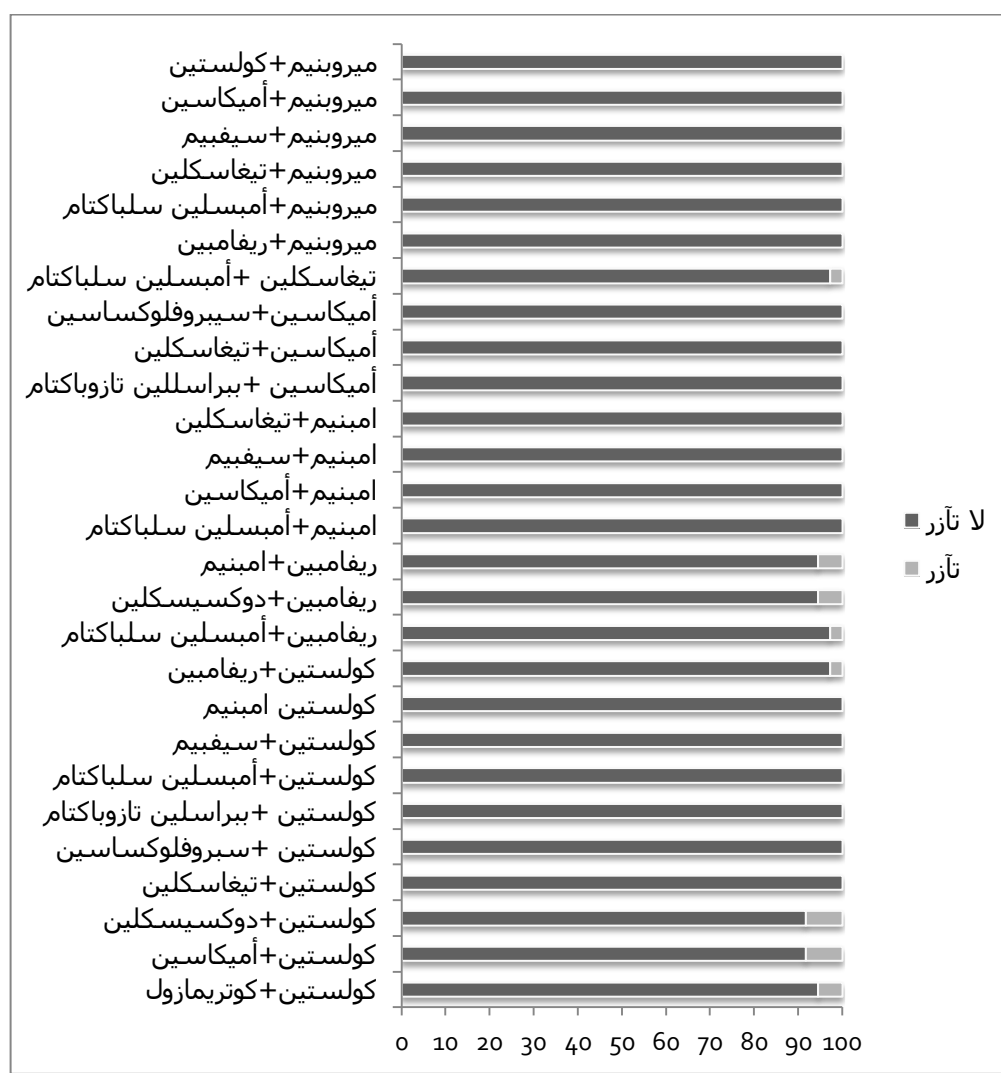
٤- عزلت الراكدة من ٤ مجروفات عظمية تآزر فيها الكولستين مع الدوكسيسكلين في عينة

واحدة فقط وظهر التآزر ذاته في راكدة معزولة من خزعة حرق بينما لم ينجح أي تآزر

في راكدة معزولة من قدم سكرية.

مجلد التآزر تجاه الراكدة

الشكل (٢٧) النسب المئوية لتآزر الصادات تجاه الراكدة



نلاحظ من الشكل (٢٧) أن الامينيم والميرونيم لم ينجحا في إظهار أي تآزر مع الصادات التي

اختبرناها وأن الصادين الأساسيين الذين نجحا في التآزر مع صادات أخرى هما الكولستين

والريفامبين.

الجدول (١٨) النسب المئوية للصادات المتآزرة تجاه الراكدة

الصادان المتآزران	النسبة المئوية لتآزرهما
تيغاسكلين + أمبسلين سلباكتام	2.8%
ريفامبين + امبنيم	5.5%
ريفامبين +دوكسيسكلين	5.5%
ريفامبين +أمبسلين سلباكتام	5.5%
ريفامبين +كولستين	2.8%
كولستين +دوكسيسكلين	8.3%
كولستين +أميكاسين	8.3%
كولستين + كوتريمازول	5.5%

نلاحظ من الجدول (١٨) أن أعلى نسبة للتآزر تجاه الراكدة حققها الكولستين مع الأميكاسين أو مع الدوكسيسكلين.

الجدول (١٩) مقارنة نسب التآزرات التي ظهرت في المشاركات

المطبقة على الأنواع الجرثومية الأربع

الصادات المتآزرة	الزوائف (50)	الكليسيلا (50)	الإشريكية (14)	الراكدة (36)
كولستين + امبنيم	12%	0%	14.29%	0%
كولستين + ميروبنيم	4%	0%	0%	0%
كولستين + أميكاسين	4%	0%	0%	8.3%
أميكاسين + بيراسللين تازوباكتام	24%	0%	0%	0%
أميكاسين + امبنيم	24%	0%	0%	0%

الجدول (٢٠) مقارنة نسب التآزرات التي ظهرت في المشاركات المطبقة

على كل من الكليبيسيلا والإشريكية والراكدة

الصادات المتآزرة	الكليبيسيلا(50)	الإشريكية(14)	الراكدة(36)
كولستين + تيغاسكلين	0%	0%	0%
كولستين + دوكسيسكلين	0%	14.29%	8,3%
أميكاسين + سيبروفلوكساسين	0%	14.29%	0%
أميكاسين + تيغاسكلين	4%	7.14%	0%
ميروبنيم + تيغاسكلين	0%	7.14%	0%

الجدول (٢١) مقارنة نسب التآزرات التي ظهرت في المشاركات المطبقة

فقط على الكليبيسيلا والإشريكية

الصادات المتآزرة	الكليبيسيلا(50)	الإشريكية(14)
أميكاسين + دوكسيسكلين	12%	0%
أميكاسين + تتراسكلين	0%	0%
سيبروفلوكساسين + تتراسكلين	0%	0%
بيراسللين تازوباكتام + امبنيم	4%	0%
تيغاسكلين + تتراسكلين	0%	0%
تيغاسكلين + جنتاميسين	0%	0%
ميروبنيم + جنتاميسين	4%	0%
ميروبنيم + دوكسيسكلين	4%	0%

الجدول (٢٢) مقارنة نسب التآزرات التي ظهرت في المشاركات المطبقة

فقط على الزوائف والراكدة

الراكدة(36)	الزوائف(50)	الصادات المتآزرة
2.8%	10%	كولستين + ريفامبين
0%	0%	كولستين + سيفييم
0%	8%	كولستين + بيراسللين تازوباكتام
0%	8%	كولستين + سيبروفلوكساسين

مناقشة النتائج

اختلفت نتائج التآزر التي ظهرت في كل جرثوم باختلاف العينات التي عزل منها هذا الجرثوم ربما بسبب اختلاف الصادات المطبقة على المريض باختلاف موضع الخمج أو ربما لاختلاف آليات المقاومة للصادات بين سلالة وأخرى .

لا توجد دراسة شبيهة بدراستنا لمقارنة النتائج بها لكن سألقي الضوء على نتائج أبحاث أخرى في الزجاج استخدمت طرفاً أخرى في كشف التآزر ومن المتوقع أن تختلف نتائج التآزر باختلاف الطرق المتبعة لكشف التآزر واختلاف السلالة المخبرية المستخدمة.

الزوائف

- لم تظهر دراستنا أي تآزر عند تطبيق صادين من البييتالاكتام : السفتازديم مع البراسللين تازوباكتام ولا عند اختبار هذا الأخير مع الميرونيم
- بينما تقيم checkerboard لتآزر الصادات تجاه الزوائف يشير إلى معدلات تآزر ٠-٢٥ % لصادين من البييتالاكتام (٣٦،٣٣)

- في دراستنا تآزر السيبروفلوكساسين مع الامينيم بنسبة ٨% ولم يظهر له تآزر مع السفتازديم ،السيفيم ،البراسللين تازوباكتام
- بينما كانت نسب التآزر تتراوح بين ٠-٣٠ % للبييتالاكتام مع فلوروكينولون بتقنية checkerboard (36,33,34) وبنسب تتراوح بين ٠-٥٠ % في الدراسات التي اعتمدت time kill (36,34)

- لم يظهر في دراستنا أي تآزر بين السيبروفلوكساسين والأميكاسين
- الدراسات التي اعتمدت time kill سجلت تآزراً بين الفلوروكينولون والأمينوغلوكوزيد بنسبة ٠-٢٧ % (34,36)
- بينما تقيم checkerboard أظهر تآزر الفلوروكينولون مع الأمينوغلوكوزيد بنسبة ٠-٣٣ % (33,34,36)

- تآزر الأميكاسين مع كل من البيراسلين تازوباكتام و الامينيم بنسبة ٢٤% لكل منهما في حين لم يظهر أي تآزر بين الأميكاسين والميروبنيم ولا مع السيفالوسبورينات بينما ظهر التآزر بنسبة ١٧-٠% للبيتالاكتام مع الأمينوغليكوزيد بتقنية checkerboard (33,34,36) وبنسبة ١٤-٥٠% بتقنية time kill (35,36)
- وقد تكرر ظهور التآزر بين الكولستين والريفامبين في العديد من الدراسات (48) وظهر هذا التآزر في دراستنا بنسبة ١٠%
- أظهرت دراسة أجريت في أمريكا تستخدم time kill تآزر الكولستين مع السفتازديم ولم تظهره مع السبروفلوكساسين (54) بينما في دراستنا لم يظهر تآزر للكولستين مع السفتازديم وحصلنا على تآزرات بنسبة ٨% بين الكولستين والسيبروفلوكساسين
- تآزر الكولستين مع الامينيم بنسبة ١٢% ومع الميروبنيم بنسبة ٤% في دراستنا بينما في دراسة أخرى أجريت في لبنان بتقنية Checkerboard تآزر الكولستين مع كل منهما بنسبة ٢٧% (60)
- كما شاهدنا تآزر الكولستين مع البيراسلين تازوباكتام بنسبة ٨% ومع الأميكاسين بنسبة ٤% دون أن تتوافر بيانات عن دراسات مماثلة في الزجاج لمقارنتها بها .

الأمعائيات

- لم يظهر في دراستنا على الكليسيلا والإشريكية القولونية أي تآزر بين التيغاسكلين والميروبنيم ولا بين التيغاسكلين والكولستين.
- بينما وجد في دراسة على ٨ ذراري من عائلة الأمعائيات أن مشاركة التيغاسكلين و الميروبنيم لم تبد تآزراً تجاه الذراري الثمانية بينما تآزر الكولستين مع التيغاسكلين تجاه تلك الذراري جميعاً (37)

- وفي دراسة على التآزر بين الامينيم والكولستين على-metallo-beta-lactamase-
producing K. Pneumoniae ظهر التآزر في ٥٠ % من العينات الحساسة
للكولستين بغض النظر عن حساسيتها للامينيم (38) بينما في دراستنا لم يظهر أي
تآزر بينهما.
- ومن مجمل التآزرات التي بحثنا عنها مع الأميكاسين لم يظهر التآزر إلا مع التيغاسكلين
بنسبة ٤% على الكليبيسلا و ٧,١٤% على الإشريكية القولونية ومع الدوكسيسكلين بنسبة
١٢% على الكليبيسلا دون الإشريكية ومع السيبروفلوكساسين بنسبة ١٤,٢٩% على
الإشريكية دون الكليبيسلا بينما لم نلاحظه مع كل من:
الكولستين، الامينيم، التتراسكلين، البيراسلين تازوباكتام وذلك على كل منهما.
- تآزر الكولستين مع الدوكسيسكلين والامينيم بنسبة ١٤,٢٩% لكل منهما في عينات
الإشريكية القولونية بينما لم يظهر أي تآزر بين الكولستين والميروبنيم في تلك العينات،
وبالمقابل فإن الكولستين في عينات الكليبيسلا لم يحقق أي تآزر سواء مع الدوكسيسكلين
،الامينيم أو الميروبنيم .
- تآزر الميروبنيم مع التيغاسكلين بنسبة ٧,١٤% في عينات الإشريكية القولونية بينما لم
يظهر أي تآزر في عينات الكليبيسلا وبالمقابل تآزر الميروبنيم مع كل من الدوكسيسكلين
و الجنتاميسين بنسبة ٤% بينما لم يظهر أي تآزر في عينات الإشريكية القولونية.
- لم نلاحظ أي تآزر للسيبروفلوكساسين مع التتراسكلين أو مع البيراسلين تازوباكتام في
عينات الكليبيسلا والإشريكية على حد سواء.
- وبينما ظهر تآزر بين الامينيم والبيراسلين تازوباكتام في عينات الكليبيسلا بنسبة ٨% لم
نلاحظ ذلك في عينات الإشريكية القولونية .
- ولم تتوفر بيانات عن دراسات في الزجاج شبيهة لكل ما بحثنا عنه من التآزرات السابقة

الراكدة

- ظهر تآزر الكولستين مع الريفامبين بنسبة ٢,٥% وهي نسبة منخفضة بينما في دراسة أجريت في المملكة المتحدة على ١٣ جرثومة راكدة استعملت طريقة checkerboard وصلت النسبة إلى ٨٥% (44) أو حتى ١٠٠% في دراسة أخرى (49)
- وباستعمال طريقة checkerboard تآزر الكولستين في دراسة تركية مع الميرونيم بنسبة ٦٠% بينما لم يظهر لدينا تآزر بين الكاربانيم والكولستين
- وظهر تآزر جزئي بين الكولستين والدوكسيسكلين بنسبة ٨٠% في ذات الدراسة بينما في دراستنا كانت النسبة ٨,٣% مع التتويه أن حجم عينة دراستنا على الراكدة كان ٣٦ بينما في الدراسة التركية ٥ فقط (49)
- كما أبدى الريفامبين تآزره مع كل من الدوكسيسكلين، الامينيم بنسبة ٥,٥% ومع الأمبسلين سلباكتام بنسبة ٢,٨%
- لم تظهر الكاربانيمات (الامينيم أو الميرونيم) أي تآزر مع الأميكاسين، الأمبسلين سلباكتام ، التيغاسكلين أو مع السيفييم
- كما لم نجد تآزراً بين الأميكاسين و السيبروفلوكساسين ، التيغاسكلين أو البراسلن تازوباكتام
- بينما تآزر التيغاسكلين مع الأمبسلين سلباكتام بنسبة ٢,٨%
- كما ظهر تآزر الكولستين مع كل من الأميكاسين و تريميميتوبريم سلفا بنسبة ٥,٥% لكل منهما بينما لم يتآزر الكولستين مع صادرات أخرى
اختبرناها (تيغاسكلين، سيبروفلوكساسين، سيفييم، امينيم)
- كما لم نجد في دراستنا تآزراً بين الكولستين والأمبسلين سلباكتام وهذا ما ظهر أيضاً في دراسة إيطالية على الراكدة إذ لم يظهر التآزر أيضاً بين الأمبسلين سلباكتام والكولستين

(43)

- أما عن باقي التآزرات التي بحثنا عنها فلم تتوفر أبحاث في الزجاج على تآزرات

مماثلة

الاستنتاجات

- لقد كشفت الطريقة المستخدمة تآزرات عديدة بين أنواع مختلفة من الصادات لكن نسب التآزرات عموماً كانت منخفضة .
- التآزرات التي ظهرت تجاه الزوائف كانت أكثر تنوعاً وينسب أعلى من التي ظهرت في باقي الجراثيم المدروسة وتعتمد بشكل أساسي على استخدام الكولستين أو الأميكاسين لإعادة تفعيل صادات أخرى والتآزر الأكثر تواتراً ظهر عند مشاركة الأميكاسين مع الامبنيم أو مع البيراسللين تازوباكتام.
- التآزرات التي ظهرت تجاه الراكدة كانت تعتمد على استخدام الكولستين أو الريفامبين بشكل أساسي كصاد محرض لإعادة تفعيل صادات أخرى والتآزر الأكثر تواتراً كان عند مشاركة الكولستين مع الدوكسيسكلين أو مع الأميكاسين.
- حقق تآزر الدوكسيسكلين مع الأميكاسين النسبة الأعلى للتآزرات التي ظهرت تجاه الكلييسلا بينما لم نجد في تآزرات الصادات تجاه الإشريكية القولونية تكراراً مميزاً ربما لصغر حجم العينة مقارنة بباقي الجراثيم المدروسة.

التوصيات والمقترحات

- وجدت دراستنا أفضلية لمشاركة الصادات إذ أن الصادات المقاومة قد تظهر فعالية تآزرية عند مشاركتها في الزجاج لكن أي توصية جديدة باستخدام العلاج التشاركي عند المريض يجب أن تبنى على دراسات سريرية مسندة بالدليل.
- أقترح:

- ١- إجراء دراسات لمعرفة الأساس الجزيئي للتآزر التي ظهرت لدينا .
- ٢- القيام بأبحاث أخرى لمقارنة طريقة التآزر ثنائي القرص بالطرق الأخرى المستخدمة لكشف التآزر في الزجاج لمعرفة حساسية هذا الاختبار في كشف التآزر على أن تجرى الاختبارات مباشرة على العزلات المأخوذة من العينات الطازجة ونتجنب تجميعها وحفظها لفترات طويلة.
- ٣- إجراء دراسات لمعرفة الحرائك الدوائية لكل مشاركة من هذه المشاركات للتعقب بقيمتها العلاجية عند المريض ومعرفة جدوى إدخال اختبار التآزر ثنائي القرص DDST كاختبار روتيني يجرى على كل جرثومة XDR تظهر في مشافينا كونه أسهل تطبيقاً وأرخص كلفة من اختبارات التآزر الأخرى .
- ٤- أن يجرى اختبار التآزر ثنائي القرص على الجراثيم المقاومة XDR التي تظهر في مشفى المواساة وأن تؤخذ المشاركات الدوائية التي أبدت تأثيراً تآزرياً بعين الاعتبار في ظل غياب الخيارات العلاجية حالياً ، وهذه المشاركات كما ظهرت في مشفى المواساة :

نوع العينة		الزوائف		الراكدة		الكليسيلا		الإشريكية	
التآزر الأكثر تواتراً	التآزر الأخرى	التآزر الأكثر تواتراً	التآزر الأخرى	التآزر الأكثر تواتراً	التآزر الأخرى	التآزر الأكثر تواتراً	التآزر الأخرى	التآزر الأكثر تواتراً	التآزر الأخرى
بول	امبينم+كولستين	ريفامبين+كولستين		كولستين+ ريفامبين كولستين+كوتريمازول كولستين+ أميكاسين	دوكسيسكلين + أميكاسين	دوكسيسكلين+ ميروينيم جنتاميسين+ ميروينيم		كولستين+ دوكسيسكلين سيبروفلوكساسين+ أميكاسين	
جروح	أميكاسين+ ببراسللين تازوباكتام	كولستين+ريفامبين	ريفامبين+ دوكسيسكلين ريفامبين+ امبينم	ريفامبين+أمسللين سلباكتام كولستين+كوتريمازول كولستين+دوكسيسكلين					
قشع	امبينم+ سيبروفلوكساسين	امبينم+أميكاسين	أميكاسين+ كولستين	أمسللين سلباكتام+ريفامبين أمسللين سلباكتام+تيغاسكلين	دوكسيسكلين+أميكاسين				
خزعة حرق	امبينم+أميكاسين	امبينم+كولستين		كولستين+دوكسيسكلين					
مجروفات عظمية				كولستين+دوكسيسكلين					
خراجة بطن								كولستين+امبينم	
مسحة حرق	امبينم+أميكاسين أميكاسين+ببراسللين تازوباكتام كولستين+ سيبروفلوكساسين	كولستين+ميروينيم كولستين+ببراسللين تازوباكتام كولستين+ريفامبين				تيغاسكلين+أميكاسين		تيغاسكلين+ أميكاسين تيغاسكلين+ميروينيم	

						أميكاسين+سفتازديم امينيم+ سيبروفلوكساسين كولستين+ ببراسلين تازوباكتام كولستين+أميكاسين كولستين+امينيم	أميكاسين+امينيم أميكاسين+ ببراسلين تازوباكتام	مفرزات قيحية أذنية
--	--	--	--	--	--	---	---	-------------------------------------

المراجع:

- (1) <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>
Antimicrobial resistance: global report on surveillance .April2014
- (2) Gregory Tallman, PharmD; Jeff Brock, PharmD. Pipeline or pipe dream: New antibiotics for multidrug-resistant gram-negative bacilli. Infectious Disease News, December 2013
- (3)Pranita D. Tamma, Sara E. Cosgrove and Lisa L. Maragakis . Combination Therapy for infections with Gram-Negative Bacteria. Clin. Microbiol. Rev. 2012, 25(3):450-470
- (4)Vikas Manchanda, Sinha Sanchaita, NP Singh.Multidrug Resistant Acinetobacter. .journal of global infectious diseases.2010,291-304
- (5)W. Lam. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. Bulletin of The Hong Kong Society For Infectious Diseases. 2005
- (6)A.-P. Magiorakos, A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske⁶, S. Harbarth, J. F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, D. L. Paterson, L. B. Rice, J. Stelling, M. J. Struelens, A. Vatopoulos, J. T. Weber and D. L. Monne. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. 2011 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI, 18, 268–281
- (7)Kumar A, Zarychanski R, Light B, Parrillo J, Maki D, Simon D, Laporta D, Lapinsky S, Ellis P, Mirzanejad Y, Martinka G, Keenan S, Wood G, Arabi Y, Feinstein D, Kumar A, Dodek P, Kravetsky L, Doucette S; Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock (CATSS) Database Research Group. Early combination antibiotic therapy yields improved survival compared with monotherapy in septic shock: a propensity-matched analysis. Crit Care Med. 2010 Sep;38(9):1773-85.

(8) McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. Emerg Infect Dis. 2006 Mar;12(3):409-15.

(9) Scott T, Micek, Ann E. Lloyd and Marin H. Kollef. Pseudomonas aeruginosa bloodstream infection: importance of appropriate initial antimicrobial treatment. Antimicrob Agents Chemother. April 2005 49:1306 – 1311

(10) Zubair A. Qureshi, David L. Paterson, Brian A. Potoski, Mary C. Kilayko, Gabriel Sandovsky, Emilia Sordillo, Bruce Polsky, Jennifer M. Adams-Haduch and Yohei D. Treatment outcome of bacteremia due to KPC-producing Klebsiella pneumoniae: superiority of combination antimicrobials regimens. Antimicrob. Agents Chemother. Apr 2012;56(4):2108-2113

(11) Tzouveleakis LS, Markogiannakis A, Psichogiou M, Tassios PT, Daikos GL. Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. Clin. Microbiol. Rev. 2012 Oct;25(4):682-707

12) Tumbarello M, Viale P, Viscoli C et al. Predictors of mortality in bloodstream infections caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae: importance of combination therapy. Clin Infect Dis. 2012 Oct;55(7):943-50.

(13) Grace C Lee and David S Burgess. Treatment of Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase (KPC) infections: a review of published case series and case reports. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. December 2012, 11:32.

(14) Hilf M, Yu VL, Sharp J, Zuravleff JJ, Korvick JA, Muder RR. Antibiotic therapy for Pseudomonas aeruginosa bacteremia: outcome correlations in a prospective study of 200 patients. Am J Med. 1989 Nov;87(5):540-6..

(15) . doiKumar A, Safdar N, Kethireddy S, Chateaud .A survival benefit of combination antibiotic therapy for serious infections associated with sepsis and septic shock is contingent only on the risk of death: a meta-analytic/meta-regression study .Crit Care Med. 2010 Aug;38(8):1651-64

(16)Cai Y, Chai D, Wang R, Liang B, Bai N. Colistin resistance of *Acinetobacter baumannii*: clinical reports, mechanisms and antimicrobial strategies. J Antimicrob Chemother. 2012 Jul;67(7):1607-15.

(17)Falagas ME, Rafailidis PI, Kasiakou SK, Hatzopoulou P, Michalopoulos A Effectiveness and nephrotoxicity of colistin monotherapy vs. colistin-meropenem combination therapy for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Clin Microbiol Infect. 2006 Dec;12(12):1227-30

(18)Lee NY, Wang CL, Chuang YC, Yu WL, Lee HC, Chang CM, Wang LR, Ko WC . Combination carbapenem-sulbactam therapy for critically ill patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: four case reports and an in vitro combination synergy study. Pharmacotherapy. 2007 Nov;27(11):1506-11.

(19)Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, Montero A, Angeles Dominguez M, et al. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. J Antimicrob Chemother 2006;58:697–700

(20)Motaouakkil S, Charra B, Hachimi A, Benslama A. Nosocomial pneumonia caused by multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* treated by colistin and rifampicin [in French]. Ann Fr Anesth Reanim 2006;25:543–4.

(21)Kenneth D. McClatchey . Clinical laboratory medicine. Second Edition 2002.p(1233)

(22) Roger L. White, David S. Burgess . Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard and E test. 1996 Aug;40(8):1914-8.

(23) Xiaofei Jiang, Zhe Zhang, Min Li, Danqiu Zhou, Feiyi Ruan and Yuan Lu Detection of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* .Antimicrob Agents Chemother. 2006 Sep;50(9):2990-5

(24) Shih-Ping Lin, Meei-Fang Liu, Chin-Fu Lin, Zhi-Yuan Shi Phenotypic detection and polymerase chain reaction screening of extended-spectrum β -lactamases produced by *Pseudomonas aeruginosa* isolates. Journal of microbiology ,immunology and infection 2012 Jun;45(3):200-7.

(25) Leila Azimi, Abdolaziz Rastegar Lari, [...], and Mosadegh Jabbari . Comparison between phenotypic and PCR for detection of OXA-23 type and metallo-beta-lactamases producer *Acinetobacter* spp. GMS Hyg Infect Control. 2013; 8(2): Doc16.

(26) Renata C. Picão, Soraya S. Andrade, Adriana Gianinni Nicoletti, Rodrigo E. Mendes and Ana C. Eloiza H. Campana, Gabriela C. Moraes. Metallo- β -Lactamase Detection: Comparative Evaluation of Double-Disk or VIM-Producing .Synergy versus Combined Disk Tests for IMP-, GIM-, SIM-, Isolates. J. Clin. Microbiol. June 2008

(27) Chan, E. L., and R. J. Zabransky. Determination of synergy by two methods with eight antimicrobial combinations against tobramycin-susceptible and tobramycin-resistant strains of *Pseudomonas*. Diagn Microbiol Infect Dis. 1987 Feb;6(2):157-64.

(28) Moody JA, Gerding D N, and Peterson LR. Evaluation of ciprofloxacin's synergy with other agents by multiple in vitro methods. Am. J. Med. 1987 Apr 27;82(4A):44-54.

- (29)Norden C W, H. Wentzel, and E. Keleti. Comparison of techniques for measurement of in vitro antibiotic synergy. J Infect Dis. 1979 Oct;140(4):629-33.
- (30)Robinson A, R C. Bartlett, and M F. Mazens. Antimicrobial synergy testing based on antibiotic levels, minimal bactericidal concentration, and serum bactericidal activity. Am J Clin Pathol. 1985 Sep;84(3):328-33.
- (31)Ryan R W, I Kwasnik, and R C Tilton. Methodological variation in antibiotic synergy tests against enterococci. J Clin Microbiol. 1981 Jan;13(1):73-5.
- (32)Weinstein R J, L S Young, and W L. Hewitt. Comparison of methods for assessing in vitro antibiotic synergy against *Pseudomonas* and *Serratia*. J Lab Clin Med. 1975 Nov;86(5):853-62.
- (33)Song W, Woo HJ, Kim JS, Lee KM. In vitro activity of β -lactams in combination with other antimicrobial agents against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Antimicrob Agents 2003;21:8-12.
- (34)Drago L, DeVecchi E, Nicola L, Colombo A, Guerra A, Gismondo MR. Activity of levofloxacin and ciprofloxacin in combination with cefepime, ceftazidime, imipenem, piperacillin-tazobactam and amikacin against different *Pseudomonas aeruginosa* phenotypes and *Acinetobacter* spp. Chemotherapy 2004;50:202-10.
- (35)Oie S, Uematsu T, Sawa A, et al. In vitro effects of combinations of antipseudomonal agents against seven strains of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Antimicrob Chemother 2003;52:911-14.
- (36) Obritsch MD, Fish DN, MacLaren R, Jung R. Nosocomial infections due to multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: epidemiology and treatment options. Pharmacotherapy. 2005 Oct;25(10):1353-64.

(37) Pournaras S, Vrioni G, Neou E et al. Activity of tigecycline alone and in combination with colistin and meropenem against *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae strains by time-kill assay. *Int J Antimicrob Agents*. 2011 Mar;37(3):244-7.

(38) Souli M, Rekatsina PD, Chrysosouli Z, Galani I, Giamarellou H, Kanellakopoulou K. Does the activity of the combination of imipenem and colistin in vitro exceed the problem of resistance in metallo-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates? *Antimicrob Agents Chemother*; 53(5): 2133-5, 2009 May.

(39) Chen YH, Peng CF, Lu PL, Tsai JJ, Chen TP. In vitro activities of antibiotic combinations against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Kaohsiung J Med Sci*. 2004 Jun;20(6):261-7.

(40) Lee NY, Wang CL, Chuang YC, Yu WL, Lee HC, Chang CM, Wang LR, Ko WC. Combination carbapenem-sulbactam therapy for critically ill patients with multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: four case reports and an in vitro combination synergy study. *Pharmacotherapy*. 2007 Nov;27(11):1506-11.

(41) Madhuri M. Sopirala, Julie E. Mangino, Wondwossen A. Gebreyes, Beth Biller, Tammy Bannerman, Joan-Miquel Balada-Llasat, and Preeti Pancholi. Synergy Testing by Etest, Microdilution Checkerboard, and Time-Kill Methods for Pan-Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, Nov. 2010, p. 4678–4683

(42) N. Petrosillo, E. Ioannidou and M. E. Falagas.

Colistin monotherapy vs. combination therapy: evidence from microbiological, animal and clinical studies *Clinical Microbiology and Infection*. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Sep;14(9):816-27.

(43)Tascini C, Menichetti F, Bozza S, Del Favero A, Bistoni F.Evaluation of the activities of two-drug combinations of rifampicin, polymyxin B and ampicillin/sulbactam against *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 1998; 42:270-271.

(44)Hogg GM, Barra JG, Webb CH. In-vitro activity of the combination of colistin and rifampin against multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii*. J Antimicrob Chemother 1998; 41: 494–495.

(45)Giamarellos-Bourboulis EJ, Xirouchaki E, Giamarellou H. Interactions of colistin and rifampicin on multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. Diagn Microbiol Infect Dis 2001 Jul;40(3):117-20.

(46)Giamarellos-Bourboulis EJ, Karnesis L, Giamarellou H. Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 263–259

(47)Giamarellos-Bourboulis EJ, Sambatakou H, Galani I, Giamarellou H. In vitro interaction of colistin and rifampin on multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. J Chemother 2003 ,15:235-238

(48) Tascini C, Gemignani G, Ferranti S et al. Microbiological activity and clinical efficacy of rifampin combination in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. J Chemother 2004; 16: 282–287.

(49)Timurkaynak F, Can F, Azap OK, Demirbilek M, Arslan H, Karaman SO. In vitro activities of non-traditional antimicrobials alone or in combination against multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from intensive care units. Int J Antimicrob Agents 2006; 27: 224–228.

- (50) Song JY, Kee SY, Hwang IS et al. In vitro activities of carbapenem/sulbactam combination, colistin, colistin/rifampicin combination and tigecycline against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 317–322.
- (51) Li J, Nation RL, Owen RJ, Wong S, Spelman D, Franklin C. Antibiofilms of multidrug-resistant clinical *Acinetobacter baumannii*: promising therapeutic options for treatment of infection with colistin-resistant strains. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 594–598.
- (52) Rynn C, Wootton M, Bowker KE, Alan Holt, Reeves DS. In vitro assessment of colistin's antipseudomonal antimicrobial interactions with other antibiotics. *Clin Microb Infect* 1999; 5: 32–36
- (53) Cirioni O, Ghiselli R, Silvestri C et al. Efficacy of tachyplesin III, colistin, and imipenem against a multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2005–2010.
- (54) Gunderson BW, Ibrahim KH, Hovde LB, Fromm TL, Reed MD, Rotschaher JC. Synergistic activity of colistin and ceftazidime against *aeruginosa* in an in vitro multi-antibiotic-resistant *Pseudomonas* pharmacodynamic model. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47: 905–909.
- (55) Hill D, Rose B, Pajkos A et al. Antibiotic susceptibilities of *Pseudomonas aeruginosa* isolates derived from patients with cystic fibrosis under aerobic, anaerobic, and biofilm conditions. *J Clin Microb* 2005; 43: 5085–5090.
- (56) Tan TY, Ng LS, Tan E, Huang G. In vitro effect of minocycline and colistin combinations on imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 421–423.
- (57) Chandrasekar PH, Crane LR, Bailey EJ. Comparison of the activity of antibiotic combinations in vitro with clinical outcome and resistance

emergence in serious infection by *Pseudomonas aeruginosa* in non-neutropenic patients. *J. Antimicrob. Chemother.* 1987 19:321–329

(58) Bodey GP, Elting LS, Rodriguez S. Bacteremia caused by *Enterobacter*: 15 years of experience in a cancer hospital. *Rev Infect Dis.* 1991. 13:558-550

(59) De Jongh CA, Joshi JH, Newman KA, Moody MR, Wharton R, Standiford HC, Schimpff SC. Antibiotic synergism and response in gram-negative bacteremia in granulocytopenic cancer patients. *Am J Med.* 1986 May 30;80(5C):96-100.

(60) Ziad Daoud, Najwa Mansour, Khalil Masri . Synergistic Combination of Carbapenems and Colistin against *P. aeruginosa* and *A. baumannii* . *Open Journal of Medical Microbiology*, 2013, 3, 253-258