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

تحري السلالات الجرثومية المنتجة للبيتالاكتاماز واسعة الطيف في الجراثيم سلبية الغرام المعزولة من عينات مرضية عند مرضى مشافي جامعة دمشق

Detection of extended spectrum beta lactamase producing bacterial strains in gram negative bacteria isolated from infectious specimens of patients of educational hospitals of Damascus university

بحث علمي أعد لنيل شهادة الدراسات العليا "الماجستير"

في الطب المخبري

بإشراف
الأستاذ المساعد الدكتور
صلاح شحادة

برئاسة
الأستاذة الدكتورة
تهاني العلي

إعداد طالبة الدراسات العليا
د. سماح محمد نور السباعي

٢٠١٥ م

بسم الله الرحمن الرحيم

كلمة شكر وتقدير

الحمد لله الذي وفقني لإتمام هذه الرسالة. ويسر لي أسباب ذلك. وهيأ لي من يعينني عليه.

وأتوجه بالشكر الجزيل لكل من ساهم في إتمامها.

وأخص بالذكر:

الأستاذ الدكتور صلاح شحادة المشرف على رسالتي والذي لم يبخل بعلمه وخبرته وحكمته..

الدكتورة عبير الكفري التي كانت ولاتزال نبعاً للعطاء والدعم لي ولكل طلابها..

المشرفة خانم مدور والتي أمدتني بمساعدتها بكل اهتمام..

المخبريتان هيفاء عراط وآلاء المعطي من مشفى المواساة.

صديقتي وأختي الغالية الدكتورة هلا البديوي التي أعجز عن شكرها لدعمها وتفانيها الدائمين..

أبواي الحبيبان..

أخواتي الدكتورة علا التباع والدكتورة إسراء ذياب والدكتورة براء زنبركجي..

إلى كل من مد لي يد الإحسان بكل حب وصادق دعاء..

المحتويات

القسم الأول : القسم النظري

- **المقدمة**
- **الإمعائيات**
- **الإمراضية**
- **المستضدات**
- **أفراد عائلة الإمعائيات**
- **إنتانات سلبيات الغرام في المشافي والمجتمع**
- **الأمراض الناجمة عن عائلة الإمعائيات**
- **صادات البيتالاكتام:**

١. **البنسلينات**

٢. **السيفالوسبورينات**

٣. **الكاربابينيمات**

٤. **وحيدات الباكتام**

- **مقاومة الصادات الحيوية**
- **التبدلات الوراثية التي تؤدي إلى المقاومة الدوائية**
- **آليات المقاومة الدوائية**
- **أنزيمات البيتا-لاكتاماز**

١. **التصنيف الجزيئي**

٢. **التصنيف الوظيفي**

- **ماهي البيتالاكتامازات واسعة الطيف ESBL**
- **تحري ESBL**
- **العدوى والانتشار**
- **المعالجة**
- **الوقاية**

القسم الثاني : الدراسة العملية

هدف البحث

مواد وطرائق الدراسة

- **مكان الدراسة**
- **زمان الدراسة**
- **مجموعة الدراسة**
- **حجم العينة**
- **معايير إدراج المرضى في الدراسة**

طرائق الدراسة

١- ملء الاستمارة الخاصة بالدراسة

٢- جمع العينات

٣- التعامل مع العينات وخطوات العمل

- **نتائج الدراسة**

- **الدراسات المقارنة**
- **مناقشة النتائج**
- **التوصيات والمقترحات**
- **المراجع**

المقدمة :

تشكل الإنتانات بالجراثيم سلبية الغرام نسبة هامة من الإنتانات المشفوية والمجتمعية بما فيها المهددة للحياة وتطور حديثاً بين هذه الجراثيم نمط جديد من المقاومة قد يحول هذه الإنتانات إلى إنتانات غير قابلة للعلاج .

لذا تجري جهودٌ كبيرةٌ حالياً لتحديد نسبة انتشار هذه الجراثيم سواءً في المجتمع أو المشافي ، وتعيين الصادات الأكثر تأثيراً فيها، وذلك بهدف تحديد طرق علاجية فعالة جديدة لمعالجتها وتحديد الطرق المناسبة للوقاية من أخماجها ومن زيادة انتشارها.

ترتبط كفاءة الصادات الحيوية في علاج الإنتانات المختلفة بعوامل عدة من أهمها قدرة الجرثوم على مقاومة الصاد المستخدم والذي يرتبط بشكل كبير بمدى تعرض تلك الجراثيم للصادات الحيوية. فرغم النجاح الكبير الذي تم تحقيقه من اكتشاف الصادات الحيوية وتطوير الصناعات الدوائية وعلاج الأمراض الإنتانية فإن العديد من الأمراض الجرثومية لا تزال تنتظر علاجاً جديداً أكثر فاعلية، بسبب تطور مقاومة الذراري الجرثومية للصادات الحيوية وتعدد مقاومتها Multi Resistance بسبب تعرضها المستمر للصادات الحيوية وسوء استعمالها.

ونظراً لأهمية هذه الذراري وقدرتها على مقاومة عدد كبير من الصادات شائعة الاستخدام والتي تنتمي إلى مجموعة صادات البيتا لاكتام فقد أطلق عليها اسم الذراري المنتجة للبيتالاكتاماز واسعة الطيف Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL).

الأمعائيات:

تشكل العصيات سلبية الغرام الشكل الأوسع انتشاراً من الجراثيم سلبية الغرام حيث تحوي عائلة الأمعائيات ذات الإمراضية الأكثر شيوعاً وانتشاراً بين كل عائلات الجراثيم الأخرى ، وهي عائلة كبيرة تتواجد في القولون عند الإنسان وبعض الحيوانات، كثير منها كجزء من النبيت الطبيعي وهي الجزء الأكبر من الجراثيم اللاهوائية المخيرة في الأمعاء الغليظة وعددها قليل مقارنة مع الجراثيم اللاهوائية المجبرة المتعايشة فيها مثل العصوانيات. بالرغم من جمع أعضاء عائلة الإمعائيات معاً من الناحية التصنيفية إلا أن تلك الجراثيم تسبب جملة من الأمراض بآليات إمراضية مختلفة.

الصفات المشتركة لجميع أفراد هذه العائلة غير المتجانسة هي توضعها التشريحي والعمليات الاستقلابية الأربع التالية:

- هي جراثيم لاهوائية مخيرة
- جميعها يخمر الغلوكوز

- سلبية الأوكسيداز
- ترجع النترات إلى نتريت كجزء من عملية توليد الطاقة.

يمكن استخدام هذه التفاعلات الأربع لتفريق الأمعائيات عن مجموعة أخرى هامة طبياً من العصيات سلبية الغرام غير المخمرة وعلى رأسها الزوائف الزنجارية.[١]

الإمراضية:

جميع أفراد الأمعائيات تملك الذيفان الداخلي في جدارها الخلوي كونها سلبية الغرام بالإضافة إلى إنتاج عدة ذيفانات خارجية تدعى بالذيفانات المعوية تفعل الأدنيل سيكلاز ضمن خلايا الأمعاء الدقيقة مسببةً الإسهال.[١]

المستضدات:

إن مستضدات عدة أجناس من الأمعائيات خاصة السالمونيلا والشيغيلة هي مهمة في تحديد هويتها ومن أجل التحريات الوبائية. **المستضدات السطحية الثلاث هي:**

مستضد الجدار الخلوي (المستضد الجسمي O): هو الجزء الخارجي من عديد السكاريد الشحمي. المستضد O يتألف من قليلات سكاريد متكررة تتألف من ثلاث أو أربع سكاكر تتكرر ١٥–٢٠ مرة وهو الأساس في التنميط المصلي لكثير من العصيات المعوية. إن عددمستضداتO المختلفة هو كبير جداً حيث يوجد حوالي ١٥٠٠ نمط من السالمونيلا و١٥٠ نمط من الإشريكية الكولية.

*المستضدH:*هو بروتين سوطي، يوجد فقط عند الجراثيم ذات السياط مثل الإشريكية والسالمونيلا بينما تفتقده الجراثيم غير المتحركة مثل الكلبيسيلاوالشيغلا. هناك مستضداتHغيراعتيادية لأنواع معينة من السلمونيلة لأن هذه الجراثيم يمكنها تبديل متناوب قابل للرجوع بين نمطين من المستضد Hيدعيان الطور ١ والطور ٢. يمكن استخدام التبديل المستضدي للهروب من الجواب المناعي.

*المستضد المحفظي أو المستضد عديد السكاريدK:*هو مستضد مسيطر في الجراثيم الممحفظة بشدة مثل الكلبيسيلا. يحدد هذا المستضد باختبار نوعي (انتفاخ المحفظة) بوجود مصل ضدي نوعي ويستخدم لتنميط الإشريكية والسلمونيلة التيفية في التحريات الوبائية. يدعى هذا المستضد في السلمونيلة التيفية بالمستضد الفوعي Vi.[١]

أفراد عائلة الأمعائيات: [٢]

ESHERICHIEAE	Escherichia		**KLEBSIELLEAE**	Enterobacter	Cloacae
	Shigella				Sakazakii
EDWARDSIELLEAE	Edwardsiella				Gergoviae
SALMONELLEAE	Salmonella				Aerogenes
	Arizona				Agglomerans
	Citrobacter	Freundii		Hafnia	Alviei
		Amalonaticus		Serratia	Marcescens
		Diversus			Liquefacinens
PROTEEAE	Proteus	Vulgaris			Rubidaea
		Mirabilis		Klebsiella	Pneumoniae
	Morganella	Morganii			Oxytoca
	Providencia	Alcalifaciens			Ozaenae
		Stuatii			Rhinoshleromatis
		Rettgeri	**YERSNIEAE**	Yersinia	Enterocolitica
					Pseadotuberculosis

إنتانات سلبيات الغرام في المشافي والمجتمع: [٣]

تزداد نسبة انتشار الأخماج بالجراثيم سلبية الغرام يوماً بعد يوم سواءً في المشافي أو المجتمع، وخاصة الإنتانات البولية وإنتانات المشافي الخطيرة، والتي تعد الأسوأ إنذاراً والأكثر تكلفة بين الأخماج المختلفة .

و تشكل الأمعائيات نسبةً هامةً من الجراثيم المسؤولة عن عداوى المشافي حيث تتوزع النسب كالتالي :

- الأمعائيات : ٤٣ % (الإشريكية القولونية ٢٢,٦ % (٤٨ % من الأمعائيات).
- الكليبسيلا: ٨% (١٨,٦ %من الأمعائيات).
- المكورات الإيجابية الغرام : ٣٥ % (العنقوديات المذهبة ١٩,٨%)
- جراثيم أخرى سلبية الغرام : ١٤ % (الزائفة الزنجارية11.1 %)، الراكدة
- الفطور : ٦ % (نوع المبيضات)
- ميكروبات أخرى : ٢ %

الأمراض الناجمة عن عائلة الأمعائيات:[١]

العامل الممرض	الأمراض
Eshirichia	التهابات السبيل البولي إسهال المسافرين التهابات السحايا عند حديثي الولادة
Shigella	الزحار
Salmonella	الحمى التيفية التهاب معوي قولوني
Klebsiella	ذات رئة التهاب سبيل بولي
Enterobacter	ذات رئة التهاب سبيل بولي
Serratia	ذات رئة التهاب سبيل بولي
Proteus	التهاب سبيل بولي
Yersinia	الطاعون

التهاب العقد المساريقية التهاب معوي قولوني	

ومع ازدياد نسبة انتشار الأخماج بسلبيات الغرام تزداد نسبة الذراري المتعددة المقاومة من هذه الجراثيم وخاصة تجاه الصادات الشائعة مثل البنسلينات والسيفالوسبورينات، حيث لوحظت زيادة انتشارها من خلال زيادة نسبة فشل المعالجة بالسيفالوسبورينات واسعة الطيف.

صادات البيتالاكتام :

أولاً: البنسلينات :

هي الصادات الأكثر انتشاراً والأقل سمية بين الأدوية المعروفة ، إذ أن التأثير الجانبي لها هو فرط الحساسية ، وتختلف هذه الأدوية عن بعضها في المجموعة R الموصولة إلى ثمالة الحمض 6–aminopencillanic وتحدد طبيعة هذه السلسلة الجانبية الطيف المضاد للجراثيم ومقاومة الحمض المعدي وحساسية هذه الأدوية للأنظيمات التدركية(المخربة) الجرثومية (أنظيمات بيتا–لاكتاماز).

آلية التأثير: تتدخل البنسلينات في المرحلة الأخيرة لتركيب الجدار الخلوي الجرثومي وبالتالي يصبح الغشاء قليل الثبات حلولياً ومن ثم يمكن أن يحدث الانحلال الخلوي وبالتي تكون هذه الأدوية مبيدة للجراثيم. وتكون البنسلينات فعالة ضد الجراثيم المتكاثرة بسرعة والتي تركب ببتيدوغليكان الجدار الخلوي وبالتالي لا تكون فعالة ضد الجراثيم الخالية من هذه البنية كالمتفطرات والأوالي والفطور والحمات الراشحة .

البروتينات الرابطة للبنسلين: توجد البروتينات غير الفعالة للبنسلينات على غشاء الخلية الجرثومية . وهذه البروتينات عبارة عن أنظيمات جرثومية لازمة لتركيب الجدار الخلوي وللحفاظ على الخواص الشكلية للجرثوم. ولذلك التعرض لهذه الصادات لا يمنع تركيب الجدار الخلوي فحسب بل يؤدي أيضا إلى حدوث تغيرات شكلية أو انحلال في الجراثيم المتحسسة لهذه الأدوية. وتؤدي التبدلات الحاصلة في هذه الجزيئات المستهدفة إلى مقاومة الجرثوم للدواء .

تثبيط ناقلات الببتيد : تحفز بعض البروتينات(PBPs) تشكيل الروابط الواصلة بين سلاسل الببتيدوغليكان . وتثبط البنسلينات هذا التفاعل المحفز الناقل للببتيد وبالتالي تمنع هذه الروابط الضرورية لسلامة وكمالة الجدار الخلوي .

الحالات الذاتية : هناك عدد من الجراثيم وخصوصا المكورات إيجابية الغرام ينتج أنظيمات تدركية (حالات ذاتية) تشترك في إعادة التشكل الطبيعي لجدار الخلية الجرثومية ففي حال وجود البنسلين يبدأ التأثير التدركي للحالات الذاتية في غياب تركيب الجدار الخلوي .

ثانيا : السيفالوسبورينات :

السيفالوسبورينات عبارة عن صادات بيتا لاكتام ترتبط بشكل صميمي تركيباً ووظيفة مع البنسلينات. حيث تملك نمط التأثير نفسه للبنسلينات وتتأثر بآليات المقاومة نفسها ولكنها تميل لأن تكون أكثر مقاومة لأنظيمات البيتا–لاكتاماز من البنسلينات .

ثالثاً: الكاربابينيمات:

هي صادات بيتالاكتام تركيبية تملك أوسع طيف بين صادات البيتالاكتام المتوفرة حالياً. وتقاوم الحلمهة الناجمة عن معظم أنزيمات البيتا–لاكتاماز. وتلعب هذه الصادات دوراً في المعالجة التجريبية حيث تكون فعالة ضد الجراثيم إيجابية وسلبية الغرام المنتجة للبنسليناز، واللاهوائيات.

رابعاً: وحيدات الباكتام:

يمنع الطيف المضاد للجراثيم الضيق لهذه الزمرة من استخدامها لوحدها في المعالجة التجريبية حيث تؤثر على العصيات سلبية الغرام الهوائية وتفتقر للفعالية المضادة للجراثيم إيجابية الغرام واللاهوائيات.

تقاوم هذه الزمرة تأثير معظم أنزيمات البيتا–لاكتاماز. (٤)

مقاومة الصادات الحيوية :

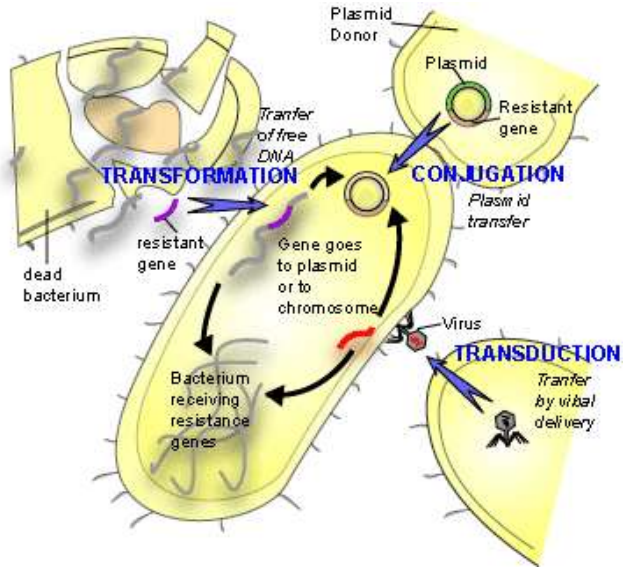
التبدلات الوراثية التي تؤدي إلى المقاومة الدوائية :

١–**الطفرات أو التبدلات العفوية فيDNA:**تنتج المقاومة هنا عن طفرة في المورثة التي ترمز إما لهدف الدواء أو الجملة الناقلة في الغشاء والتي تنظم التقاط الدواء .

إذا نجت الخلية فإنها تنسخ وتنقل خصائصها ومميزاتها إلى الخلية البنت وهكذا يتم إنتاج سلالات معندة .

يتراوح تواتر الطفرات العفوية عادة بين ١٠–٧– ١٠–٩ وهو أقل بكثير من تواتر اكتساب المقاومة بالبلاسميد لذا فالمقاومة عن طريق الطفرة أقل أهمية سريرياً من المقاومة المتواسطةبالبلاسميد .

٢-**نقل DNA للمقاومة الدوائية :** تنتقل الخصائص المقاومة عادة عن طريق البلاسميد خارج الكروموزومي . تنقل من خلية لأخرى من نفس النوع أو حتى بين الأنواع المختلفة . وعادة ما تنقل مقاومة لأدوية متعددة . يتم الانتقال عن طريق التنبيغTrnsduction الذي تتواسطه عاثيات الجراثيم أو عمليات الاستحالة Transformation أو وهو الأهم بواسطة الاقتران الجرثومي conjugation . [٤]



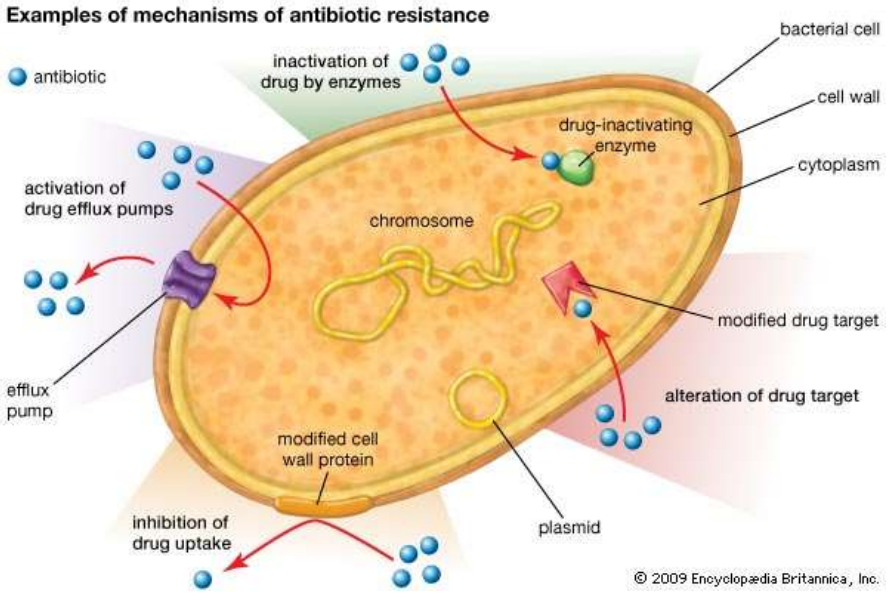
طرق نقل البلاسميد عبر الجراثيم

آليات المقاومة الدوائية :

١. ***تعديل المواضع المستهدفة :*** يمكن لتبدل الموضع المستهدف الحاصل أثناء طفرة ما أن يمنح المقاومة الدوائية كما يحدث مع البروتينات الرابطة للبنسلين في العنقوديات المذهبة المقاومة للميتيسلليين .

٢. ***نقص التراكم :*** يمكن لنقص قدرة الدواء على الاختراق أن تحمي الجرثوم من تأثير الصادات لأن هذا الدواء غير قادر على الوصول إلى مكان التأثير بسبب وجود طبقة من عديدات السكريد الشحمية (سلبيات الغرام) أو جهاز دفع يضخ الدواء خارجاً (التتراسيكلين).

٣. ***<u>التثبيط الأنظيمي :</u>*** إن القدرة على تخريب أو تثبيط الدواء المضاد للجراثيم يمكن أن يؤدي إلى إحداث المقاومة الجرثومية. فالبيتالاكتاماز تخرب عددا من البنسلينات كما أن الأستيل ترانسفيراز يمكن أن يحول الكلورامفينيكول إلى مركب غير فعال . [٤]

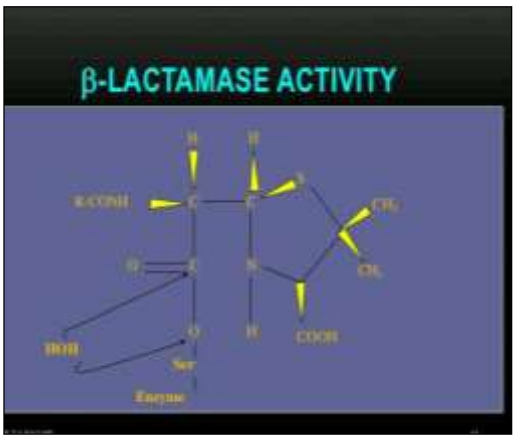


آليات المقاومة الدوائية

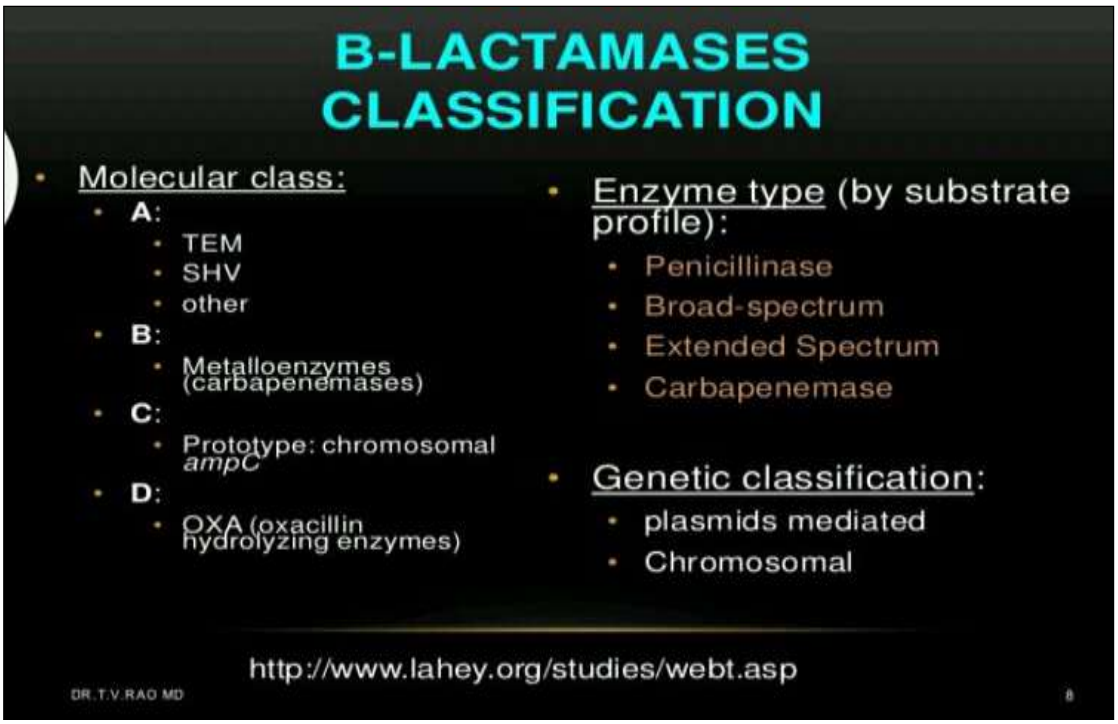
أنزيمات البيتالاكتاماز:[١١]

هي أنزيمات تفتح حلقة البيتالاكتام وتبطل فعالية الصاد.فصادات البيتالاكتام تملك جميعها عنصر مشترك في بنيتها الجزيئية هو حلقة رباعية تعرف بحلقة البتالاكتام ومن خلال عملية الحلمهة تفتحها وبالتالي تعطل الخصائص المضادة للجراثيم لهذه الصادات .

اكتشف أول بيتالاكتاماز مصنوع بتواسط البلاسميد في الجراثيم سلبية الغرام في اليونان عام ١٩٦٠ م. وسمي TEM نسبة للمريض الذي أصيب به Temoniera ثم اكتشف TEM-2



يوجد تصنيفين لأنزيمات البتالاكتاماز :



التصنيف الجزيئي :على أساس تتالي الحموض الأمينية حيث تقسم البيتالاكتاماز إلى :

Class A ,C ,Dالتي تستخدم السيرين في حلمهةالبتالاكتام.

Class B (metalloenzyme) التي تتطلب وجود شاردة زنك ثنائية التكافؤ لتقوم بحلمهة الركيزة.

التصنيف الوظيفي :وضع عام ١٩٩٥ ثم عدل عام ٢٠٠٥ ثم عدل أيضا عام ٢٠٠٩

يأخذ هذا التصنيف بالحسبان الركيزة التي تؤثر عليها والمثبطات التي تتأثر بها وتثبط عملها (الكلافولينيك أسيد).

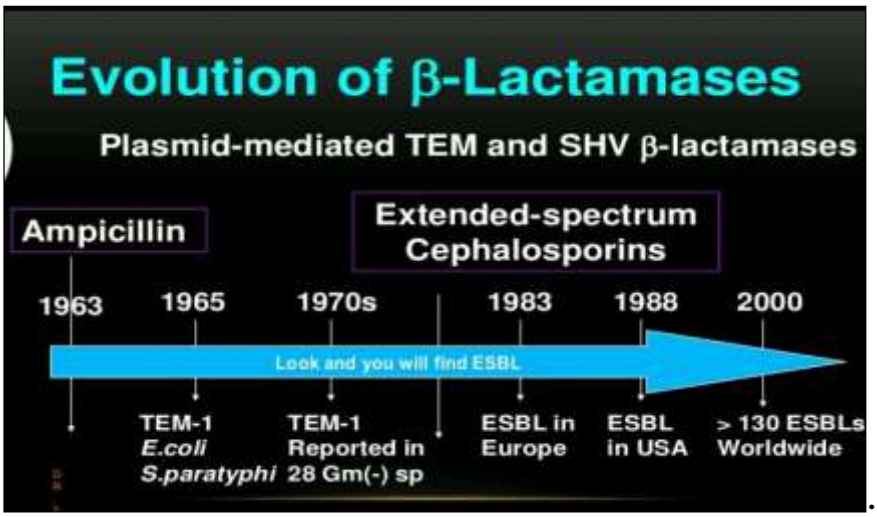
Group 1:سيفالوسبورينار لا يتأثر بالكلافولينك اسيد ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (class C) ومن أنزيمات هذه المجموعة AmpC.

Group 2 :بنسليناز وسيفالوسبورينار و بيتالاكتاماز واسعة الطيف والكاربابينيماز (ذات أساس السيرين) وتتأثرهذه المجموعة بشكل كبير أو قليل بالكلافولينيك أسيد ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (class A ,D) ومن أنزيمات هذه المجموعة ESBL(Extended Spectrum Beta Lactamase).

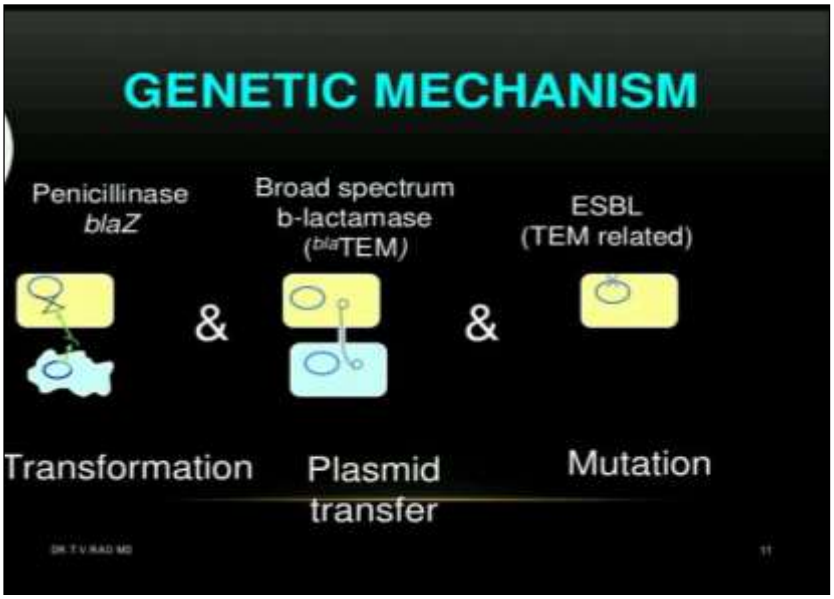
metallobetalactamase: Group 3 التي تؤثر على البنسلينات و السيفالوسبورينات والكاربابينيمات ولا تتأثر بالكلافولينيك أسيد. ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (Class B).ومعظم أنزيمات الكاربابينيماز تندرج في هذه المجموعة.[٥][٦]

تصنيف أنزيمات البيتالاكتاماز [٦]

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular Class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by	Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
1	1	C	Cephalosporins	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	*E. coli*AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI	C	Cephalosporins	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxyimino-β-lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PC1
2b	2b	A	Penicillins, early Cephalosporins	Yes	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum Cephalosporins, Monobactams	Yes	Increased hydrolysis of oxyimino-β-lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	Resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum Cephalosporins, Monobactams	No	Increased hydrolysis of oxyimino-β-lactams combined with resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbenicillin	Yes	Increased hydrolysis of carbenicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbenicillin, Cefepime	Yes	Increased hydrolysis of carbenicillin, cefepime, and cefpirome	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	1D	Extended-spectrum Cephalosporins	Variable	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxyimino-β-lactams	OXA-11, OXA-15
2def	NI	D	Carbapenems	Variable	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum Cephalosporins	Yes	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	Increased hydrolysis of carbapenems, oxyimino-β-lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B	Carbapenems	No	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
3b	3	B	Carbapenems	No	Preferential hydrolysis of carbapenems	L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1 CphA, Sfh-1



تطور البيتالاكتاماز



آلية المقاومة

ماهي البيتالاكتامازات واسعة الطيفESBL:

- هي مجموعة أنزيمات تفرزها الجراثيم سلبية الغرام قادرة على حلمهة البنسلينات والسيفالوسبورينات واسعة الطيف .[٧]
- لذا تكون معالجة الإنتانات الناجمة عنها صعبة جداً.
- أول مااكتشفت في ال:
- E.coli, Klebseillapneumonia, Proteus mirabilis [١٠]
- ثم وجدت في معظم سلبيات الغرام الأخرى.[١٠]
- **إذاً** فالجراثيم المفرزة للESBL تقاوم السيفالوسبورينات (سيفتازيديم، سيفوتاكسيم، سيفترياكسون) والمونوباكتام (أزتريونام) لكنها مازالت تتحسس بشكل جيد لل كاربابينيم (ميروبينيم، أو إميبينيم).[١٠]
- تتفاوت أنواع الأخماج المسبَّبة بالذراري المنتجة للبيتالاكتاماز واسعة الطيف من إنتانات السبيل البولي غير المختلطة إلى الإنتانات المهددة للحياة وخاصة المشفوية منها مثل ذوات الرئة والصدمة السمية الإنتانية .

تحريESBL:[١٤]

- أوصت الجمعية الوطنية للمقاييس المخبرية السريرية NCCLS باختبار تحري الESBL باستخدام الانتشار القرصي والتركيز المثبط الأصغري.
- وقد أوصت بتحري الESBL في مستعمرات الكليبسيلا الرئوية، والE.coli بتجربة كلا السيفوتاكسيم والسيفتازيديم لوحدهما وفي مركب مع حمض الكلافولانيك.
- يكون اختبار الكشف عن الانزيمات المحلمهة للبيتالاكتامات (اختبارالESBL) إيجابياً في اختبار التركيز المثبط الأصغري MIC عندما نختبر سيفالوسبورين واسع الطيف (السيفوتاكسيم أو السيفتازيديم) لوحده ، ثم بعد إضافة ٤ مكغ/ مل من الحمض الكلافولاني إليه، حيث ينقص الMIC بمقدار ٣ مكغ/ مل أو أكثر بعد إضافة الحمض الكلافولاني .

- و يكون الاختبار إيجابياً في طريقة الانتشار القرصي حين نستخدم قرص السيفالوسبورين واسع الطيف لوحده ثم نضيف حمض الكلافولانيك فيزيد قطر التثبيط بعد إضافة الكلافولانيك بمقدار ٥ ملم أو أكثر.

الانتشار:

- كانت أنزيمات ال ESBL سابقاً مرتبطة بالجراثيم المسؤولة عن الإنتانات المعندة عند مرضى المشافي ، لكنها في العقد الأخير أصبحت مسؤولة عن صعوبة العلاج ومقاومته عند قسم كبير من الإنتانات المجتمعية بمختلف أنواعها.
- أما العدوى بسلبيات الغرام المفرزة لهذه الأنزيمات فهي مرتبطة بالتلوث وعدم مراعاة قواعد النظافة الشخصية بين المرضى ومن هم على تماس معهم.
- و تشمل عوامل الخطورة للخمج بالESBL عند المرضى المشفويين المعالجة السابقة بالصادات، القثاطر، طول الاستشفاء والقبول في وحدة العناية المركزة. حيث عُزلت الجراثيم المنتجة للESBL من الخراجات والدم والقثاطر والرئة والقشع والسائل البريتواني والبول.
- إن التأخر في المعالجة المناسبة للعدوى لايطيل فقط مدة الاستشفاء إنما يزيد أيضاً معدل الوفيات.[٩]
- من المهم أيضاً عزل المرضى الذين تم تشخيص إصابتهم بإنتان بال ESBL وهذا يشير إلى أهمية التشخيص المخبري الدقيق للESBL.

المعالجة:[٧]

من بين كل البيتالاكتامات فإن الكاربابينيمات هي الأكثر فعالية وموثوقية ضد مستعمرات الESBL. حيث أن الكاربابينيمات شديدة المقاومة لفعالية الحلمهة في أنزيمات الESBL، وموجودة في مجموعة هيدروكسي إيتيل ٦ الناقل . ومن بين الكاربابينيمات فإن الميروبينيم هو الأكثر فعالية تجاه الESBL ب MIC أقل منه في الإميبينيم (0.12-0.03 مكغ / مل مقابل

0.5–0.06 مكغ/ مل). وتعطى الصادات في حال وجود الأعراض فقط (في السبيل البولي، الدم، الجروح، عدوى الرئة). أما الحملة ESBL E.coli وغير المرضى فلا تطلب لهم المعالجة.

الوقاية:[٧]

في عدة مناطق في العالم فإن ١٠–٤٠% من سلالات الE.coli و الكليبسلا تفرز ESBL .
وإن الأمعائيات المفرزة لل ESBL مسؤولة عن فاشيات كبيرة في العالم وتشكل تحدياً في قضايا التحكم بالأخماج.
لقد ساهم إدخال عدد من الإجراءات الصحية تتضمن تسهيلات محسنة لغسل اليدين وعزل مرضى لديهم جراثيم عديدة المقاومة وتقنيات محسنة للتطهير حين إجراء العمليات في انخفاض انتشار جراثيم الESBL في المشافي.



غسل الأيدي بعد استخدام الحمام وقبل الأكل أو تحضير الطعام، قبل وبعد زيارة الوحدات الطبية ، وقبل مساعدة المريض المشفوي في الطعام، وذلك باستخدام صابونة مضادة للجراثيم و/أو كحول مطهر للأيدي.
كما يجب على أعضاء الفريق الطبي العامل في الوحدات الطبية غسل أيديهم قبل وبعد التماس مع المقيمين في المشفى، وارتداء القفازات دوماً في حال تزويد العناية الشخصية المباشرة أو غسل المكان .

ولا تطلب الكمامات إلا في حال تلوث المكان . كما يجب التقيد بتدابير تنظيف الأقسام وتدابير التحكم بالخمج في كل الأقسام الطبية.
كما أن العلاج المناسب للإنتانات له الدور في الحد من العدوى بالجراثيم المقاومة المفرزة للESBL.

هدف البحث :

كشف الذراري المنتجة للبيتالاكتاماز واسعة الطيف في الجراثيم سلبيات الغرام المعزولة من المرضى المشفويين والعيادات الخارجية في مشفى المواساة الجامعي وتحديد نسبة انتشارها.

مواد وطرائق الدراسة :

مكان الدراسة :

مشفى المواساة الجامعي.

زمان الدراسة :

الفترة الممتدة بين شهري شباط ٢٠١٢ وتموز ٢٠١٣

مجموعة الدراسة :

المرضى المقيمين في مشفى المواساة الجامعي ومرضى العيادات الخارجية المطلوب لهم زرع جرثومي .

حجم العينة :

١٠٠ عزلة جرثومية سلبية الغرام أياً كان نوع العينة (دم ، بول ، سوائل الجسم ، مسحات ، قيح ...)

معايير إدراج المرضى في الدراسة :

المرضى المقيمين في المشفى أياً كان القسم المقبولين فيه وأياً كانت فترة الإقامة ومرضى المجتمع المراجعين للعيادات.

طرائق الدراسة :

- ملء الاستمارة الخاصة بالدراسة التي كانت كالتالي :

	نموذج الاستبيان			
اسم المريض	العمر	الجنس	الحالة الاجتماعية	
الشكوى الحالية	☐ متكررة	☐غير متكررة		وجود الحرارة:☐نعم ☐لا
قصة إنتانات سابقة	نوع الإنتان:		تكراره: ☐تكرر	☐غيرمتكرر
قصة تناول الصادات	السابقة			الحالية
الأمراض المرافقة				
قصة تناول أدوية	سابقة:			حالية:

مع أخذ موافقة المريض من خلال الموافقة المستنيرة :

الموافقة المستنيرة

أنا الدكتورة سماح السباعي ، وأقوم ببحث طبي لصالح كلية الطب البشري .
لقد تم اختيارك للدخول في دراسة أعددتها لأتحرى عن إنتاج البيتالاكتاماز واسعة الطيف في الإمعائيات المعزولة من مرضى المشافي والمسببة للأخماج المشفوية .
الغرض من هذه الدراسة البحث في معدل انتشار الإمعائيات المنتجة للبيتالاكتمازالمعزولة من المرضى المقيمن في المشافي .

عنوان البحث هو :
تحري السلالات الجرثومية المنتجة للبيتالاكتاماز واسعة الطيف في الجراثيم سلبية الغرام المعزولة من عينات مرضية لمرضى مشفويين ومجتمعيين.

والآن فإن دخولك في الدراسة طوعي تماماً ، ولن تتأثر رعايتك الصحية بذلك . جميع المعلومات التي ستعطينا إياها ستكون سرية تماماً . نحن نستخدم هذه المعلومات بدون اسم مع تلك التي نحصل عليها من العديد من المشاركين الآخرين .

الاسم :
التاريخ :
التوقيع:

- **جمع العينات:**

تم أخذ العينات القادمة (تشمل العينات المدروسة في بحثنا عينات البول ومسحات الجروح وعينات السائل الدماغي الشوكي ومسحات البلعوم ....)إلى قسم مخبر الجراثيم في مشفى المواساة .

وقد تم جمع كل نوع من هذه العينات حسب شروط الجمع المطلوبة والتي تكفل عدم تلوث العينة وثبات الجرثوم وإجراء الزرع الجرثومي في الوقت المناسب بحيث لايتضاعف محتوى العينة الجرثومي أو يؤثر عليه.

حيث تم جمع عينات البول وفق الشروط التالية :

- امتناع المريض عن تناول الصادات الحيوية لفترة ٤-٥ أيام قبل إعطاء العينة لتجنب النتائج السلبية الخاطئة.
- جمع البول في عبوة معقمة ومحكمة الإغلاق .
- تنبيه المريض لعدم فتح العبوة لفترة زمنية طويلة وعدم ملامسة الجوانب الداخلية للعبوة وغلافها مباشرة بعد وضع العينة.
- يتم جمع البول من المريض بعدة طرق أكثرها شيوعاً هي تقنية البول الوسطي لسهولتها ولأنها تقلل تلوث العينة بالبكتريا الموجودة (وتتلخص بطرح الكمية الأولى من البول خارجاً ثم وضع الكمية التالية وسط البول MSU في عبوة الجمع وطرح آخر البول)

أما عينات السوائل فقد تمت مراعاة الشروط التالية في جمعها:

تم جمع عينات السائل الدماغي الشوكي في ثلاثة أنابيب نظيفة ومعقمة (في كل أنبوب ٢ مل) وتم استخدام الأنبوب الثاني للزراعة لاحتمالية تلوث الأنبوب الاول بالجراثيم الموجودة على الجلد.

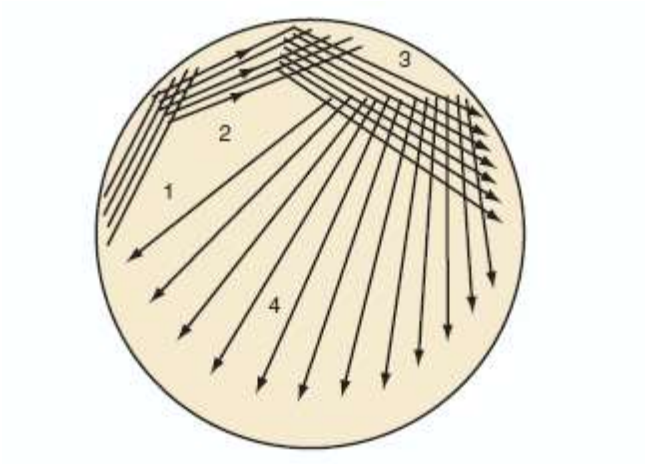
- **التعامل مع العينات وخطوات العمل :**

وبعد الحصول على العينات المطلوبة تم نقلها وفق المقاييس المخبرية المعروفة من حيث درجة حرارة الوسط وزمن النقل وسرعة الزرع.

١. زرع العينات على الأوساط المناسبة .
٢. تحديد هوية الجرثوم.
٣. إجراء اختبار التحسس للعينات المعزولة السابقة على غراء موللر هنتون
وتحري ESBLعند الجراثيم سلبية الغرام وذلك بطريقة الانتشار القرصي وقياس قطر التثبيط .

١- زرع العينات:

تم زرع العينات واستفرادها للتأكد من نقاوتها وتحديد نوعها على كل من وسطي الآغار المدمى والـ EMB حيث يحقق الآغار المدمى نمواً لكلا الجراثيم إيجابيات وسلبيات الغرام بينما يعزل ال EMB سلبيات الغرام عن إيجابيات الغرام حيث يسمح فقط بنمو سلبيات الغرام ويثبط نمو إيجابيات الغرام،كذلك تنقسم سلبيات الغرام من حيث تخميرها للاكتوز على وسط EMBإلى مخمرة وغير مخمرة للاكتوز، حيث تظهر المخمرة للاكتوز بلون زهري في حين لاتعطي الغير مخمرة لوناً.



طريقة الاستفراد

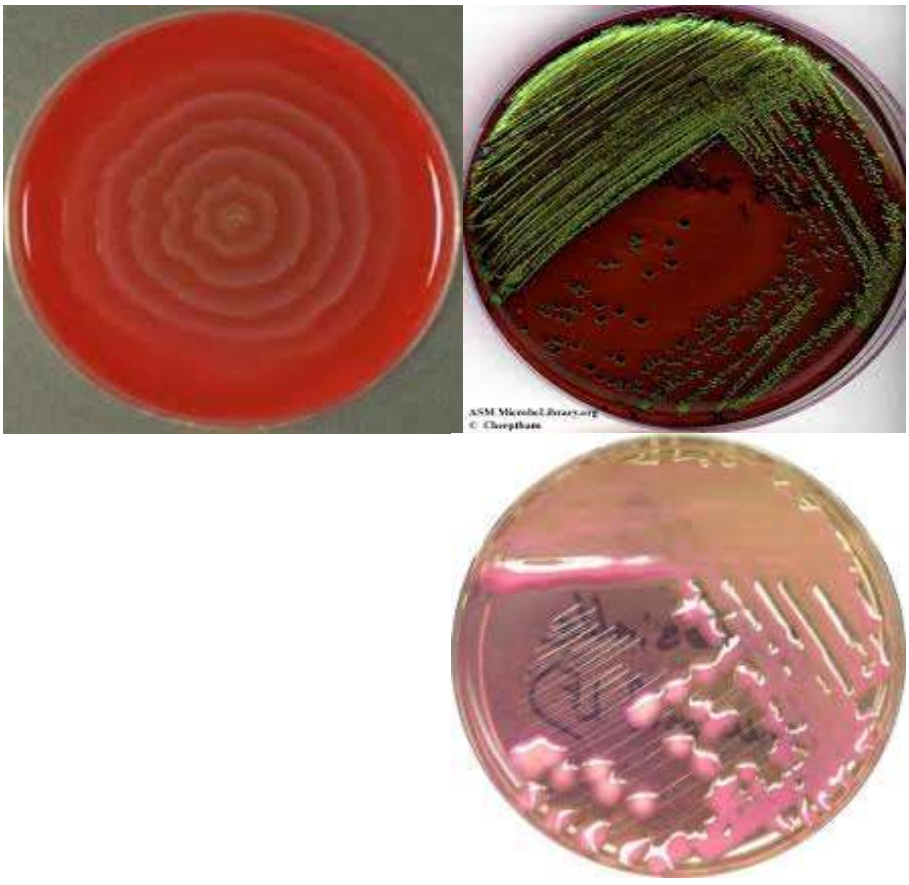
٢- تحديد هوية الجرثوم بالطرق الاعتيادية:

تم تحديد نوع الجرثوم بالاعتماد على ما يلي :

<u>شكل المستعمرة:</u>تساعد الصفات الشكلية وصفات الانحلال الدموي و اللون والرائحة لنمو المستعمرات الجرثومية على كلا الوسطين في تشخيص هوية الجرثوم .

بعض الجراثيم تبدي شكلاً مميزا على الأوساط:

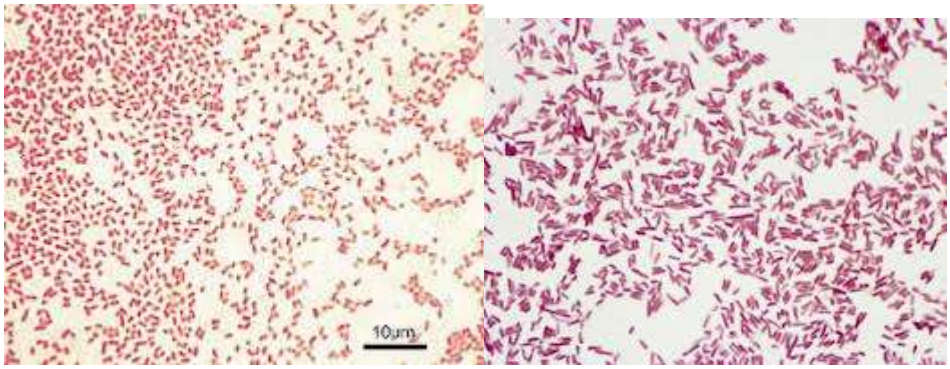
- اللمعة المعدنية للإيشيرشيا الكولونية مميزة على وسط Emb
- المظهر المخاطي للكليبسيلا
- الانتشار القرصي على الآغار المدمى للمتقلبات



أشكل بعض المستعمرات: (١) الكلبسيلة (٢) الإشريكية القولونية (٣) المتقلبات

<u>الشكل المورفولوجي للجرثوم :</u>

تم تحضير لطاخة جرثومية ملونة بتلوين غرام للتعرف على الجراثيم سلبية الغرام لاستبعاد الجراثيم الإيجابية الغرام وتحديد شكل الجرثوم : مكورات ، عصورات ، عصيات.

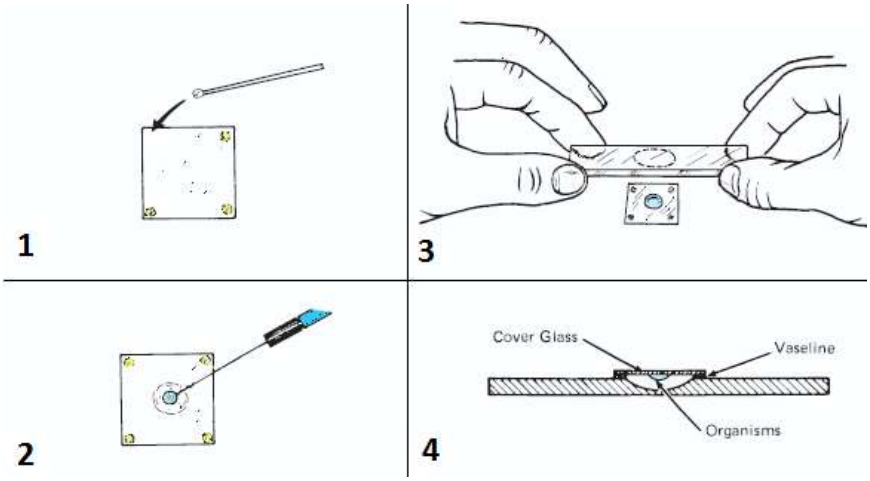


لطاخات جرثومية ملونة بتلوين غرام

حركة الجرثوم : [٢]

لتحديد كون الجرثوم متحركاً أو لا تم إجراء اختبار القطرة المعلقة كمايلي:

- وضع معجون في زوايا ساترة .
- وضع قطرة من مصل فيزيولوجي في وسطها وأخذ جزء من المستعمرة الجرثومية وحلها في هذه القطرة .
- وضع الصفيحة الزجاجية على القطرة و قلبها وفحصها على العدسة الغاطسة .



طريقة إجراء القطرة المعلقة

تحديد بعض الصفات الكيميائية الحيوية : [٢]

تساعد أوساط أخرى في التشخيص الجرثومي وقد استعنا في تحديد هوية الجرثوم ب:

١-الزرع على وسط كليغلر :

يحتوي في على اللاكتوز وسكروز غلوكوز و حمرة الفينول كمشعر وكبريت الحديدي للكشف عن H2S، لونه زهري.

يتم الزرع بالوخز و بالتخطيط البسيط على سطح الوسط في أنبوب اختبار ثم الحضن في درجة حرارة ٣٧ °م لمدة تتراوح بين ١٢ – ١٨ ساعة.

–يحدث تخمر الغلوكوز تلوين قاع الأنبوب و سطح الوسط، إلا أن الغلوكوز يستهلك بسرعة فائقة ويتحول لون السطح إلى أحمر بتكوين الأمونياك في هذه المنطقة

.ويحدث تخمر اللاكتوز (على السطح بتحرير أو دون تحرير الغاز)



٢–اختبار الإندولIndole test:

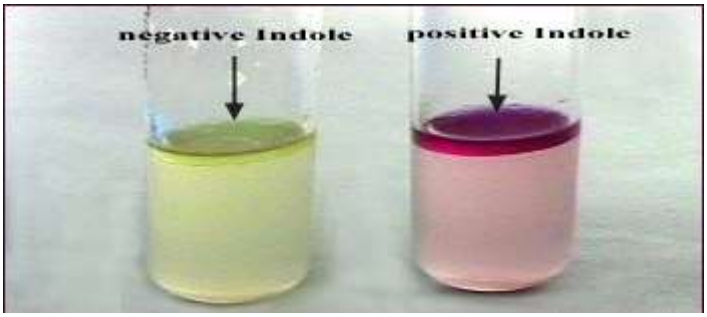
يجرى هذا الاختبار لغرض التعرف على قابلية بعض أنواع من الجراثيم على كسر رابطة الحمض الأميني تربتوفان Amino acid tryptophanوتحرير الإندول مع حامض البايروفيك،الإندول بتفاعله مع الكاشف ينتج مركبات حمراء اللون.

يستخدم في هذا الاختبار وسط ماء الببتون Pepton waterالغني بالحامض الاميني التربتوفان الذي هو مصدر حلقة الإندول.

طريقة العمل:

يلقح وسط ماء الببتون Peptone Water الذي يحوي على مركب التربتوفان بالجرثوم ويحضن لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ مئوية.

يضاف له الكاشفKovac’sحيث يتفاعل الكاشف مع الإندول المتكون في البيئة ويكون حلقة حمراء على سطح البيئة .



الأمعائيات إيجابية الأندول	الأمعائيات سلبية الأندول
Edwardsiellasp	Enterobacter Neisseria sp
Escherichia coli	most Klebsiellasp
Klebsiellaoxytoca	Proteus mirabilis
Proteus sp. (not P. mirabilis)	Salmonella sp
	Serratiasp
	Yersinia sp

تصنيف الأمعائيات حسب اختبار الأندول

٤-تحري ESBL [١٣]

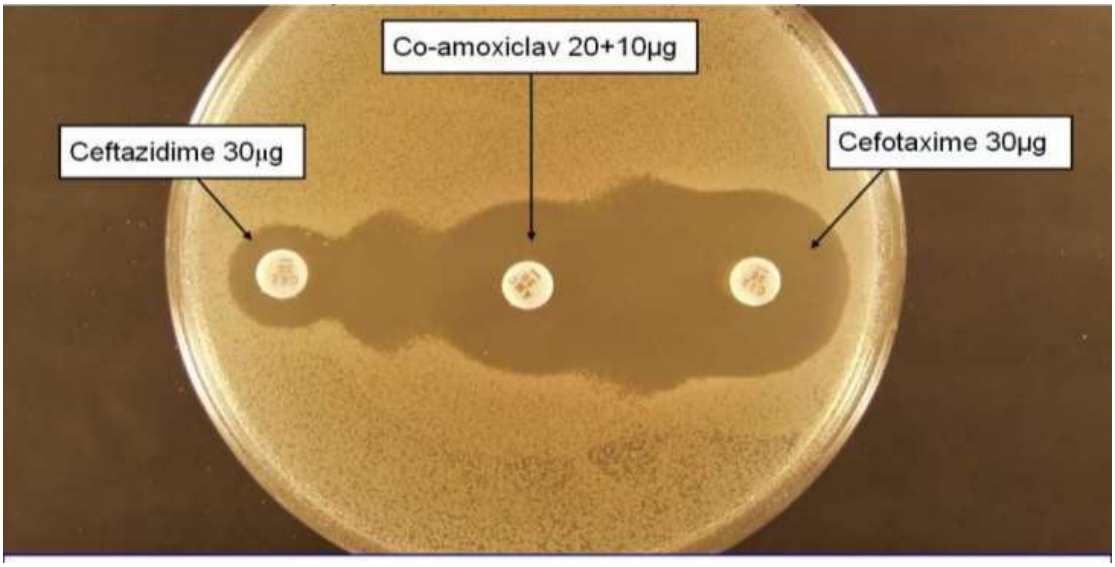
اعتمدت دراستنا على اختبار يسمى اختبار الانتشار القرصي المضاعف doubld disk diffusion test وهو من الاختبارات المعتمدة في تحري ال ESBL

الخطوات :

قمنا بوضع قرصي سيفوتاكسيم (٣٠ مكغ) وسيفتازيديم (٣٠ مكغ) بحيث يكون كل منهما على بعد ٢,٥ سم من القرص الذي يحوي ١٠ مكغ كلافولانات وبحيث يكون البعد بين كل من قرصي السيفالوسبورين أيضاً أكثر من ٢,٥ سم. نتحرى التآزر بين كل قرص من السيفالوسبورينات وبين القرص الحاوي على الكلافولانات.

يعتبر الاختبار إيجابياً حين تجتمع المقاومة لقرص السيفالوسبورين مع زيادة في قطر التثبيط الجرثومي مقابل قرص حمض الكلافولانيك، معطياًغالبا شكلا يسمى بعلامة المفتاح.

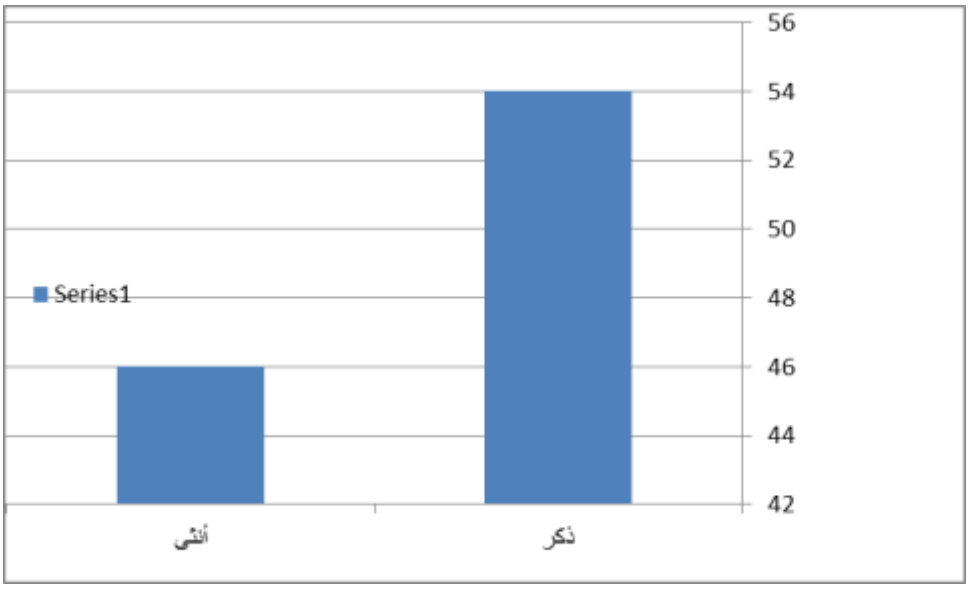
ففي حال زاد تثبيط التكاثر الجرمي أكثر من ٥ ملم في جهة التآزر بينهما وكانت المستعمرة تبدي قطراً أقل من قطر التحسس في الجهة الأخرى من قرص السيفالوسبورين دل ذلك على إفراز المستعمرات الجرثومية المختبرة للESBL وكان الاختبار إيجابياً.





نتائج الدراسة

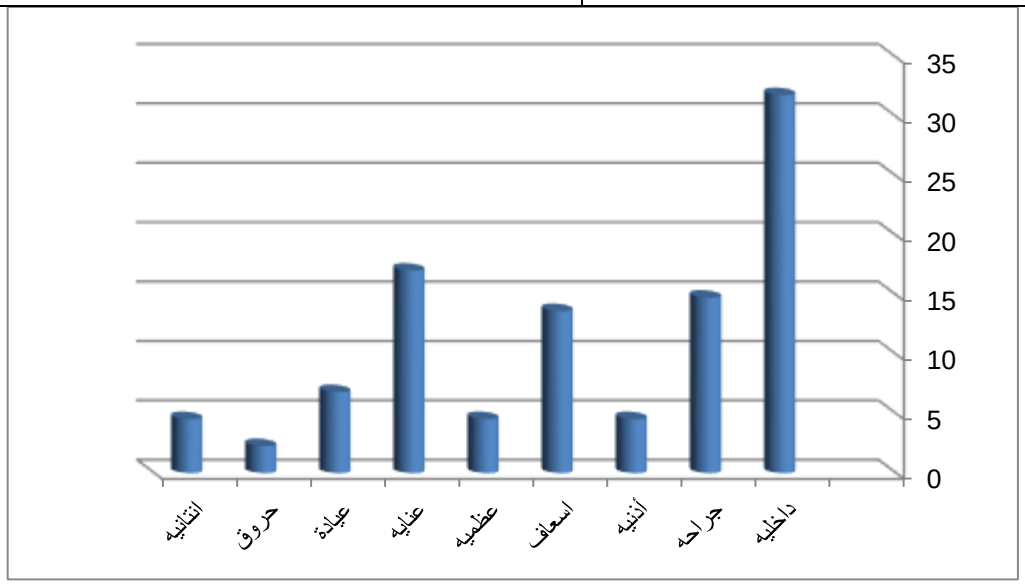
شملت الدراسة ١٠٠ عزلة جرثومية سلبية الغرام مأخوذة من مرضى ومراجعي مشفى المواساة الجامعي فكان٤٦ من المرضى إناثاً و٥٤ منهم ذكوراً.



حسب الشعبة:

كان توزع المرضى في شعب وعيادات مشفى المواساة الجامعي كالتالي:

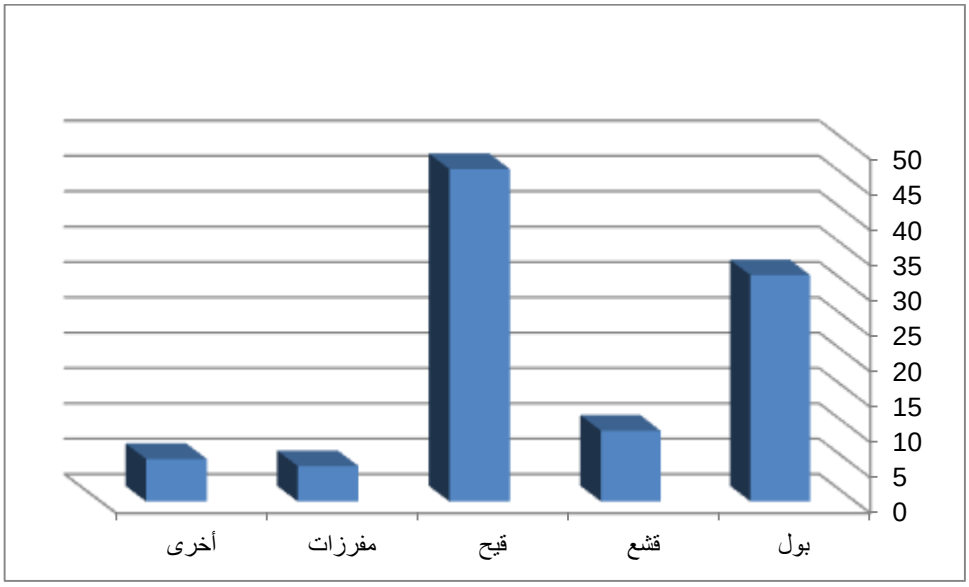
الشعبه	المجموع
الداخلية	32%
جراحه	15%
أذنيه	5%
إسعاف الرابع	14%
عظميه	5%
عناية	17%
عيادة	7%
حروق	2%
انتانيه	5%



حسب نوع العينة:

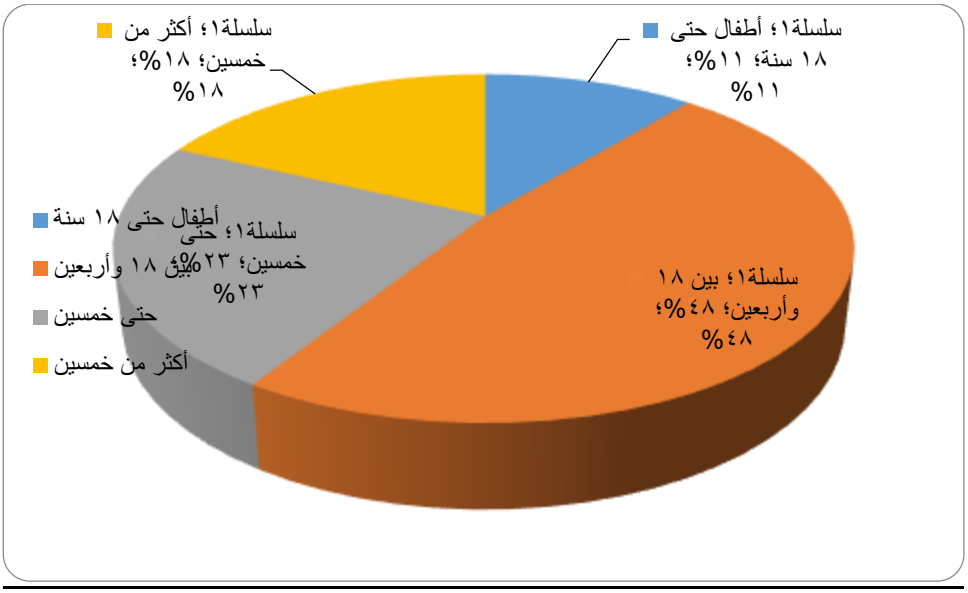
كان توزع النتائج حسب نوع العينة كالتالي:

العينة	المجموع
بول	32%
قشع	10%
قيح	47%
مفرزات	5%
أخرى	6%



حسب العمر :

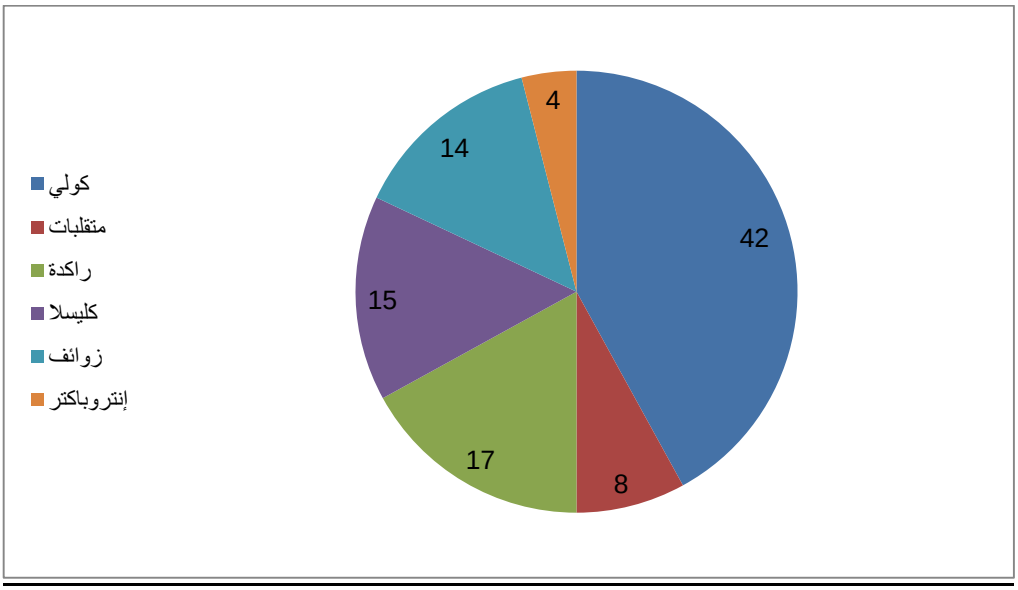
العمر	المجموع
أطفال حتى ١٨ سنة	11%
بين ١٨ وأربعين	48%
حتى خمسين	23%
أكثر من خمسين	18%



نتائج الزرع حسب النوع الجرثومي:

بعد إجراء الزرع الجرثومي وإجراء بعض الاختبارات الخاصة تم عزل الأنواع التالية من الأمعائيات:

نوع الجرثوم	العدد
كولي	42%
متقلبات	8%
الراكدة	17%
كليبسلا	15%
زوائف	14%
انتروباكتر	4%
المجموع	**١٠٠**

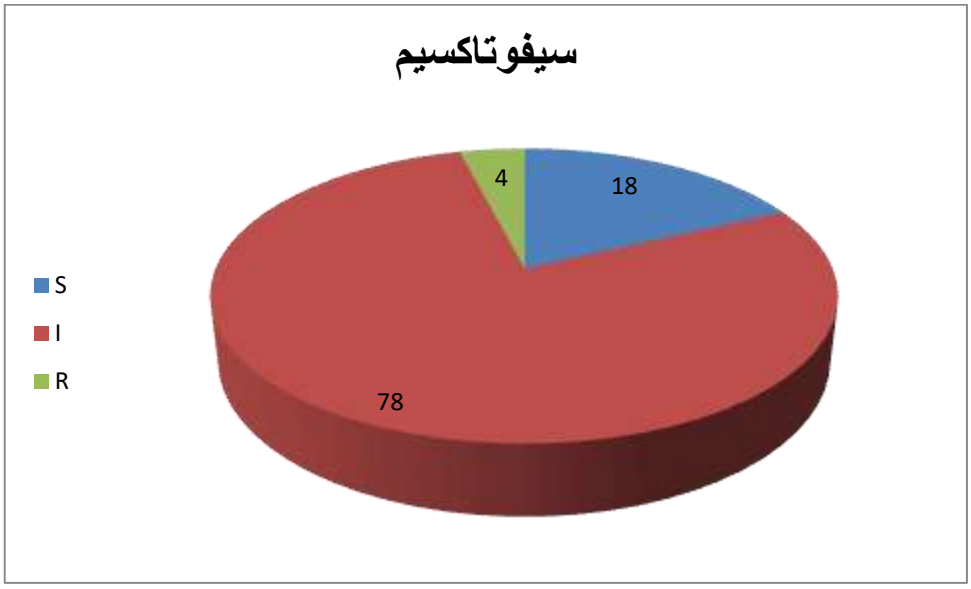


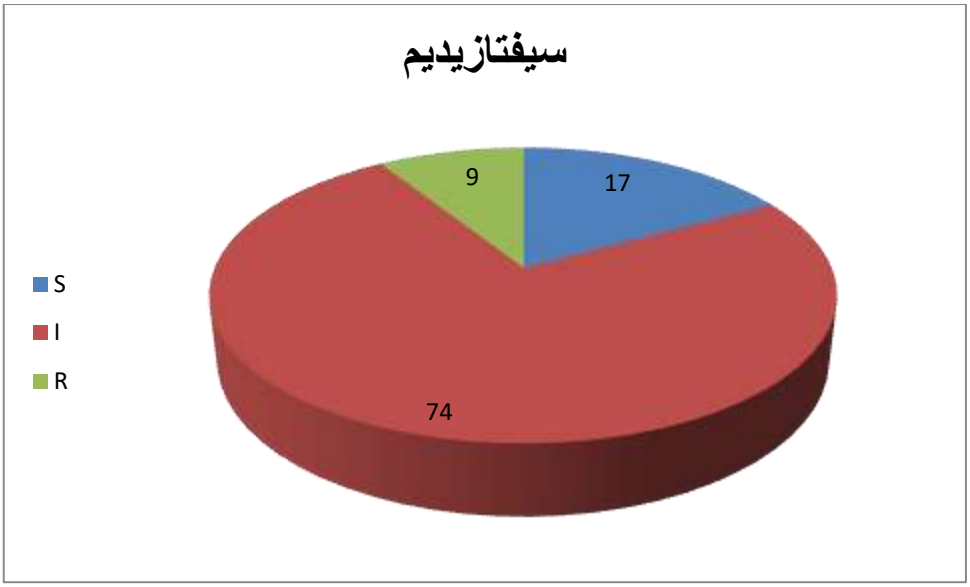
الأنواع الجرثومية المعزولة

نتائج اختبار التحسس:

بإجراء اختبار الحساسية بطريقة كيربي – باور تم تقسيم العينات إلى مقاوم R و متوسط الحساسية I وحساس S .

قطر التحسس ل	سيفوتاكسيم	سيفتازيديم
S	18%	17%
I	78%	74%
R	4%	9%

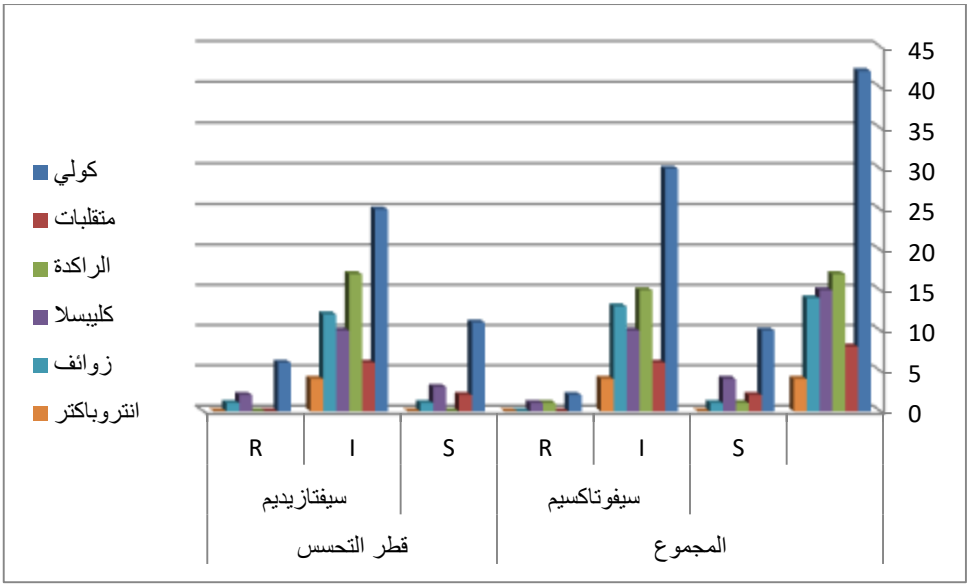




١. توزع الأنواع الجرثومية حسب قطر التحسس:

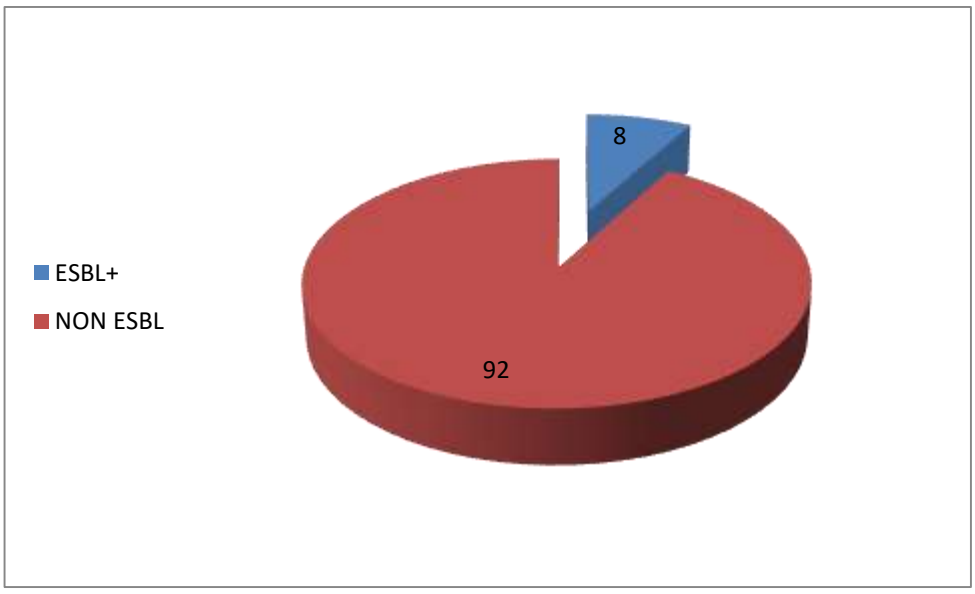
كان توزع الأنواع الجرثومية حسب قطر التحسس للسيفوتاكسيم والسيفتازيديم كالتالي:

نوع الجرثوم	المجموع	قطر التحسس					
		سيفوتاكسيم			سيفتازيديم		
		S	I	R	S	I	R
كولي	42	10	30	2	11	25	6
متقلبات	8	2	6	0	2	6	0
الراكدة	17	1	15	1	0	17	0
كليبسلا	15	4	10	1	3	10	2
زوائف	14	1	13	0	1	12	1
انتروباكتر	4	0	4	0	0	4	0



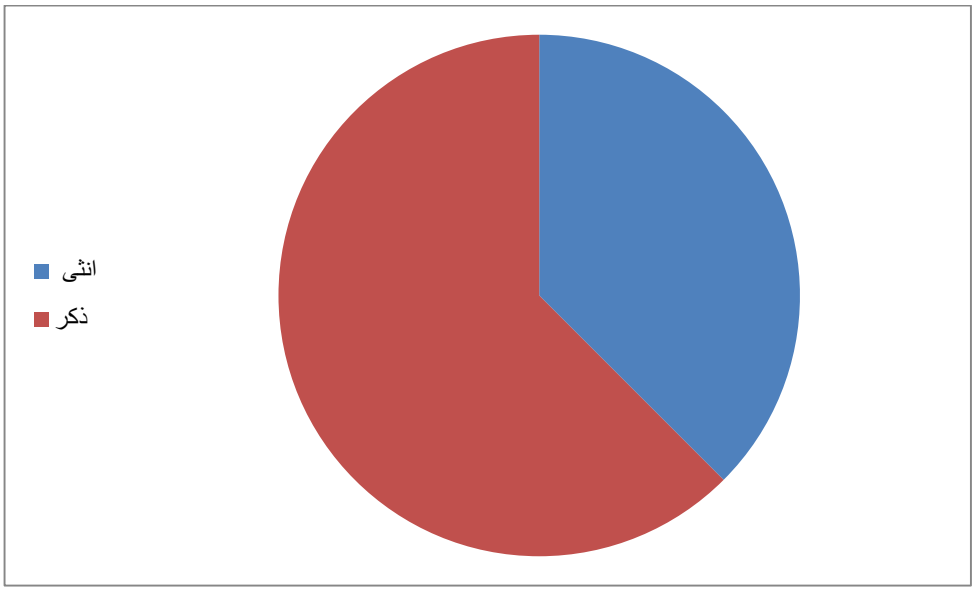
نتائج اختبار ESBL:

تم إجراء اختبار ESBL على العزلات المدروسة باختبار الانتشار القرصي المضاعف فكان ٨ منها إيجابياً.



حسب الجنس:

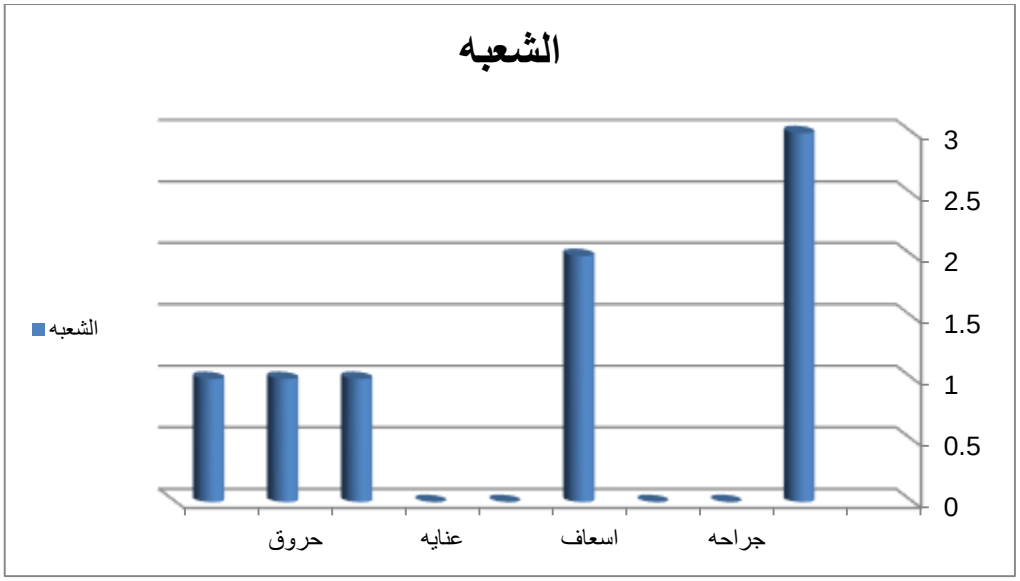
كان من المرضى ٣ إناثاً و٥ منهم ذكوراً.



حسب الشعب والعيادات:

كان توزع المرضى في شعب وعيادات مشفى المواساة الجامعي كالتالي:

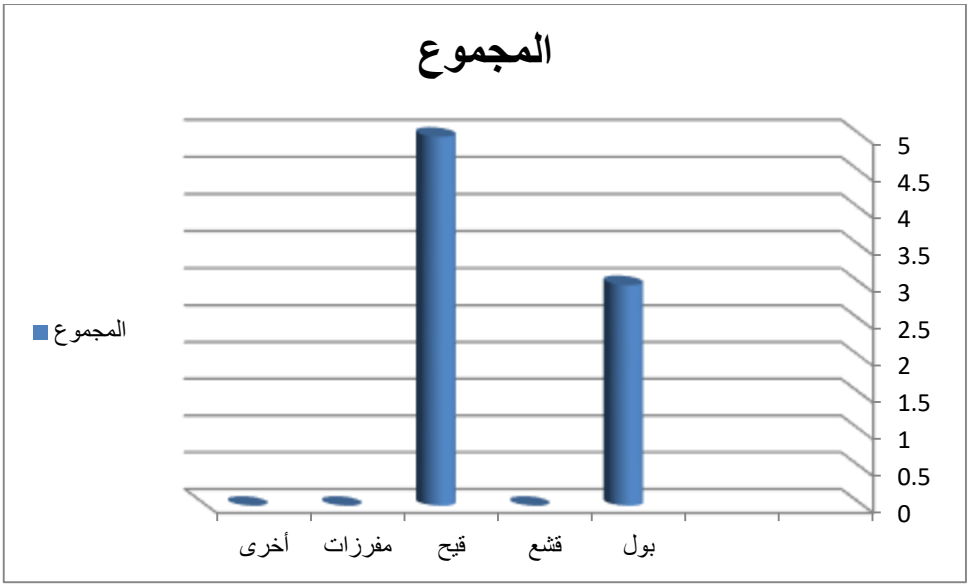
الشعبة	المجموع
داخلية	3
جراحة	0
أذنية	0
اسعاف الرابع	2
عظميه	0
عنايه	0
عيادة	1
حروق	1
انتانيه	1



حسب نوع العينة:

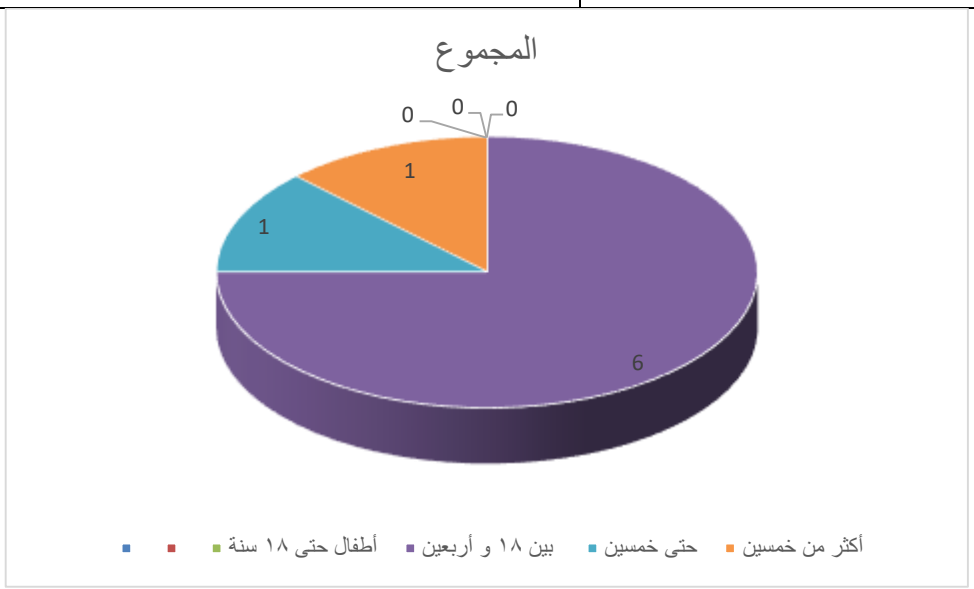
كان توزع النتائج حسب نوع العينة كالتالي:

العينة	المجموع
بول	3
قشع	0
قيح	5
مفرزات	0
أخرى	0



حسب العمر:

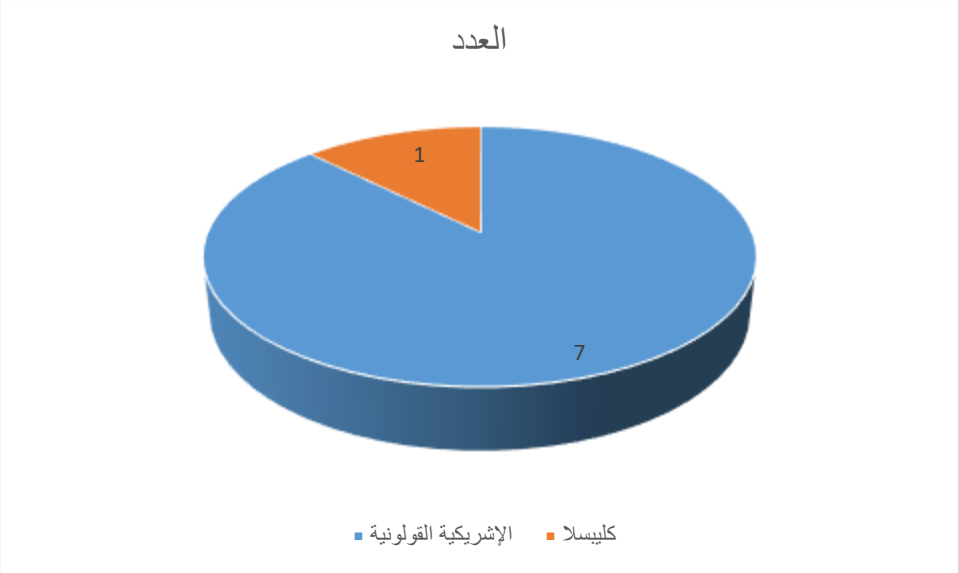
العمر	المجموع
أطفال حتى ١٨ سنة	0
بين ١٨ و أربعين	6
حتى خمسين	1
أكثر من خمسين	1



نتائج الESBL حسب نوع الجرثوم:

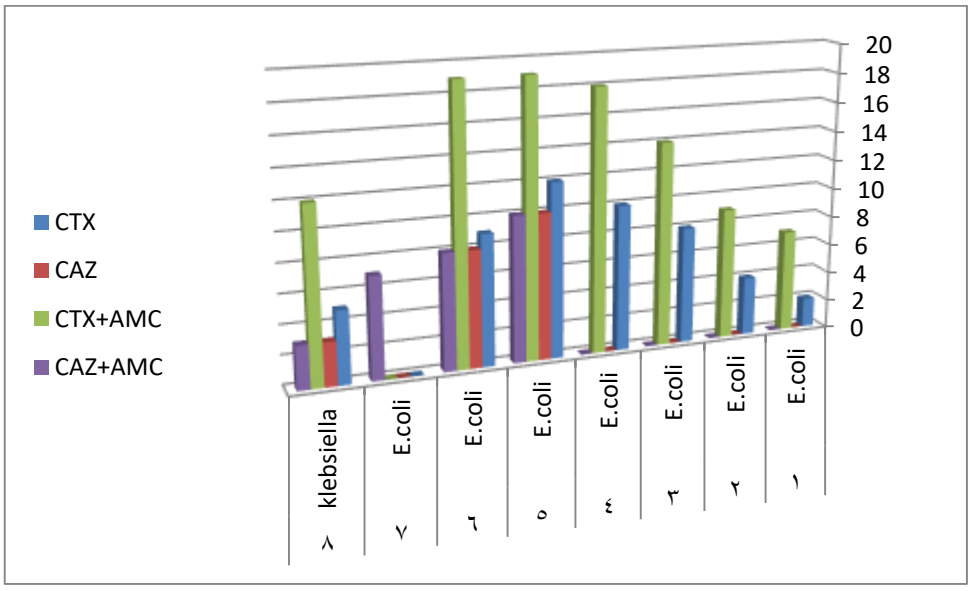
توزعت أنواع الإمعائيات المفرزة للESBL حسب الجدول التالي:

نوع الجرثوم	العدد	النسبة
الإشريكية القولونية	7	(42) %17
كليبسلا	1	(15) %7



حسب اختبار التحسس بطريقة الانتشار القرصي المضاعف:

رقم العزلة	النوع	CTX	CAZ	CTX+AMC	CAZ+AMC
١	E.coli	٢	٠	٧	٠
٢	E.coli	٤	٠	٩	٠
٣	E.coli	٨	٠	١٤	٠
٤	E.coli	١٠	٠	١٨	٠
٥	E.coli	١٢	١٠	١٩	١٠
٦	E.coli	٩	٨	١٩	٨
٧	E.coli	٠	٠	٠	٧
٨	Klebsiella	٥	٣	١٢	٣



الدراسات المقارنة

الدراسة الأولى:[١٨]

Resistance trends and risk factors of extended spectrum β-lactamases in Escherichia coli infections in Aleppo, Syria.

أجريت هذه الدراسة في حلب في عام ٢٠١٣ وشملت مئة وأربع عينة بول جمعت في ٣ مشافي كبرى في حلب. وكان هدف الدراسة هو تحري نسبة انتشار السلالات المنتجة للESBL في الأخماج الناتجة عن جراثيم الE.coli وذلك باختبار الانتشار القرصي المضاعف. فكانت نتيجة الدراسة أن تجاوزت نسبة السلالات المنتجة للESBL ٥٢% من سلالات ال E.coliالمدروسة .

بينما شملت دراستنا مئة عينة مرضية من مختلف الأنواع حيث كانت ٤٢% من العينات هي E.coli و١٥% منها هي كليبسلا فكانت نسبة السلالات المنتجة للESBL هي ٨% منها ٧ E.coli و١ كليبسلا .

أي أن نسبة ال E.coliالمنتجة للESBL من عينات ال E.coliهي ١٧% منها .

الدراسة الثانية:[١٦]

β-Lactamase Production in Key Gram-Negative Pathogen Isolates from the Arabian Peninsula

أجريت هذه الدراسة في مختلف دول الخليج في الفترة بين عامي ٢٠٠٣ و٢٠١١ حيث تحرت سلالات الE.coli والكليبسلا المفرزة لل ESBL فكانت نسبة الE.coli هي ٧,٧ % بينما نسبة الكليبسيلا هي 22.3% وذلك في عينات دم مجموعة من مرضى المشفى العسكري في الرياض.

بينما كانت نسبة ال E.coliالمفرزة للESBL ٥,٦% ونسبة الكليبسلا المفرزة لل ESBLهي ١١,٤% وذلك من عينات مرضية لمرضى مشفى المبارك الكبير في الكويت.

شملت دراستنا مئة عينة إمعائيات فكانت نسبة الE.coli المنتجة للESBL هي ١٧% ونسبة الكليبسلا المفرزة للESBL هي ٧% وذلك في عينات مرضية مختلفة مأخوذة من مرضى ومراجعي عيادات مشفى المواساة الجامعي في دمشق.

الدراسة الثالثة:[١٩]

Prevalence and types of extended spectrum ß-lactamases among urinary Escherichia coli isolates in Moroccan community.

أجريت هذه الدراسة في المغرب في الفترة بين ٢٠١٠ و٢٠١١ لتحري سلالات ال E.coli المنتجة لل ESBL، حيث جمعت ١١٧٤ عزلة E.coli فكان عدد السلالات إيجابية الESBL هو ٤٩ عزلة أي أن نسبة ال ESBL E.coliهي ٤,١%.

تحرت دراستنا إنتاج ال ESBL في مئة عزلة جرثومية للإمعائيات المختلفة حيث كانت ٤٢ عزلة منها هي E.coli وكانت نسبة الESBL بين المئة عينة هي ٨% حيث ٧ من هذه العزلات الثمانية هي E.coli أي أن ١٧% من ال E.coliهي ESBL E.coli.

الدراسة الرابعة:[١٧]

Molecular characterization of Escherichia coli isolates from patients with urinary tract infections in Palestine.

أجريت هذه الدراسة في فلسطين خلال شهري شباط وحزيران من عام ٢٠١١ حيث عزلت ٤١ عينة E.coli من عينات بولية لمرضى إنتانات بولية في ٣ مشافي مختلفة في فلسطين . فكان منها ٣٥ عزلة إيجابية الESBL أي أن نسبة ال ESBL E.coliهي ٨٥%.

شملت دراستنا ١٠٠ عزلة جرثومية لمختلف أنواع الإمعائيات منها ٤٢ عزلة E.coli وتحرت بينها إيجابيات الESBL فكانت نسبة الESBLهي ٨% منها ٧ E.coli و١ كليبسلا . أي نسبة ال ESBL E.coliهي ١٧ % .

مناقشة النتائج:

أجريت دراستنا بهدف تحري السلالات الجرثومية سلبية الغرام المفرزة لأنزيمات الESBL وتحديد نسبة انتشار هذه السلالات .

فكانت العينات المدروسة هي عينات من مختلف الأنواع والتي يتم استقبالها في مخبر مشفى المواساة الجامعي بهدف إجراء الزرع الجرثومي عليها ومن ثم اختبار التحسس بطريقة كيربي باور لتحديد الصادات المناسبة في العلاج.

وقد قمنا بعزل ١٠٠ عزلة جرثومية من مختلف سلبيات الغرام .

وقد أظهرت نتائج دراستنا تقارب نسبتي الذكور والإناث في العزلات المدروسة حيث كانت نسبة الإناث هي ٤٦% والذكور ٥٤%، مما يعني أن جنس المريض لا يؤثر على معدلات حدوث الخمج عنده .

وقد كانت دراستنا تشمل عينات من مرضى مقيمين في المشفى ومن مرضى العيادات الخارجيين والذين يطلب لهم زرع جرثومي فأظهرت النتائج أرجحية العزلات سلبية الغرام للمرضى المشفويين على مرضى المجتمع الخارجيين حيث كانت نسبة المرضى المشفويين والذين يقيمون في مختلف أقسام المشفى هي ٩٣% مقابل ٧% لمرضى العيادات الخارجيين. وهذا يتماشي مع العديد من الدراسات التي تشير الى رجحان لسلبيات الغرام في الأخماج المشفوية ، خاصة مع نقص الإجراءات المتخذة لضبط العدوى .

وقد توزع مرضى المشفى في أقسام اداخلية بمختلف أقسامها وأقسام الجراحة والإسعاف الرابع والأذنية والعناية والعظمية والحروق والإنتانية فكانت نسبة العزلات سلبية الغرام هي الأكبر نسبة في عزلات مرضى أقسام الداخلية حيث بلغت نسبتها ٣٢% بينما كانت عزلات قسم العناية بنسبة ١٧% والجراحة بنسبة ١٥% والإسعاف الرابع بنسبة ١٤% .

وهذا يشير إلى عدة نقاط هامة من حيث أهمية العناية بأقسام المشفى المتنوعة من حيث النظافة وقواعد التطهير وعزل المرضى الذين شخصت لديهم إنتانات جرثومية ومن حيث التزام قواعد التعامل مع المرضى من قبل كادر التمريض والأطباء وبقية عاملي المشفى.

وقد كانت عينات دراستنا هي عينات متنوعة تشمل عينات البول والقيح والمفرزات والقشع وغيرها. فكانت عينات القيح والتي أظهرت بالعزل إيجابية سلبيات الغرام هي الأكبر نسبة حيث بلغت نسبتها ٤٧% بينما عينات البول كانت بنسبة ٣٢% ثم عينات القشع بنسبة ١٠% والمفرزات بنسبة ٥%.

وهذا يدلنا على انتشار الإنتانات مشفوية المنشأ كأخماج الجروح والحروق أو الأخماج التالية للجراحات المختلفة، أو الخراجات ، وهذا يلفت إلى سوء العناية بالمرضى المشفويين من حيث العقامة والأدوات المستعملة كالقثاطر والأدوات الجراحية وأدوات تفجير الصدر وغيرها. وان زيادة نسبة سلبيات الغرام في هذه الأخماج مؤشر خطير على انتشار التلوث بها مما يعكس ضعفاً شديداً في اجراءات النظافة الشخصية عند المرضى والعاملين ، وخللاً كبيراً في إجراءات ضبط العدوى التي تحد من انتشار هذه الجراثيم .

أظهرت دراستنا أرجحية الإنتانات بسلبيات الغرام عند الشباب ذوو الفئة العمرية بين ال١٨ والأربعين حيث كانت نسبتهم ٤٨% وكانت نسبة الفئة العمرية بين الأربعين والخمسين عاماً هي ٢٣% بينما كانت نسبة الفئة الأكبر من خمسين عاماً هي ١٨%.

تبين بإجراء اختبار التحسس بطريقة كيربي باور على العزلات سلبية الغرام المدروسة باستخدام نوعين من أقراص السيفالوسبورينات السيفوتاكسيم والسيفتازيديم الحساسية المنخفضة لتلك العزلات على هذين الصادين حيث كانت نسبة العزلات المتحسسة هي ١٨% للسيفوتاكسم و١٧% للسيفتازيديم، ما يتماشى مع العديد من الدراسات في منطقتنا ، والتي تعكس سوء الاستخدام المتزايد للصادات ، خاصة سيفالوسبورينات الجيل الثالث ، والذي أدى إلى هذه الزيادة الملحوظة في المقاومة عند سلبيات الغرام لهذه الصادات .

أبدى اختبار ال ESBL باختبار الانتشار القرصي المضاعف إيجابية في ٨ عزلات من ال ١٠٠ عزلة سلبية الغرام، وهي نسبة قريبة من النسب التي أظهرتها العديد من الدراسات في منطقتنا كالدراسة التي أجريت في منطقة الخليج ، وبالرغم من أن هذه النسبة غير مرتفعة نسبياً ، إلا أن عزل ذرارٍ جرثومية من سلبيات الغرام منتجة للبتالاكتاماز واسعة الطيف من مرضى المشافي هو مؤشر خطير على انتشار الجراثيم واسعة المقاومة في المشفى ، كما أن هذه النسبة مرشحة للارتفاع مستقبلاً مع الأسف في حال لم تتخذ الإجراءات المناسبة للحد من انتشار الأخماج المشفوية وترشيد استخدام الصادات في المشفى والمجتمع.

وقد كانت سلبيات الغرام المفرزة للESBL الناتجة في دراستنا هي الإيشرشيا كولي والكليبسلا مع أرجحية واضحة للإشريكية القولونية، حيث كانت ٧ عزلات من ال٨ عزلات الإيجابية الESBL هي إيشرشيا كولي وعزلة واحدة هي كليبسلا أي أن نسبة الإيشرشيا كولي هي ٨٧,٥% مقابل ١٢,٥ % من الكليبسلا.

وقد بلغت نسبة الإيشرشياكولي إيجابية ال ESBL في عزلاتنا المدروسة ١٧ % من ال٤٢ عزلة إشريشيا كولي قمنا بعزلها في دراستنا. وهي نسبة كبيرة تشير لخطورة أخماج الإيشرشيا كولي في وقتنا الراهن والتحديات التي يواجهها العلم في علاج هذه الأخماج.

التوصيات والمقترحات :

١-التأكيد على الالتزام التام والتقيد بإجراءات ضبط العدوى في جميع أقسام المشفى من قبل الهيئة الطبية والتمريضية وذلك للتخفيف ما أمكن من معدلات انتشار الأخماج المشفوية.

٢-إجراء مسحات جرثومية دورية (من قبل لجنة ضبط العدوى في المشفى) في أقسام المشفى المختلفة لتحديد الأنواع الجرثومية المسببة للأخماج أو المتوطنة في هذه الأقسام ومكافحتها بشكل مناسب.

٣-إجراء اختبارات التحسس على العزلات الجرثومية السريرية المعزولة في أقسام المشفى بشكل دوري بما في ذلك الاختبارات التي تكشف ESBL وتزويد الأطباء المعالجين في هذه الأقسام بالمعلومات عن نتائج هذه الإختبارات.

٤-الالتزام ما أمكن باستخدام الصادات وفق نتائج الزرع والتحسس ، وعند ضرورة البدء بالمعالجة التجريبية بالصادات يجب الأخذ بعين الاعتبار وجود ذراري ال ESBL ضمن االجراثيم سلبية الغرام المشفوية خاصة الإيشريكيا كولي.

٥-الحد من الاستخدام غير المرشد للصادات في المشفى والمجتمع .

المراجع:

١. د. تيسير البني. الجراثيم والفيروسات الطبية، جامعة دمشق ٢٠٠٩.

2. Alfred E. Brown. Benson's microbiological applications, 9th edition, Published by McGraw-Hill, 2007, P: 523.
3. Bernard Regnier. Nosocomial infection, scientific American, 2005 august.
4. Richard A. Harvey. pharmacology, Lippincott Williams & Wilkins 5th edition 2012:P (369- 393).
5. Barry G. Hall1 and Miriam Barlow. Revised Ambler classification of β-Lactamases. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. MAY 2005.
6. Karen Bush and George A. Jacoby. Updated Functional Classification of β-Lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 2010 March; 54(3): 969–976.
7. Rupp ME1, Fey PD,Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment.Drugs. 2003;63(4):353-65.
8. Extended-Spectrum ß-Lactamases: Epidemiology, Detection, and Treatment, and College ofPharmacy, University of Texas at Austin, Austin, Texas, and the Department of Pharmacology, University of Texas Health Science Center at San Antonio, San Antonio, Texas Disclosures. Pharmacotherapy. 2001;21(8)
9. Rapid detection of extended-spectrum-β-lactamase-producing Enterobacteriaceae.Nordmann P1, Dortet L, Poirel L.J Clin Microbiol. 2012 Sep;50(9):3016-22. doi: 10.1128/JCM.00859-12. Epub 2012 Jul 3.
10. Patricia A. Bradford*. Extended-Spectrum β-Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat .CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS. 2014
11. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. Clin Microbiol Rev. 2005 Oct;18(4):657-86.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS approved standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
13. Livermore, D. 2002. Detection of β-lactamase mediated resistance, p. 1-18. *In* Standardized disc susceptibility method. User day report for November 2002

meeting held at Belfast City Hospital, Belfast. British Society for Antimicrobial Chemotherapy, Birmingham, United Kingdom.

14. Mitchell J. Schwaber,1,† Patti M. Raney,2 J. Kamile Rasheed,2 James W. Biddle,2 Portia Williams,3 John E. McGowan, Jr.,3 and Fred C. Tenover2, Utility of NCCLS Guidelines for Identifying Extended-Spectrum β-Lactamases in Non-Escherichia coli and Non-Klebsiella spp. of Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol. Jan 2004; 42(1): 294–298.

15. Katia Cheaito and Ghassan M. Matar. The Mediterranean Region: A Reservoir for CTX-M-ESBL-Producing Enterobacteriacae. Jordan Journal of Biological Sciences. Volume 7, Number 1, March .2014

16. Hosam M. Zowawi,corresponding authora,b,* Hanan H. Balkhy,b,* Timothy R. Walsh,a,c,* and David L. Patersona. β-Lactamase Production in Key Gram-Negative Pathogen Isolates from the Arabian Peninsula. Clin Microbiol Rev. Jul 2013; 26(3): 361–380

17. Kamel Adwan1, Naser Jarrar1, Awni Abu-Hijleh1, Ghaleb Adwan1 and Elena Awwad2. Molecular characterization of Escherichia coli isolates from patients with urinary tract infections in Palestine. J Med Microbiol February 2014 vol. 63 no. Pt 2 229-234.

18. Al-Assil B, Mahfoud M, Hamzeh AR. Resistance trends and risk factors of extended spectrum β-lactamases in Escherichia coli infections in Aleppo, Syria. American Journal of Infection Control [2013, 41(7):597-600.

19. Katia Cheaito and Ghassan M. Matar. The Mediterranean Region: A Reservoir for CTX-M-ESBL-Producing Enterobacteriacae. Jordan Journal of Biological Sciences. Volume 7, Number 1, March .2014.