جامعة دمشق
كلية الطب البشري
قسم الطب المخبري

تحري السلالات الجرثومية المنتجة للكاربابينيماز في ذراري الأمعائيات المعزولة من المرضى المقيمين في المشافي بواسطة اختبار هودج المعدل

Detection Carbapenemase Producing Bacterial Isolates of Enterobacteriaceae from Hospitalized Patients by Modified Hodge Test

بحث علمي أعد لنيل شهادة الماجستير في الطب المخبري

برئاسة

الأستاذة الدكتورة

تهاني العلي

بإشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

تيسير البني

إعداد الطالبة

د. علا محمد سمير التباع

٢٠١٣ – ٢٠١٤ م

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 عملاً بحديث رسول الله صلى الله عليه وسلم (لا يشكر الله من لا يشكر الناس). وأخص بالذكر:

أ. م. د. تيسير البني الذي قام بالإشراف على رسالتي وزودني بنصائحه وأفدت من خبرته.

أ. م. د. عبير الكفري التي لا زالت تقدم لي ولغيري الكثير الكثير من دعمها المعنوي وغير المعنوي.

د. رولا حمود (مدير المخابر الطبية) التي زودتني بالسلالة الجرثومية المرجعية اللازمة لدراستي.

ومن قسم الطب المخبري في كلية الطب البشري:

خانم مدور – عضو هيئة فنية مشرفة على الأعمال.

ومن مشفى المواساة:

الكيميائية هيفاء عراط.

آلاء المعطي – هيئة فنية.

كما أشكر والدي الحبيبين الذين أحاطاني بالحب والرعاية وكان دعاؤهما سر توفيقي.

وأشكر زوجي الغالي الذي قدم لي الكثير من دعمه المعنوي ووقته وجهده.

وأشكر من زميلاتي:

د.إسراء ذياب – دراسات عليا / طب مخبري.

د. براء زنبركجي – دراسات عليا / طب مخبري.

د. زينب محمد حسن – دراسات عليا / تشريح مرضي.

الفهرس

القسم الأول : القسم النظري

١ – المقدمة

٢ – الأمعائيات

- **الإمراضية**
- **المستضدات**
- **أفراد عائلة الأمعائيات**
- **الإنتانات بالأمعائيات**
- **الأمراض الناجمة عن عائلة الأمعائيات**

٣– صادات البيتالاكتام

- **البنسلينات**
- **السيفالوسبورينات**
- **الكاربابينيمات**
- **وحيدات الباكتام**

٤ – مقاومة الصادات الحيوية

- **التبدلات الوراثية التي تؤدي إلى المقاومة الدوائية**
- **آليات المقاومة الدوائية**

٥ – أنزيمات البيتا–لاكتاماز

- **التصنيف الجزيئي**
- **التصنيف الوظيفي**

٦- مقاومة الأمعائيات للكاربابينيم

- تعريف الأمعائيات المقاومة للكاربابينيم
- الأمعائيات المقاومة للكاربابينيم
- الوبائيات
- الأهمية الوبائية
- عوامل الخطورة لاكتساب الـــ CRE
- رصد الأمعائيات المنتجة للكاربابينيماز
- مبدأ اختبار الـــ MHT
- إيجابيات الاختبار
- سلبيات الاختبار

٧- إفراز الكاربابينيماز والمقاومة للكاربابينيم

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

مناقشة النتائج

التوصيات والمقترحات

المراجع

المقدمة:

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

هذه المقاومة هي لزمرة الكاربابينيمات. وتدعى هذه الأمعائيات بـــ Carbapenem Resistance Enterobacteriaceae (CRE).

تعتبر الكاربابينيمات أدوية الملاذ الأخير، فمعظم الـــ CRE تبدي مقاومة لمعظم الصادات الأخرى.

وتزيد الـــ CRE تبعاً لما سبق معدل المراضة والوفيات.

أكثر الأمعائيات المقاومة للكاربابينيم هي الكلبسيلة الرئوية.

إنتاج أنزيم الكاربابينيماز هو أهم آلية في مقاومة الأمعائيات للكاربابينيم.

الأمعائيات:

هي عائلة كبيرة من العصيات سلبية الغرام تتواجد في القولون عند الإنسان وعند بعض الحيوانات. كثير منها يعد جزءاً 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 الأمعائيات معاً من الناحية التصنيفية إلا أن تلك الجراثيم تسبب جملة من الأمراض بآليات إمراضية مختلفة. والصفات المشتركة لجميع أفراد هذه العائلة غير المتجانسة هي توضعها التشريحي والعمليات الاستقلابية الأربع التالية:

١- هي جراثيم لا هوائية مخيرة.

٢- جميعها يخمر الغلوكوز.

٣- سلبية الأُكسيداز.

٤- 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 الذيفانات المعوية تفعل الأدنيل سيكلاز ضمن خلايا الأمعاء الدقيقة مسببة الإسهال.[١]

المستضدات:

إن مستضدات عدة أجناس من الأمعائيات خاصة السلمونيلة والشيغيلة مهمة في تحديد هويتها وفي التحريات الوبائية. والمستضدات السطحية الثلاث هي:

١- مستضد الجدار الخلوي (المستضد الجسمي O): هو الجزء الخارجي من عديد السكاريد الشحمي. ويتألف من قليلات سكاريد متكررة مؤلفة من ثلاث أو أربع سكاكر، تتكرر ١٥ - ٢٠ مرة وهو الأساس في التنميط المصلي لكثير من العصيات المعوية. إن عدد مستضدات O المختلفة كبير جداً حيث يوجد حوالي ١٥٠٠ نمط من السلمونيلة و١٥٠ نمطاً من الإشريكية القولونية.

٢- المستضد H: هو بروتين سوطي، يوجد فقط عند الجراثيم ذات السياط مثل الإشريكية والسلمونيلة بينما تفتقده الجراثيم غير المتحركة مثل الكلبسيلة والشيغيلة.

٣- المستضد المحفظي (المستضد عديد السكاريد K): هو مستضد مسيطر في الجراثيم الممحفظة بشدة كالكلبسيلة. يُحَدد هذا المستضد باختبار نوعي (انتفاخ المحفظة) بوجود مصل ضدي نوعي، ويستخدم لتنميط الإشريكية والسلمونيلة التيفية في التحريات الوبائية. ويدعى 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

جدول (١) أفراد عائلة الأمعائيات[٢]

الإنتانات بالأمعائيات:[٣]

تشكل الأمعائيات نسبة هامة من الجراثيم المسؤولة عن عداوى المشافي حيث تتوزع النسب كالتالي:

- الأمعائيات: ٤٣% (الإشريكية القولونية ٢٢,٦% (٤٨% من الأمعائيات)، الكلبسيلة ٨% (١٨,٦%من الأمعائيات)).
- المكورات الإيجابية الغرام: ٣٥% (العنقوديات المذهبة ١٩,٨%).
- جراثيم أخرى سلبية الغرام: ١٤% (الزائفة الزنجارية ١١,١%).
- الفطور: ٦% (نوع المبيضات).
- ميكروبات أخرى: ٢%.

أمثلة عن الأمراض الناجمة عن عائلة الأمعائيات:[١]

العامل الممرض	أمثلة عن الأمراض
الإشريكية القولونية	التهابات السبيل البولي إسهال المسافرين التهابات السحايا عند حديثي الولادة
الشيغيلة	الزحار
السلمونيلة	الحمى التيفية التهاب معوي قولوني
الكلبسيلة	ذات رئة التهاب سبيل بولي
الأمعائية	ذات رئة التهاب سبيل بولي
السيراتية	ذات رئة التهاب سبيل بولي
المتقلبات	التهاب سبيل بولي
اليرسنية	الطاعون التهاب العقد المساريقية التهاب معوي قولوني

جدول (٢) الأمراض الناجمة عن عائلة الأمعائيات[١]

صادات البيتالاكتام:

أولاً: البنسلينات:

هي الصادات الأكثر انتشاراً والأقل سمّية بين الأدوية المعروفة، إذ أن التأثير الجانبي لها هو فرط الحساسية، ويختلف بعضها عن بعض في المجموعة R الموصولة إلى ثمالة الحمض 6-aminopencillanic وتحدد طبيعة هذه السلسلة الجانبية الطيف المضاد للجراثيم ومقاومة الحمض المعدي وحساسية هذه الأدوية للأنزيمات التدركية الجرثومية (أنزيمات 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 وبالتالي 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.

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

٢- 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 وكمال الجدار الخلوي.

٣- الحالات الذاتية: هناك عدد من الجراثيم وخصوصاً المكورات إيجابية الغرام ينتج أنزيمات 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.

ثانياً: السيفالوسبورينات:

السيفالوسبورينات عبارة عن صادات بيتالاكتام ترتبط بشكل صميمي تركيباً ووظيفةً مع البنسلينات. حيث تملك نمط التأثير نفسه للبنسلينات وتتأثر بآليات المقاومة نفسها ولكنها تميل لأن تكون أكثر مقاومة لأنزيمات 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.

الحرائك الدوائية: يتم إعطاء Imipeneme وريدياً ويخترق أنسجة وسوائل الجسم بشكل جيد بما فيها السائل الدماغي الشوكي عندما تكون السحايا ملتهبة. يطرح الدواء بواسطة الرشح الكبي ويخضع للانشطار بواسطة أنزيم دي هيدروببتيداز الموجود في الحافة الفرجونية للأنبوب الكلوي القريب ونتيجة لذلك يتشكل مستقلب غير فعال ويكون ساماً للكلية بشدة.

ويحمي تركيب الـــ Imipeneme مع Cilastin وهو مثبط للدي دي هيدروببتيداز الدواء الأصلي من الانشطار وبالتالي يقي من تشكل المستقلب السام. وهذه يجعل الدواء فعالاً في الأخماج البولية. أما الـــ Meropeneme فلا يخضع لهذا الانشطار ويمكن أن يعطى مفرداً دون Cilastin.

التأثيرات الجانبية: يمكن أن يسبب المركب Imipeneme / Cilastin حدوث غثيان وإقياء وإسهال. وتكون كثرة الحمضات وقلة العدلات أقل شيوعاً. وقد تحرض النوبات العالية من هذا الدواء نوباً اختلاجية.

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:

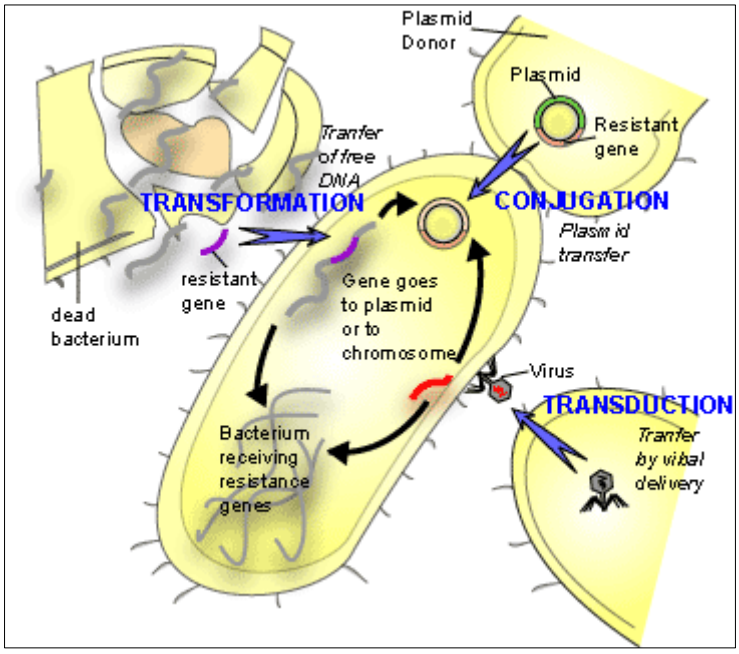
التبدلات الوراثية التي تؤدي إلى المقاومة الدوائية:

١- **الطفرات أو التبدلات العفوية في DND:** 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 تُنسخ وتَنقل خصائصها ومميزاتها إلى الخلية البنت وهكذا يتم إنتاج سلالات معندة.

يتراوح تواتر الطفرات العفوية عادة بين $١٠^{-٧}$ و$١٠^{-٩}$ وهو أقل بكثير من تواتر اكتساب المقاومة بالبلاسميد لذا فالمقاومة عن طريق الطفرة أقل أهمية سريرياً من المقاومة المتواسطة بالبلاسميد.

٢-**نقل DND 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 التَنْبيغ Transduction الذي تتواسطه عاثيات الجراثيم أو عمليات الاستحالة Transformation أو بواسطة الاقتران الجرثومي Conjugation وهو الأهم.(٤)



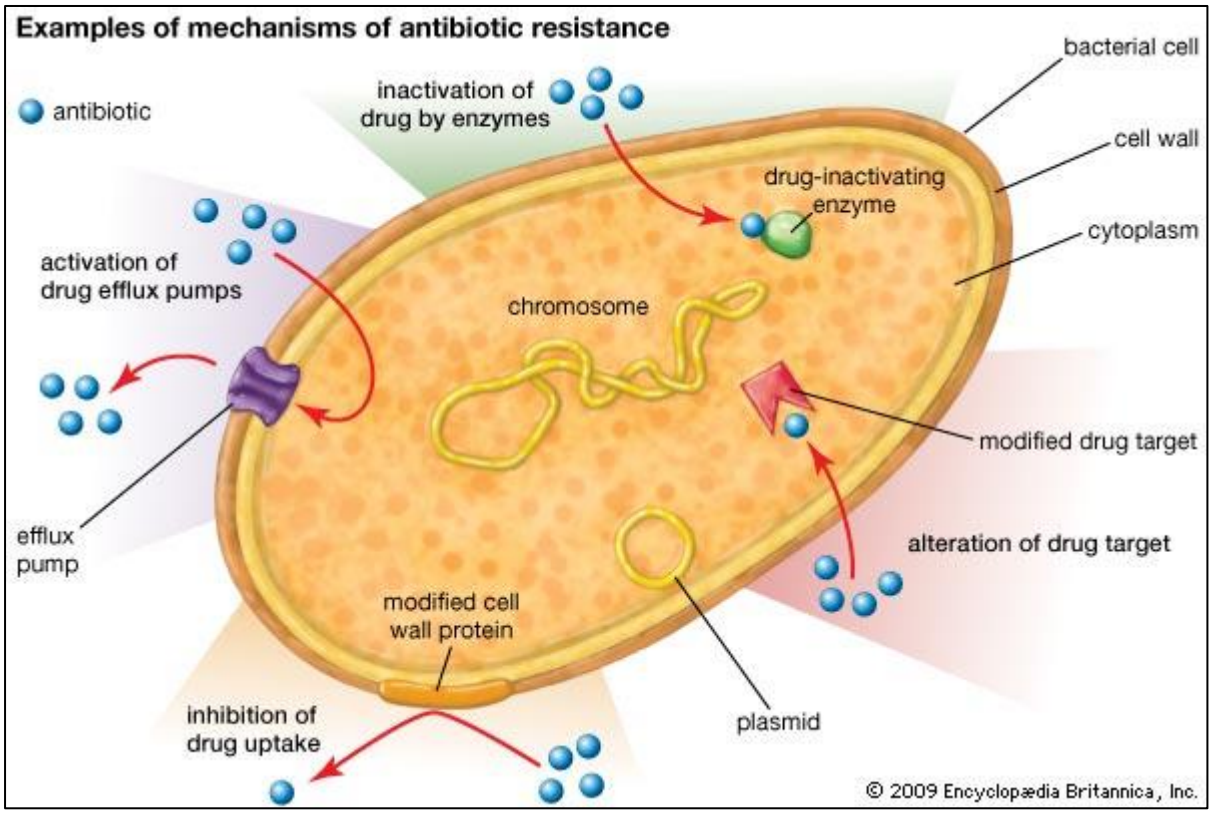
شكل (١)- طرق نقل البلاسميد عبر الجراثيم

<u>آليات المقاومة الدوائية:</u>

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 للميتيسللين.

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 السكاريد الشحمية (سلبيات الغرام) أو جهاز دفع يضخ الدواء خارجاً (التتراسيكلين).

٣-**التثبيط الأنزيمي:** إن القدرة على تخريب أو تثبيط الدواء المضاد للجراثيم يمكن أن يؤدي إلى إحداث المقاومة الجرثومية. فالبيتا-لاكتاماز تخرب عدداً من البنسلينات كما أن الأستيل ترانسفيراز يمكن أن يحول الكلورامفينيكول إلى مركب غير فعال.(٤)



شكل (٢) آليات المقاومة الدوائية

أنزيمات البيتا-لاكتاماز:

هي أنزيمات تنتجها بعض الجراثيم تسبب مقاومة لصادات البيتالاكتام. فصادات البيتالاكتام تملك جميعها عنصراً مشتركاً في بنيتها الجزيئية هو حلقة رباعية تعرف بحلقة البيتالاكتام.

وتقوم هذه الأنزيمات بكسر هذه الحلقة وفتحها من خلال عملية حلمهة، وبالتالي تعطل الخصائص المضادة للجراثيم لهذه الصادات.

يوجد تصنيفان لأنزيمات البيتا-لاكتاماز:

- **<u>التصنيف الجزيئي:</u>** على أساس تتالي الحموض الأمينية حيث تقسم البيتا-لاكتاماز إلى:
  - **Class A, B, D**: التي تستخدم السيرين في حلمهة البيتالاكتام.
  - **Class B** (Metalloenzyme): التي تتطلب وجود شاردة زنك ثنائية التكافؤ لتقوم بحلمهة الركيزة.
- **<u>التصنيف الوظيفي</u>**: وضع عام ١٩٩٥ ثم عدل عام ٢٠٠٥ ثم عدل أيضا عام ٢٠٠٩. يأخذ هذا التصنيف بالحسبان الركيزة التي يؤثر عليها الأنزيم والمثبطات التي يتأثر بها وتثبط عمله (الكلافولينيك أسيد).
  - **Group 1:** سيفالوسبوريناز لا يتأثر بالكلافولينيك أسيد ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (Class C). ومن أنزيمات هذه المجموعة AmpC.
  - **Group 2:** بنسليناز وسيفالوسبوريناز وبيتا-لاكتاماز واسعة الطيف وكاربابينيماز (ذات أساس السيرين). وتتأثر هذه المجموعة بشكل كبير أو قليل بالكلافولينيك أسيد ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (Class A, D). ومن أنزيمات هذه المجموعة ESBL (Extended Spectrum Beta Lactamase).

- **Group 3:** Metallobetalactamase التي تؤثر على البنسلينات والسيفالوسبورينات والكاربابينيمات ولا تتأثر بالكلافولينيك أسيد. ويقابلها بالتصنيف الجزيئي (Class B). ومعظم أنزيمات الكاربابينيماز تندرج في هذه المجموعة.[٥][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

جدول (٣) تصنيف أنزيمات البيتا–لاكتاماز.[٦]

الأمعائيات المقاومة للكاربابينيم (CRE Carbapenem Resistance Enterobacteriaceae):

تعريف الأمعائيات المقاومة للكاربابينيم:[٧]

عرفت الـــ CDC (Center of Disease Control) الـــ CRE على أنها الأمعائيات التي تتصف بما يلي:

١- غير حساسة لواحد أو أكثر من الكاربابينيمات التالية:

- Meropenem
- Imepenem
- Doripenem

٢- مقاومة لكل من سيفالوسبورينات الجيل الثالث التالية:

- Ceftriaxone
- Cefotaxime
- Ceftazidime

آليات مقاومة الأمعائيات للكاربابينيمات:

تقاوم الأمعائيات الكاربابينيم بآليتين رئيسيتين:

١- إنتاج أنزيم الكاربابينيماز: وهو الآلية المسيطرة في الأمعائيات.[٩][١٠]

٢- إفراز السيفالوسبوريناز مع وجود نقص في نفوذية غشاء الخلية الجرثومية للصاد الحيوي عبر المسامات porin loss: فبعض السيفالوسبوريناز لها فعالية محدودة تجاه الكاربابينيم فإذا ترافق ذلك مع نقص نفوذية الخلية أدى ذلك إلى مقاومة الخلية الجرثومية للكاربابينيم.[٨]

الوبائيات:

- خلال العقود الماضية أظهرت الأمعائيات مقاومة تجاه العديد من الصادات لكنها بقيت حساسة للكاربابينيم.
- المقاومة للكاربابينيم كانت نادرة قبل عام ٢٠٠٠.
- عزل جين المقاومة لأول مرة من مشفى في كارولينا الشمالية عام ١٩٩٦.[٩]
- سبب الجين أوبئة في مستشفيات في نيويورك عام ٢٠٠٠ حيث أصيب ٢٤ مريضاً بإنتانات مقاومة للكاربابينيم. ٣٥ مريضاً حملوا الجين دون أعراض وتوفي ٨ من أصل ٢٤ مريضاً.[١١]
- عزل في باريس عام ٢٠٠٥.[١٢]
- عام ٢٠٠٢ كانت ٩% من عينات الكلبسيلة التي جمعت من مدينة نيويورك حاملة لجين المقاومة وارتفعت هذه النسبة إلى ١٨% عام ٢٠٠٤ ثم إلى ٣٨% عام ٢٠٠٨.[١٣]
- بحلول عام ٢٠١١ كان عدد الولايات التي ثبت عزل الجين منها ٣٣ ولاية على الأقل.[١٤]

الأهمية الوبائية:

- ترتبط الـــ CRE بمعدل وفيات عالٍ وصل في بعض الدراسات إلى ٥٠%.[١٥]
- إن الكاربابينيماز المفرز يملك فعالية تجاه كل صادات البيتالاكتام كما أن البلاسميد الحامل للجين المرمز للأنزيم يحمل معه جينات تؤدي إلى مقاومة العديد من الصادات الحيوية الأخرى مما يجعل الخيارات العلاجية محدودة جداً.
- إن الأدوية التي لا تزال الـــCRE حساسة عليها هي الـــ Colistin الذي يبدي سمية كلوية شديدة مما حد من استخدامه كثيراً والـــ Tygacyclin الذي يبدي انتشاراً سيئاً عبر الدم

والمثانة والسائل الدماغي الشوكي مما يجعل استخدامه في إنتانات هذه المواضع عديم الجدوى.[١٦][١٧]

- تنتقل المقاومة للكاربابينيم عبر البلاسميد غالباً الذي ينتقل بسهولة من سلالة جرثومية لأخرى ومن نوع جرثومي لآخر مما يهدد بتشكل فاشيات من الـــ CRE المسببة لإنتانات غير قابلة للعلاج ومهددة للحياة في المشافي إن لم يتم اتخاذ الإجراءات الوقائية للحد من انتشاره.[١٠]

عوامل الخطورة لاكتساب الـــ CRE:[١٥][١٧][١٨][١٩][٢٠]

- وجود المريض في غرف العناية المركزة.
- وجود المريض على أي من الاجهزة الغازية (تهوية آلية، تنبيب رغامى، أكسجة، قثاطر بولية، قثاطر وريدية،... إلخ)
- طول مدة البقاء في المشفى.
- تناول علاج بالصادات لفترة طويلة.

رصد الأمعائيات المنتجة للكاربابينيماز:

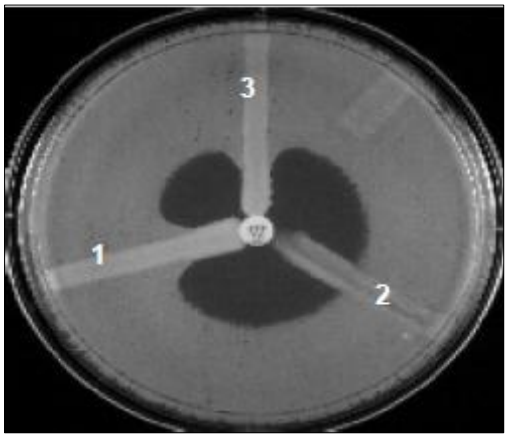
إن رصد الأمعائيات المنتجة للكاربابينيماز في أقسام المشفى المختلفة هو أولى خطوات الوقاية من انتشارها وتشكيلها للفاشيات.

إن كشف ذراري الأمعائيات المنتجة للكاربابينيماز يحمل بعض الصعوبة لأنها تملك تركيز تثبيط أصغري مرتفع لكنه قد يكون لا زال ضمن مجال الحساسية المعتمد (أكبر من ١٦ ملم) وعندما تكون ذراري الأمعائيات في هذه المرحلة فمن المهم للغاية محاولة كشفها لأنها تكون في بداية إفرازها للأنزيم وبالتالي قد تكون حساسة سريرياً للعلاج بالكاربابينيمات وبالتالي من السهولة القضاء عليها في هذه المرحلة.[٢١]

يمكن كشف هذه الذراري بالاعتماد على اختبار هودج المعدل Modified Hodge Test (MHT) الذي توصي كل من الــ CDC والــ CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) بإجرائه لكل عزلة أمعائيات تبدي مجال حساسية أصغر من ٢٢ ملم.[٢٢]

مبدأ اختبار الــ MHT:

إن أنزيم الكاربابينيماز المنتج من أحد الذراري سيخرب الكاربابينيم ويسمح للسلالات الحساسة له والمزروعة معها على الوسط بالنمو باتجاه قرص الكاربابينيم.[٢٢]



شكل (٣) اختبار هودج المعدل منفذ على طبق بقطر ١٠٠ملم. (١) كليبسيلة رئوية ATCC BAA 1706، شاهد إيجابي (٢) كليبسيلة رئوية ATCC BAA 1706، شاهد سلبي (٣) الذرية المختبرة، نتيجة إيجابية.

إيجابيات الاختبار:

- يملك حساسية ونوعية عالية لكشف إنتاج الكاربابينيماز وصلت في بعض الدراسات إلى ١٠٠%[٢١] وفي دراسات أخرى كانت الحساسية ١٠٠% والنوعية ٨٠%[٢٣].
- سهل الإجراء وقليل التكلفة (بخلاف الطرق الأخرى كالــ PCR الذي يعتمد على كشف الجين المرمز لوجود الأنزيم).

سلبيات الاختبار:

- يكشف مقاومة الكاربابينيم الناتجة عن إفراز أنزيم الكاربابينيماز (وهي المسيطرة عادة في الأمعائيات) ولا يكشف المقاومة الناتجة عن آليات المقاومة الأخرى (porin loss) والتي كثيراً ما نجدها في العصيات سلبية الغرام الأخرى كالزوائف والأسينتوباكتر لذا ينحصر استخدامه غالباً في كشف المقاومة لفصيلة الأمعائيات.
- قد يعطي إيجابية كاذبة بوجود السيفالوسبورياز حيث تملك الـــ ESBL فعالية قليلة تجاه الكاربابينيم.
- بعض الذراري الجرثومية تنتج مواد تثبط نمو سلالة E. coli ATCC 25922 مما يؤدي إلى تشكل منطقة فارغة حول خط الزرع (شكل (٤)) وبالتالي لا يمكن قراءة النتيجة في هذه الحالة وتسجل (غير محدد).[٢٢]

شكل (٤) نتيجة غير محددة

إفراز الكاربابينيماز والمقاومة للكاربابينيم:

- لم توصي الــ CDC حتى الآن بتغيير نتيجة اختبار الحساسية من S إلى R في حال كانت نتيجة اختبار هودج المعدل إيجابية (أي الذرية مفرزة للكاربابينيماز) وذلك لأن الذراري المفرزة للأنزيم والتي لا تزال ضمن مجال الحساسية (أكبر من ١٦ ملم) من الممكن أن تكون حساسة سريرياً للكاربابينيمات عند استعمالها لدى المريض.[٧]
- غيرت CLSI من قيم MIC (تركيز النمو الأصغري) للحساسية للميروبينيم من أصغر أو يساوي ٤ (M100-S19)[٢٤] إلى أصغر أو يساوي ١ (M100-S22 Jan2012)[٢٥] لكن ذلك لم يعتمد حتى الآن من قبل الــ FDA (Food and Drug Administration) والــ CDC ولم يطبق عالمياً.[٧]

الدراسة العملية

هدف البحث:

كشف الذراري الجرثومية المنتجة للكاربابينيماز من الأمعائيات وتحديد نسبة انتشارها في مشافي جامعة دمشق.

مواد وطرائق الدراسة:

- **مكان الدراسة:**

مشفى المواساة الجامعي ومشفى الأطفال الجامعي.

- **زمان الدراسة:**

الفترة الممتدة من ٢٠١٢/٨/٢ م إلى ٢٠١٣/٤/٢٣ م.

- **مجموعة الدراسة:**

المرضى المقيمون في مشفى المواساة الجامعي ومشفى الأطفال الجامعي.

- **حجم العينة:**

٣٠٠ عينة مرضية أياً كان نوع العينة (دم، بول، سوائل الجسم، مسحات، قيح، قشع، مفرزات قصبية،... إلخ).

- **معايير إدراج المرضى في الدراسة:**

المرضى المقيمون في المشفى أياً كان القسم الذين قبلوا فيه وأياً كانت فترة الإقامة.

طرائق الدراسة:

أ- **ملء الاستبيان الخاص بالدراسة:** والذي كان كالتالي:

الاسم الثلاثي:	العمر:	الجنس: أنثى □ ذكر □
الشعبة:	رقم الغرفة:	
مصدر العينة:	تاريخ جمع العينة:	
التشخيص المبدئي:	الأمراض المرافقة:	
مدة البقاء في المشفى حتى تاريخ جمع العينة:	القبول في العناية المشددة في المراجعة الحالية:	
تهوية آلية:	قناعات وقنيات أكسجة:	
مداخل وريدية:	أنابيب (قثاطر بولية، فغر قولون، فغر كلية):	
تناول صادات حيوية:	نوعها:	

مع أخذ موافقة المريض من خلال الموافقة المستنيرة:

الموافقة المستنيرة

أنا الدكتورة علا التباع. وأقوم ببحث طبي لصالح كلية الطب البشري.
لقد تم اختيارك للدخول في دراسة أعددتها لأتحرى عن إنتاج الكاربابينيماز في الأمعائيات المعزولة من المرضى المقيمين في المشافي والمسببة للأخماج المشفوية.
الغرض من هذه الدراسة البحث في معدل انتشار الأمعائيات المنتجة للكاربابينيماز المعزولة من المرضى المقيمين في المشافي.
عنوان البحث هو:
تحري السلالات الجرثومية المنتجة للكاربابينيماز في ذراري الأمعائيات المعزولة من المرضى المقيمين في المشافي بواسطة اختبار هودج المعدل.
والآن فإن دخولك في الدراسة طوعي تماماً. ولن تتأثر رعايتك الصحية بذلك. وجميع المعلومات التي ستعطينا إياها ستكون سرية تماماً، فنحن نستخدم هذه المعلومات بدون اسم مع تلك التي نحصل عليها من العديد من المشاركين الآخرين.

التاريخ:

الاسم:

التوقيع:

ب- جمع العينات:

تم أخذ العينات القادمة إلى قسم مخبر الجراثيم في مشفيي المواساة والأطفال الجامعيين.

ت- التعامل مع العينات وخطوات العمل:

١. زرع العينات على الأوساط المناسبة.

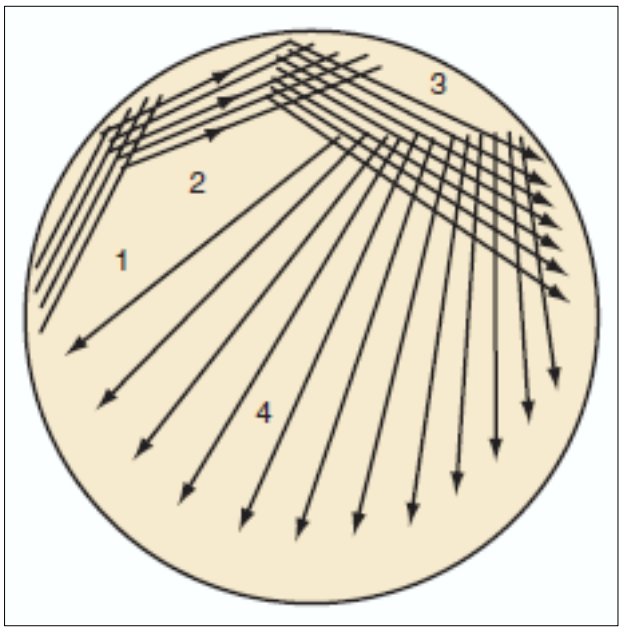
٢. تحديد هوية الجرثوم.

٣. إجراء اختبار التحسس للكاربابينيم للعينات المعزولة السابقة على غراء مولر-هينتون وذلك بطريقة الانتشار القرصي وقياس قطر التثبيط.

٤. إجراء اختبار هودج المعدل للسلالات التي تبدي قطر تثبيط أصغر من ٢٢ ملم للكاربابينيم.

١. زرع العينات:

تم زرع العينات واستفرادها للتأكد من نقاوتها وتحديد نوعها على كل من وسطي الآغار المدمى والـــ EMB.



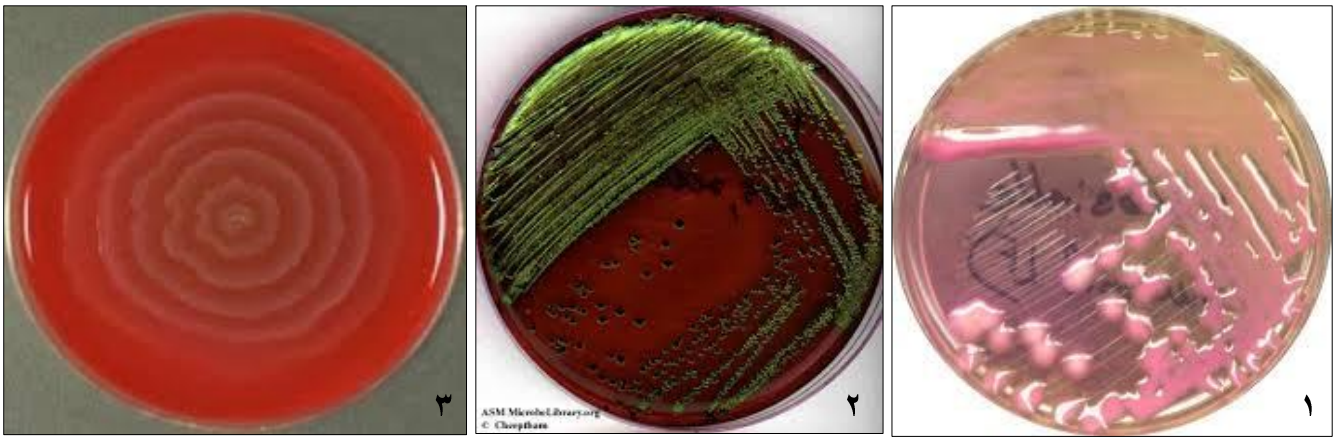
شكل (٥) طريقة الاستفراد

٢. تحديد هوية الجرثوم:

تم تحديد هوية الجرثوم بالاعتماد على ما يلي:

⊡ **<u>شكل المستعمرة:</u>** بعض الجراثيم تبدي شكلاً مميزاً على بعض الأوساط مثل:

- اللمعة المعدنية للإشريكية القولونية.
- المظهر المخاطي للكلبسيلة.
- الانتشار القرصي على الآغار المدمى للمتقلبات.

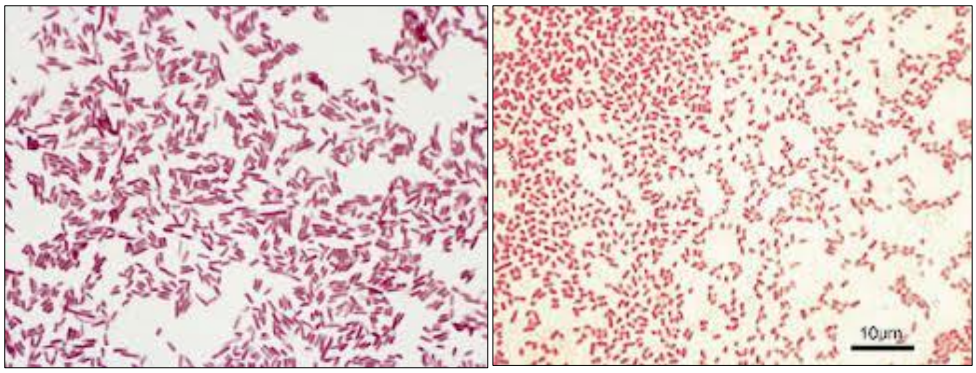


شكل (٦) أشكل بعض المستعمرات: (١) الكلبسيلة (٢) الإشريكية القولونية (٣) المتقلبات

⊡ **<u>الشكل المورفولوجي للجرثوم:</u>**

تم تحضير لطاخة جرثومية ملونة بتلوين غرام للتعرف على:

- الجراثيم سلبية الغرام لاستبعاد الجراثيم إيجابية الغرام.
- شكل الجرثوم: مكورات، عصورات، عصيات.

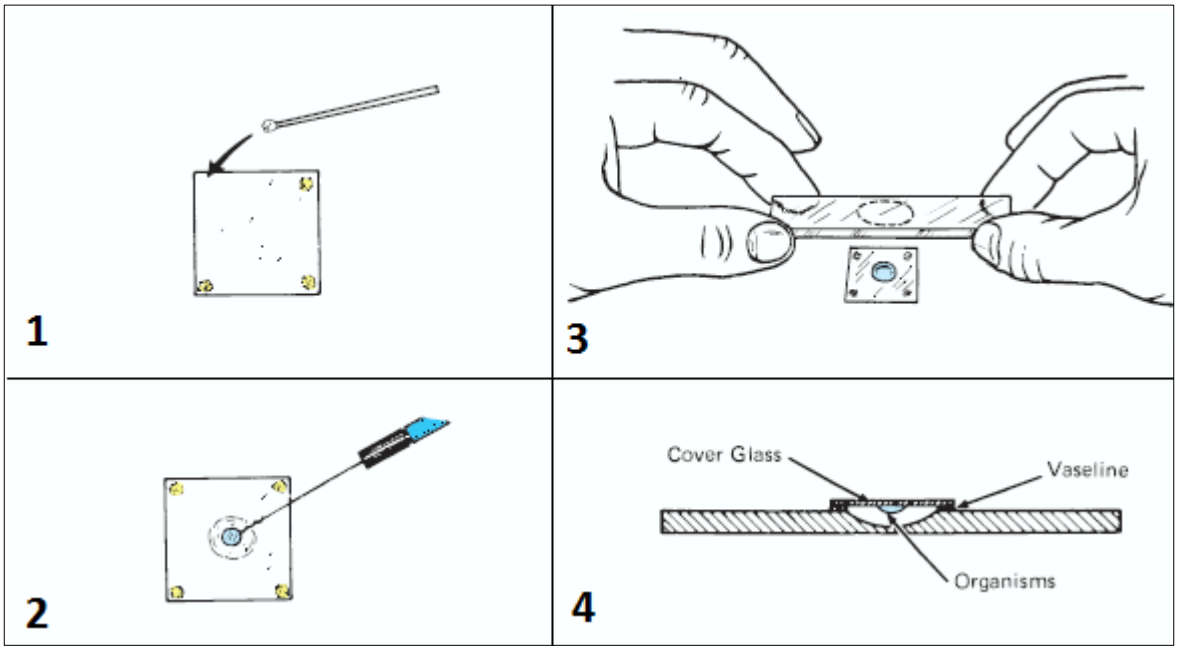


شكل (٧) لطاخات جرثومية ملونة بتلوين غرام

⊡ حركة الجرثوم:[٢]

لتحديد كون الجرثوم متحركاً أم لا تم إجراء اختبار القطرة المعلقة كما يلي:

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



شكل (٨) طريقة إجراء القطرة المعلقة

▣ تحديد بعض الصفات الكيميائية الحيوية:[٢]

١) الزرع على وسط كريغلر:

وسط كريغلر هو وسط متعدد الفحوص، لونه أحمر. يحتوي على: ١% غلوكوز، ١% لاكتوز، بيبتون، أملاح الحديد، حمرة الفينول كمشعر للـــ PH يفيدنا بدراسة الصفات الكيماوية الحيوية كما يلي:

١. دراسة تخمير الغلوكوز: ويظهر باصفرار الغراء القائم (قعر حمضي).

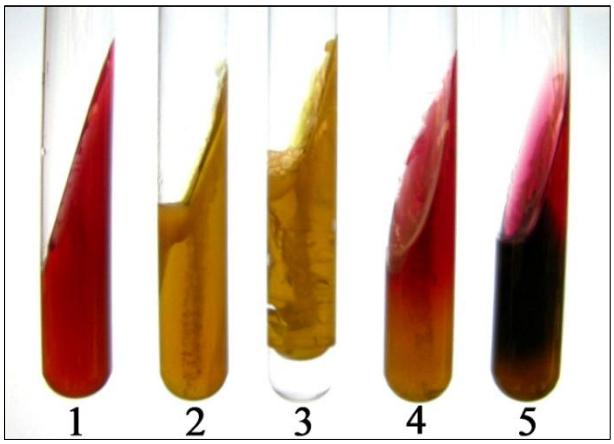
٢. دراسة إطلاق غاز من تخمير الغلوكوز: ويتظاهر على الأقل بفقاعة ضمن الوسط. وربما زادت عن ذلك وتمادت لدرجة أنها تقطع الوسط أو تدفعه نحو الأعلى.

٣. دراسة تخمير اللاكتوز: ويظهر باصفرار الغراء المائل (سطح حمضي).

٤. دراسة إنتاج غاز H2S: ويتظاهر بادئ ذي بدءٍ باسوداد نقطة التقاء السطح بالقعر. لكنه قد يزداد أكثر ليتفشى في كامل الوسط (يرجع ظهور اللون الأسود لوجود أملاح الحديد مع التيوسلفات، والتي تعطي ذلك اللون بوجود H2S).

طريقة العمل:

نأخذ عينة من سطح المستعمرة المعزولة المشبوهة دون أن نقترب من قعرها ثم نزرعها في وسط كريغلر غرزاً بالغانة في منتصف القعر ونشراً على السطح ويحضن لمدة تتراوح بين ١٢ و١٨ ساعة.

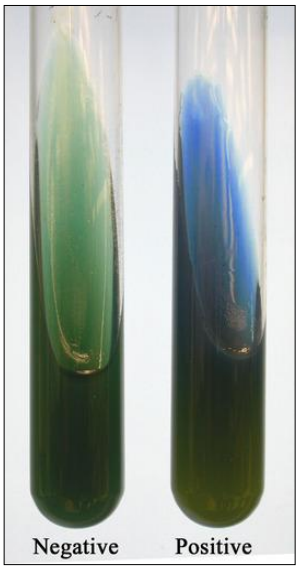


شكل (٩) نتائج الزرع على وسط كريغلر

الأنبوب	السطح	القعر	الغاز	H2S	الأجناس الممثلة
١	قلوي	قلوي	–	–	الزائفة
٢ / ٣	حمضي	حمضي	+ / –	–	الإشريكية، الكلبسيلة، الأمعائية
٤	قلوي	حمضي	–	–	الشيغيلة، السيراتية
٥	قلوي	حمضي	+	+	السلمونيلة، المتقلبة

جدول (٤) نتائج الزرع على وسط كريغلر

٢) وسط سيمون سيترات[٢]



شكل (١٠) نتائج الزرع على وسط سيمون سيترات

يحتاج الجرثوم في نموه إلى الكربون. ووسط سيمون سيترات لا يحوي إلا السيترات المعدنية كمصدر للكربون. وعندما ينزع الجرثوم الكربون من السيترات يترافق ذلك مع قلونة الوسط فينقلب لون مشعر الوسط وهو زرقة البروموتيمول من الأخضر إلى الأزرق فنقول: السيترات إيجابي.

طريقة العمل:

تزرع عينة مأخوذة من سطح مستعمرة جرثومية معزولة من وسط صلب على الوسط بشكل متعرج من أسفله باتجاه فوهة الأنبوب ويحضن لمدة ١ – ١٠ أيام ويكفي عادة ١ – ٣ أيام.

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

جدول (٥) نتائج زرع الأمعائيات على وسط سيمون سيترات

٣) اختبار الأُكسيداز:

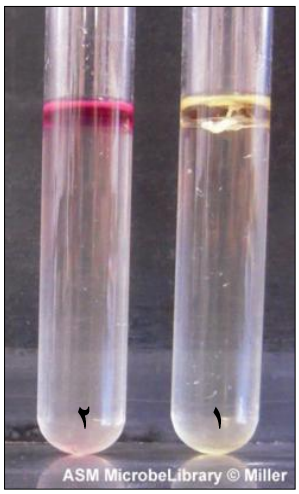
يهدف هذا الاختبار للكشف عن أنزيم الستوكروم أُكسيداز الذي يتوسط سلسلة نقل الإلكترون. في اختبار الأُكسيداز هناك صبغة عديمة اللون مثل (N, N-dimethyl-p-phenylenediamine) تعمل كمستقبل صنعي للإلكترون، ففي حال كانت البكتريا إيجابية الأُكسيداز سوف يتأكسد هذا الصباغ وينتج عنه معقد ملون (indophenol blue). أقراص الأُكسيداز هي أقراص عقيمة مشربة بـــ N, N-dimethyl-p-phenylenediamine oxalate, ascorbic acid and a-naphthol. وتغير لون القرص إلى الأزرق يدل على تشكل المعقد اللوني وكون البكتيريا إيجابية الأُكسيداز.

طريقة العمل:

نأخذ مستعمرة نقية معزولة ونفرشها على قرص الأُكسيداز. يظهر التفاعل خلال ٥ – ١٠ ثوان بدرجة حرارة ٢٥ – ٣٠ مئوية. كما قد تظهر نتيجة إيجابية متأخرة بعد ١٠ – ٦٠

ثانية. أما الإيجابية الحاصلة بعد تجاوز ٦٠ ثانية فلا يعتد بها. حيث يدل عدم تغير اللون أو تغيره بعد تجاوز ٦٠ ثانية على سلبية الاختبار.

٤) اختبار الأندول:



شكل (١١)
نتائج اختبار الأندول
(١) سلبي (٢) إيجابي

بعض الجراثيم لديها القدرة على أن تدرّك الحمض الأميني تريبتوفان منتجة الأندول والأمونيا وحمض البيروفيك. حيث يمكن استخدام حمض البيروفيك من العضيات لأغراض استقلابية متعددة. الأنزيم المسؤول عن شطر التريبتوفان هو التريبتوفاناز. إن تحطيم التريبتوفان بالأنزيم يمكن كشفه بكاشف كوفاك Kovac's Reagent الذي يشكل لون أزرق غامق بوجود الأندول. يستخدم مرق التريبتوفان ١% لهذا الاختبار لأنه يحوي كمية عالية من التريبتوفان.

طريقة العمل:

نضيف ١٠ – ١٢ قطرة من كاشف كوفاك إلى مرق التريبتوفان المزروع بالجراثيم المراد اختبارها. في حال إيجابية الاختبار تتشكل طبقة حمراء على سطح المرق.

الأمعائيات إيجابية الأندول	الأمعائيات سلبية الأندول
Edwardsiella sp	Enterobacter Neisseria sp
Escherichia coli	most Klebsiella sp
Klebsiella oxytoca	Proteus mirabilis
Proteus sp. (not P. mirabilis)	Salmonella sp
	Serratia sp
	Yersinia sp

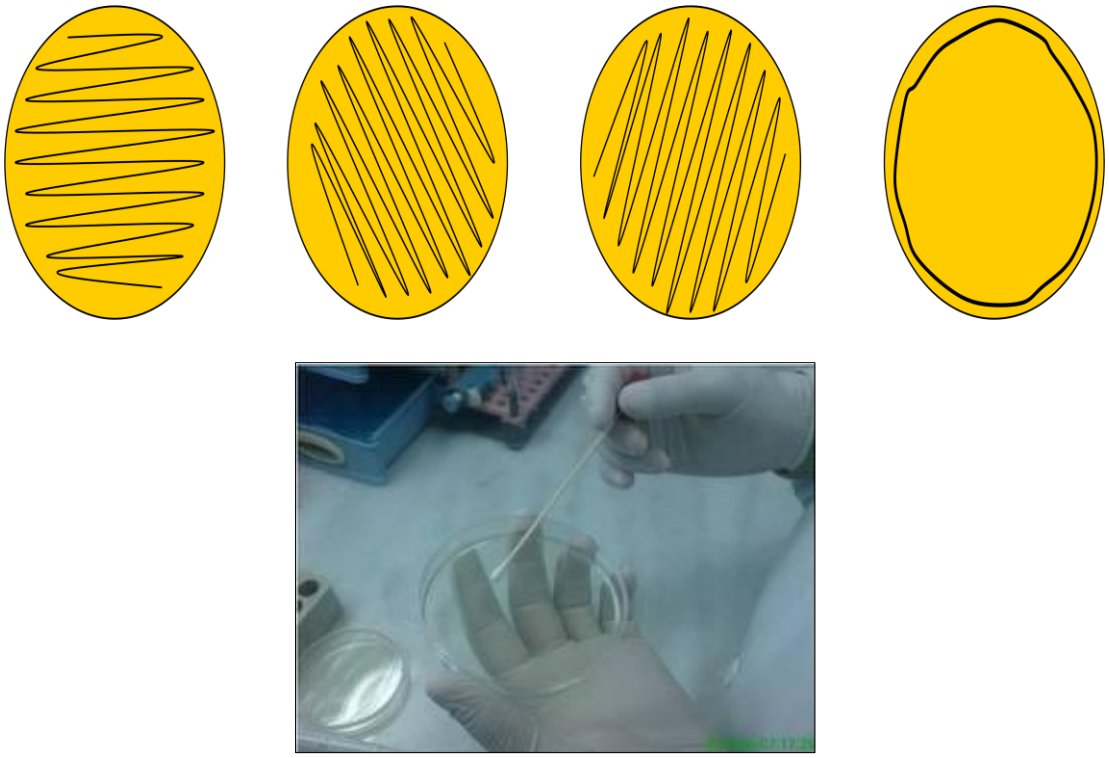
جدول (٦) تصنيف الأمعائيات حسب اختبار الأندول

٣. تحديد حساسية الجرثوم على الكاربابينيم باستخدام طريقة الانتشار القرصي:

تعتبر طريقة (كيربي – باور المعدلة) الطريقة المعتمدة عالمياً لإجراء اختبارات التحسس بطريقة القرص المنتشر على الغراء.

الوسط المستعمل لذلك وسط مولر–هينتون الذي يحتوي على بروتينات قليلة ذات وزن جزيئي منخفض، PH معتدل (٧,٢ – ٧,٤) ومنزوع الـــ PAPA 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 الطبق وبكل الاتجاهات باستخدام ماسحة قطنية عقيمة (كما في الشكل (١٢)) ثم ترك ليجف لمدة لا تزيد عن ١٥ دقيقة ثم وضع قرص الكاربابينيم (وهو عبارة عن قرص ورقي دائري الشكل مشرب بكمية مدروسة من صاد الكاربابينيم) على الطبق بطريقة جيدة بحيث تكون المسافة الفاصلة بين القرص والآخر حوالي ٢ سم ومن ثم وضعت الأطباق بالحاضنة إلى اليوم التالي.



شكل (١٢) طريقة توزيع المعلق الجرثومي على طبق مولر–هينتون

في اليوم التالي تمت قراءة هالة تثبيط النمو الجرثومي حول القرص الموضوع على طبق مولر–هينتون، وتم قياس قطره الدائري بالـــ ملم، وتمت مقارنة هذه الأقطار الناتجة معنا بالأرقام المدروسة عالمياً، بحيث نصنف هذا الجرثوم المفحوص من ناحية حساسيته لتأثير الصاد في الزجاج إلى:

- حساس S إذا كان القطر أكبر من ١٦.
- مقاوم R إذا كان القطر أصغر من ١٤.
- متوسط الحساسية I إذا كان القطر بين ١٤ و١٦.

٤. إجراء اختبار هودج المعدل لكل السلالات الجرثومية التي تبدي قطر تحسس أصغر من ٢٢[٢٢]:

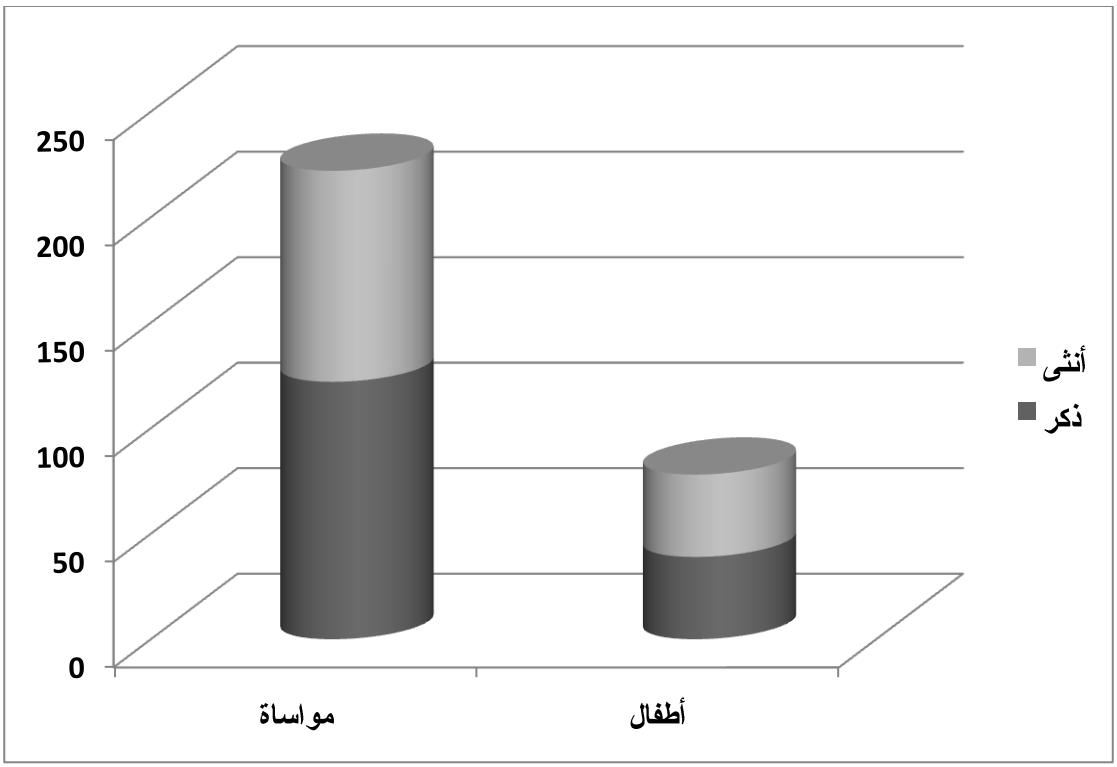
طريقة الاختبار:

- نحضر ٥ مل من معلق جرثومي من سلالة E.coli ATCC 25922 بعكر ٠,٥ ماك فارلاند.
- نمدد المعلق السابق بنسبة ١:١٠ وذلك بإضافة ٠,٥ مل منه إلى ٤,٥ مل من المصل الفيزيولوجي.
- نمد المعلق الجرثومي الممدد على طبق مولر–هينتون بواسطة ماسحة قطنية عقيمة ونتركه ٣ – ٥ دقائق حتى يجف.
- نضع قرص ميروبينيم ١٠ ملغ في منتصف الطبق.
- نأخذ من مزرعة الجرثوم المراد التحري عن إنتاج الأنزيم لديه بواسطة غانة ونمد بشكل خط مستقيم بدءاً من قرص الميروبينيم باتجاه المحيط.
- يمكن فحص ٤ عينات (٤ خطوط متعامدة) على نفس الطبق.
- نحضن بدرجة حرارة ٣٧ مئوية لمدة ١٦ – ٢٤ ساعة ثم نقرأ بعدها النتيجة.

نتائج الدراسة

شملت الدراسة ٣٠٠ مريض منهم ٢٢٢ مريضاً في مشفى المواساة الجامعي و٧٨ مريضاً في مشفى الأطفال الجامعي.

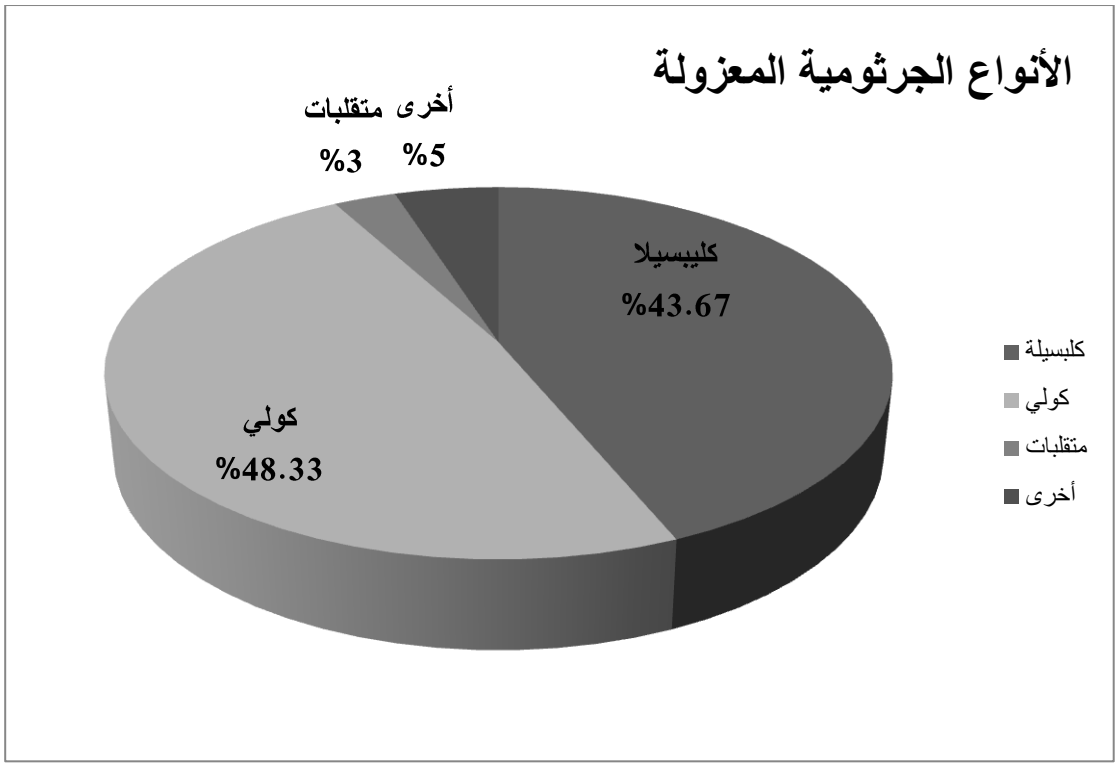
في مشفى المواساة الجامعي كان ١٠٠ من المرضى إناثاً و١٢٢ منهم ذكوراً، وفي مشفى الأطفال الجامعي كان ٣٩ من المرضى إناثاً و٣٩ منهم ذكوراً.



١. نتائج الزرع الجرثومي:

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

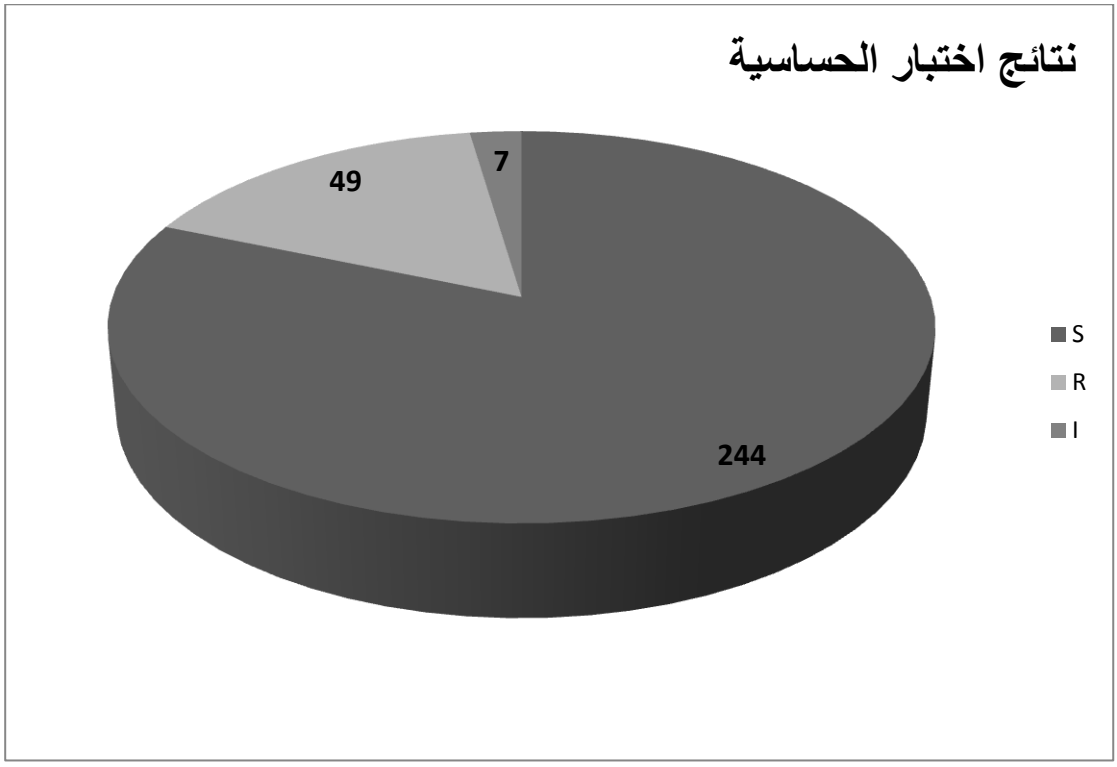
نوع الجرثوم	العدد	النسبة
كولي	١٤٥	%٤٨,٣٣
كلبسيلة	١٣١	%٤٣,٦٧
متقلبات	٩	%٣
أخرى	١٥	%٥
المجموع	**٣٠٠**	**%١٠٠**



٢. نتائج اختبار الحساسية:

بإجراء اختبار الحساسية بطريقة كيربي – باور تم تقسيم العينات إلى مقاوم R (قطر أصغر من ١٤) متوسط الحساسية I (قطر بين ١٤ و١٦) وحساس S (قطر أكبر من ١٦).

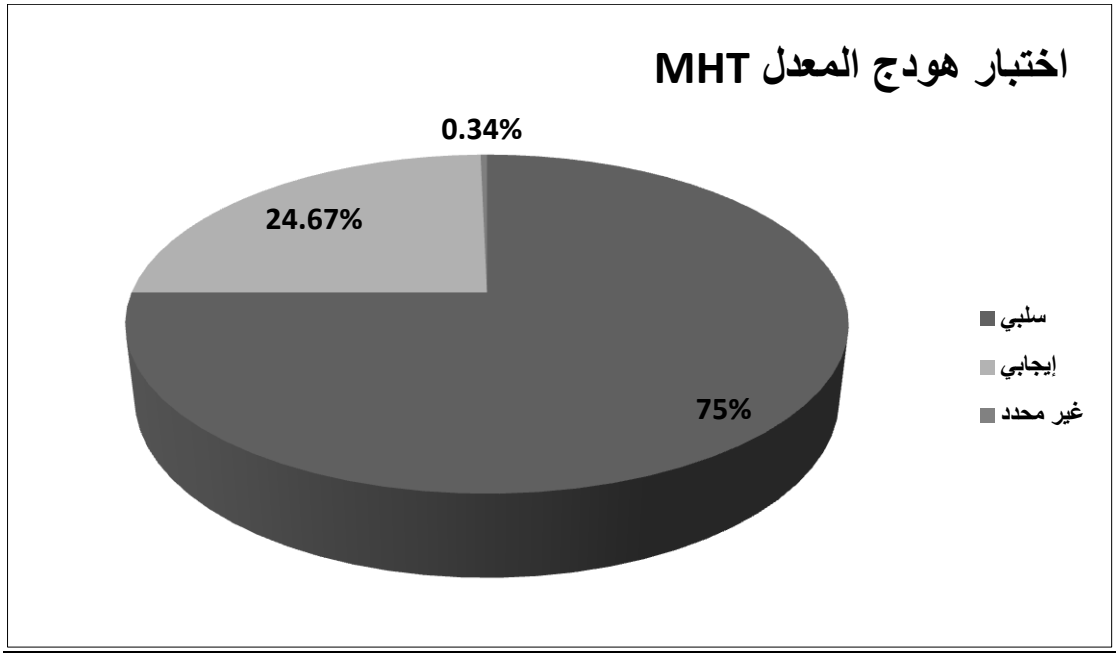
قطر التحسس	العدد	النسبة
أصغر من ١٤	٤٩	%١٦,٣٣
بين ١٤ و١٦	٧	%٢,٣٤
أكبر من ١٦	٢٤٤	%٨١,٣٣
المجموع	**٣٠٠**	**%١٠٠**



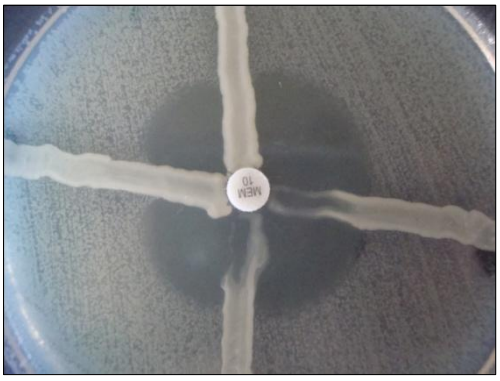
٣. نتائج اختبار هودج المعدل:

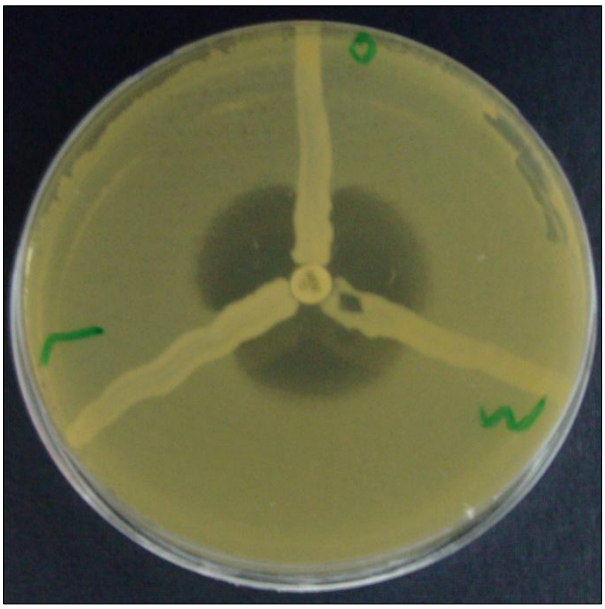
تم إجراء اختبار هودج المعدل على كل العينات التي تبدي قطر تثبيط أصغر من ٢٢ بطريقة كيربي – باور فكان ٧٤ منهم إيجابياً و٢٢٥ منهم سلبياً و١ غير محدد.

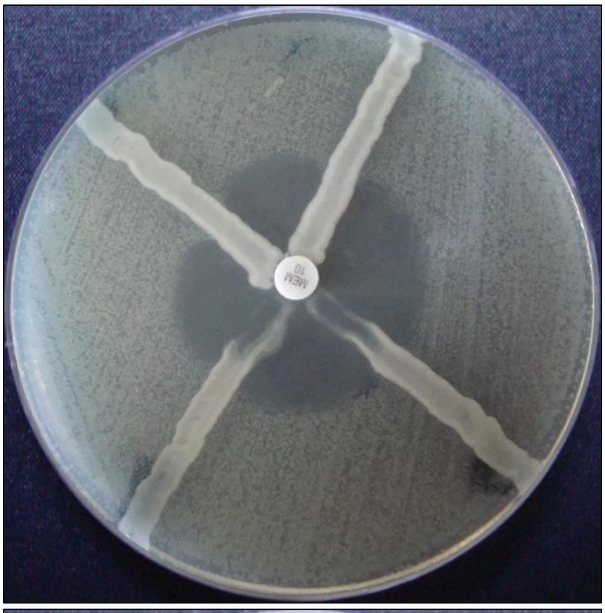
MHT	العدد	النسبة
إيجابي	٧٤	%٢٤,٦٧
سلبي	٢٢٥	%٧٥
إيجابي / سلبي	١	%٠,٣٤
المجموع	**٣٠٠**	**%١٠٠**

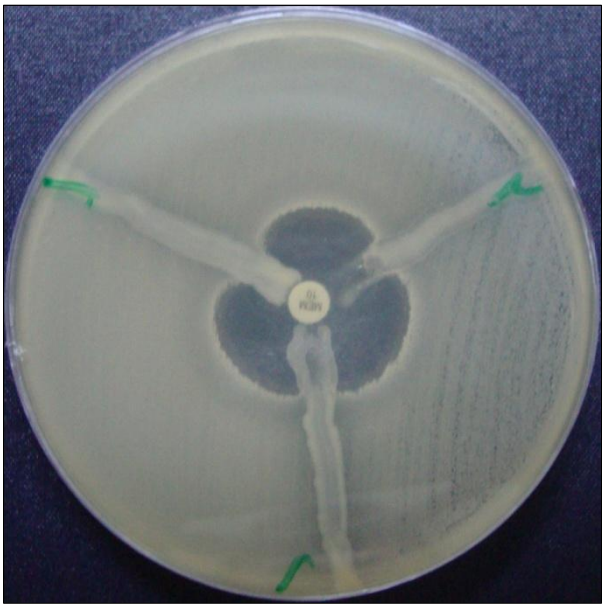


وتبين الأشكال التالية بعض النتائج الإيجابية التي حصلنا عليها:





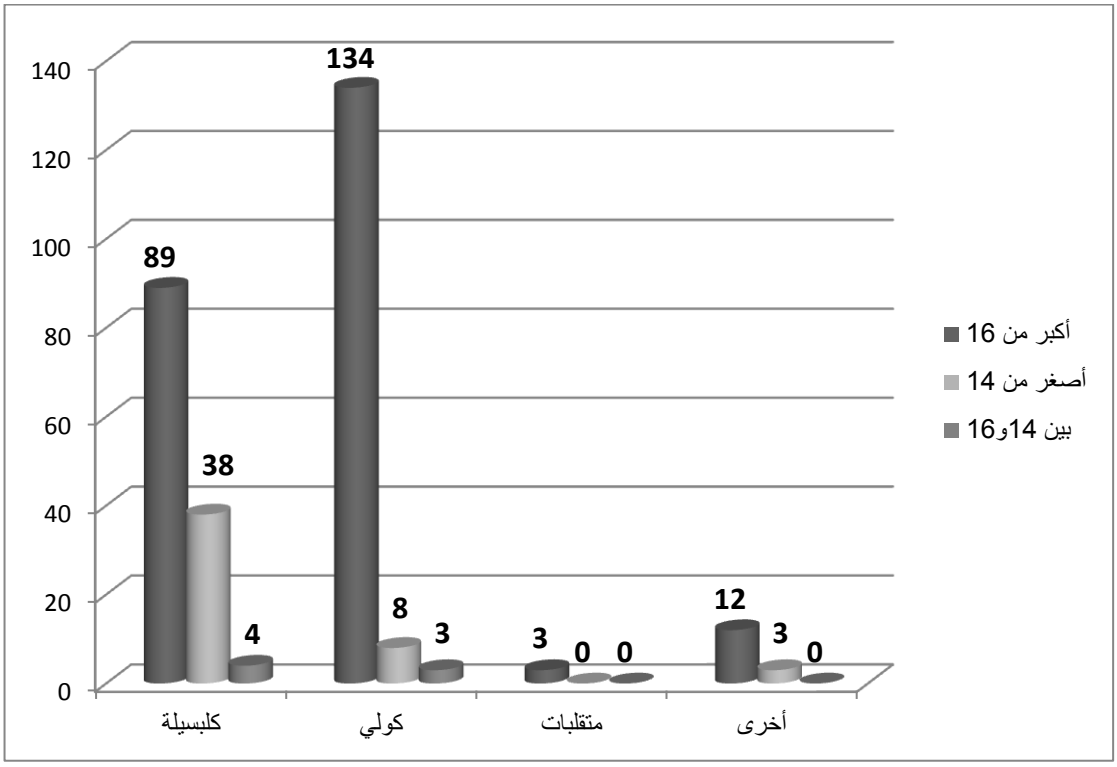




٤. توزع الأنواع الجرثومية حسب قطر التحسس:

كان توزع الأنواع الجرثومية حسب قطر التحسس كالتالي:

نوع الجرثوم	المجموع		قطر التحسس					
			أصغر من ١٤		بين ١٤ و١٦		أكبر من ١٦	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
كلبسيلة	١٣١	%٤٣,٦٧	٣٨	%٢٩,٠١	٤	%٣,٠٥	٨٩	%٦٧,٩٤
كولي	١٤٥	%٤٨,٣٣	٨	%٥,٥٢	٣	%٢,٠٧	١٣٤	%٩٢,٤١
متقلبات	٩	%٣	٠	%٠	٠	%٠	٩	%١٠٠
أخرى	١٥	%٥	٣	%٢٠	٠	%٠	١٢	%٨٠
المجموع	**٣٠٠**	**%١٠٠**	**٤٩**	**%١٦,٣٣**	**٧**	**%٢,٣٣**	**٢٤٤**	**%٨١,٣٣**

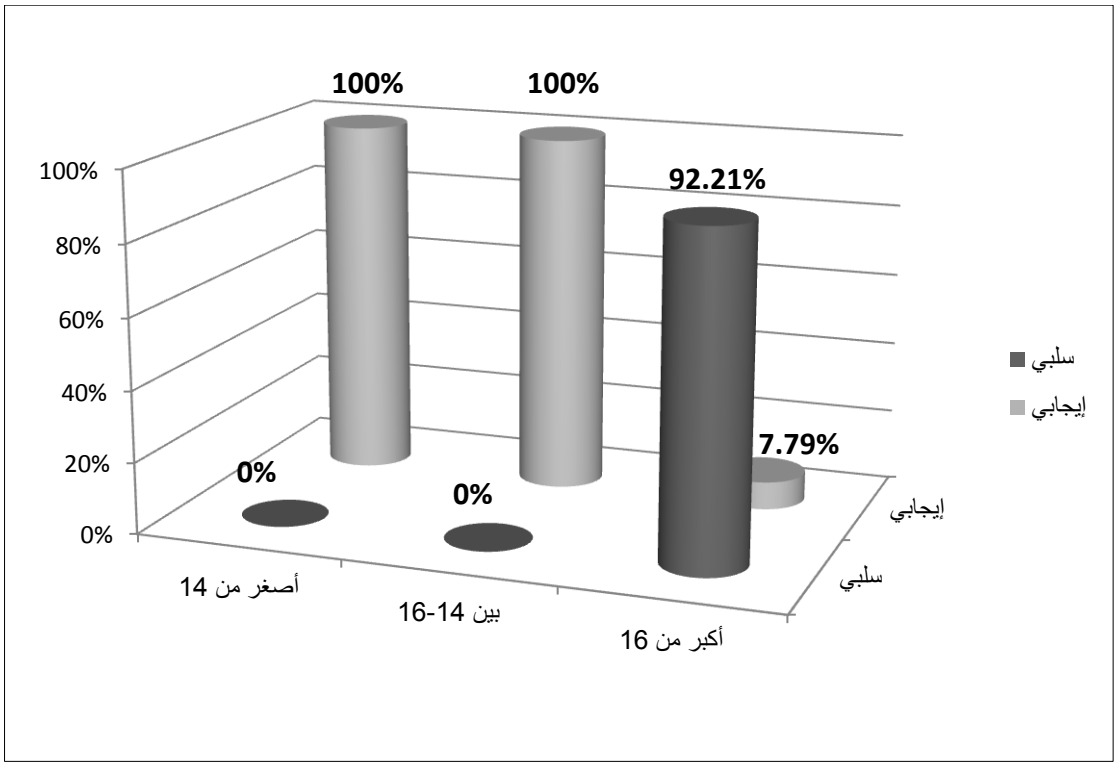


٥. توزع نتائج اختبار هودج المعدل:

١) حسب قطر التحسس:

كان توزع نتائج اختبار هودج المعدل حسب قطر التحسس كالتالي:

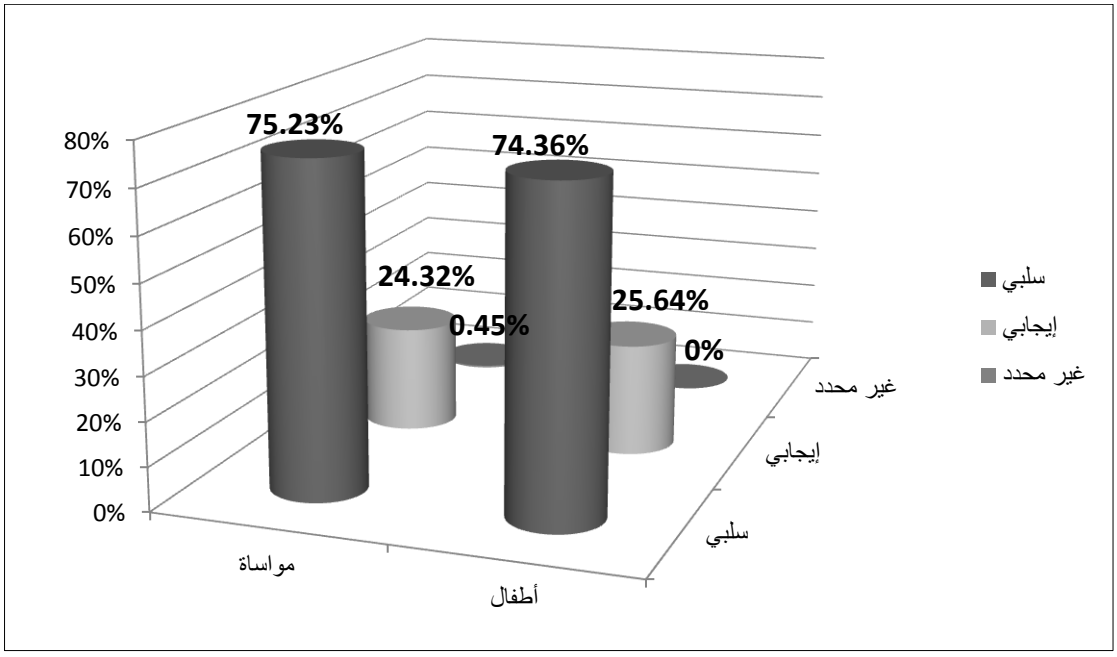
قطر التحسس	العدد	النسبة	MHT			
			إيجابي		سلبي	
			العدد	النسبة	العدد	النسبة
أصغر من ١٤	٤٨	%١٦,٠٥	٤٨	%١٠٠	٠	%٠
بين ١٤ و١٦	٧	%٢,٣٤	٧	%١٠٠	٠	%٠
أكبر من ١٦	٢٤٤	%٨١,٦١	١٩	%٧,٧٩	٢٢٥	%٩٢,٢١
المجموع	**٢٩٩**	**%١٠٠**	**٧٤**	**%٢٤,٧٥**	**٢٥٥**	**%٧٥,٢٥**



٢) <u>حسب المشفى:</u>

كانت نتائج اختبار هودج المعدل متقاربة بين مشفيي المواساة والأطفال:

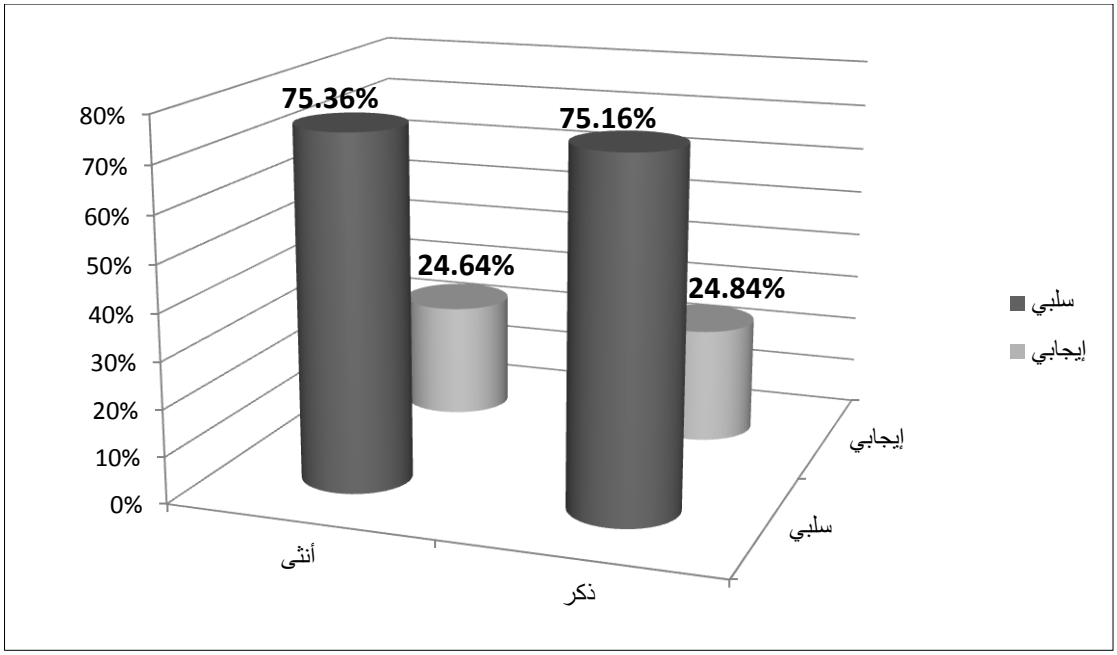
MHT	مشفى المواساة		مشفى الأطفال	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة
إيجابي	٥٤	%٢٤,٣٢	٢٠	%٢٥,٦٤
سلبي	١٦٧	%٧٥,٢٣	٥٨	%٧٤,٦٣
إيجابي / سلبي	١	%٠,٤٥	٠	%٠
المجموع	**٢٢٢**	**%٧٤**	٧٨	**%٢٦**



٣) حسب الجنس:

كانت نسبة الإيجابية متقاربة بين الذكور والإناث:

MHT	ذكر		أنثى	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة
إيجابي	٤٠	%٢٤,٨٤	٣٤	%٢٤,٦٤
سلبي	١٢١	%٧٥,١٦	١٠٤	%٧٥,٣٦
المجموع	**١٦١**	**%١٠٠**	**١٣٨**	**%١٠٠**

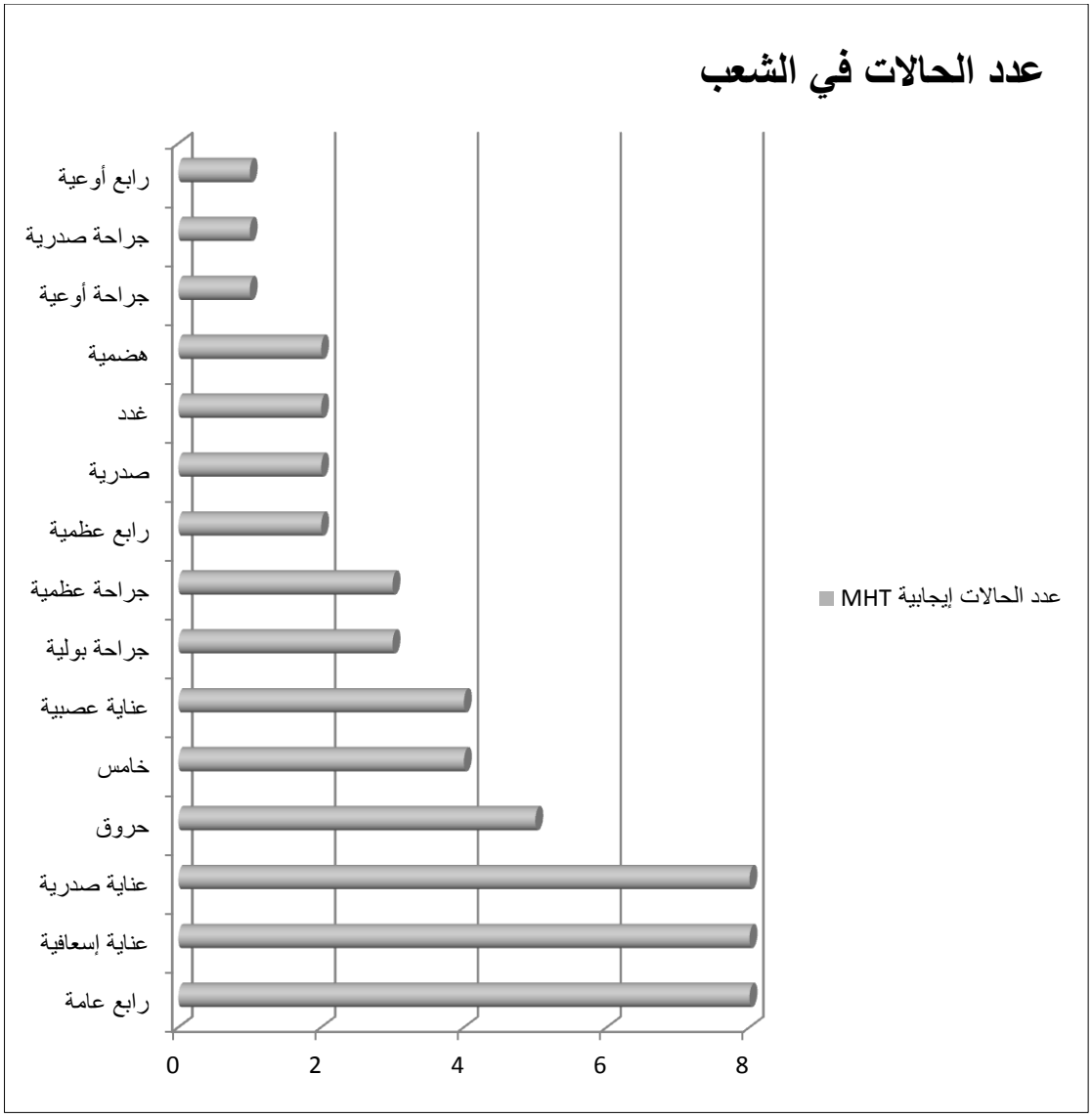


٤) **حسب الشعب:**

أ- **مشفى المواساة:**

كان توزع المرضى في شعب مشفى المواساة الجامعي كالتالي:

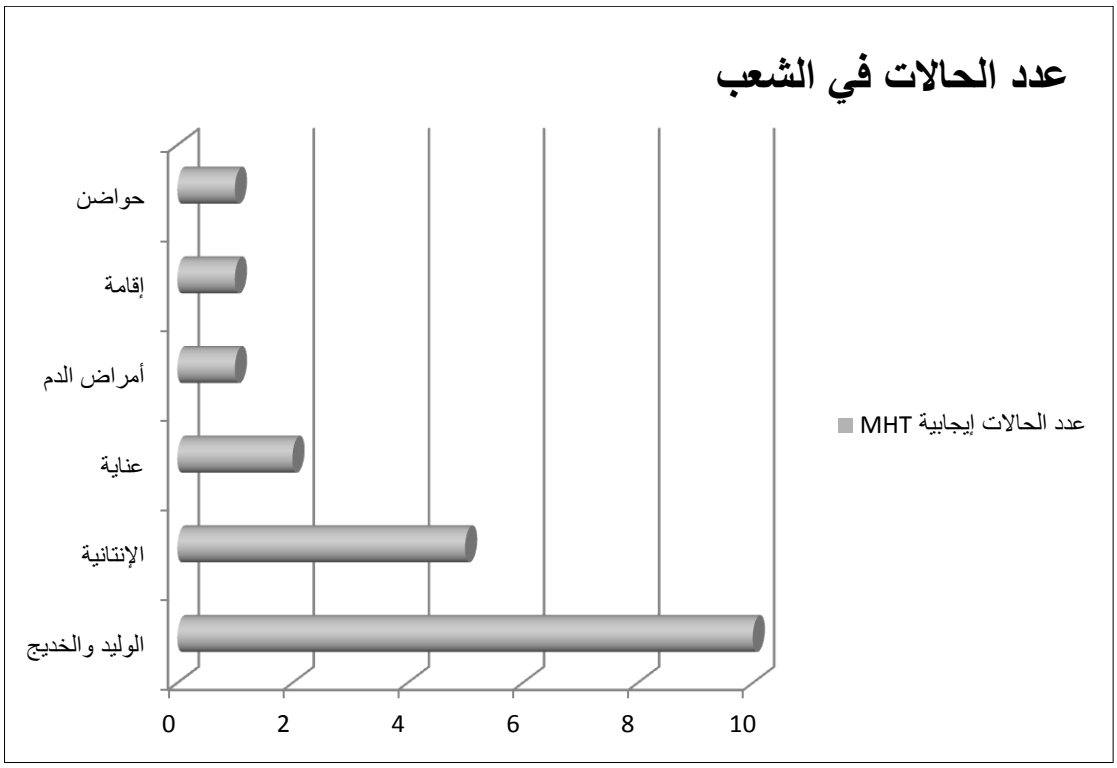
الشعبة	إيجابي		سلبي		المجموع	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
رابع عامة	٨	%٢٦,٦٧	٢٢	%٧٣,٣٣	٣٠	%١٣,٥٧
عناية إسعافية	٨	%٦١,٥٤	٥	%٣٨,٤٦	١٣	%٥,٨٨
عناية صدرية	٨	%٦١,٥٤	٥	%٣٨,٤٦	١٣	%٥,٨٨
حروق	٥	%٣١,٢٥	١١	%٦٨,٧٥	١٦	%٧,٢٤
إسعاف داخلية	٤	%١٢,١٢	٢٩	%٨٧,٨٨	٣٣	%١٤,٩٣
عناية عصبية	٤	%٣٠,٧٧	٩	%٦٩,٢٣	١٣	%٥,٨٨
جراحة بولية	٣	%٢٥	٩	%٧٥	١٢	%٥,٤٣
جراحة عظمية	٣	%٢٥	٩	%٧٥	١٢	%٥,٤٣
رابع عظمية	٢	%١١,١١	١٦	%٨٨,٨٩	١٨	%٨,١٤
صدرية	٢	%٢٨,٥٧	٥	%٧١,٤٣	٧	%٣,١٧
غدد	٢	%٤٠	٣	%٦٠	٥	%٢,٢٦
هضمية	٢	%١٨,١٨	٩	%٨١,٨٢	١١	%٤,٩٨
جراحة أوعية	١	%٣٣,٣٣	٢	%٦٦,٦٧	٣	%١,٣٦
جراحة صدرية	١	%٢٥	٣	%٧٥	٤	%١,٨١
رابع أوعية	١	%١٠٠	٠	%٠	١	%٠,٤٥
أذنية	٠	%٠	٢	%١٠٠	٢	%٠,٩
جراحة عامة	٠	%٠	٣	%١٠٠	٣	%١,٣٦
خمجية	٠	%٠	١	%١٠٠	١	%٠,٤٥
دم	٠	%٠	٢	%١٠٠	٢	%٠,٩
رابع بولية	٠	%٠	١	%١٠٠	١	%٠,٤٥
رابع عصبية	٠	%٠	٣	%١٠٠	٣	%١,٣٦
رثوية	٠	%٠	٣	%١٠٠	٣	%١,٣٦
عصبية	٠	%٠	٧	%١٠٠	٧	%٣,١٧
كلية	٠	%٠	٧	%١٠٠	٨	%٣,٦
المجموع	**٥٤**	**%٢٤,٤٣**	**١٦٧**	**%٧٥,٧٥**	**٢٢١**	**%١٠٠**


عدد الحالات في الشعب
رابع أوعية
جراحة صدرية
جراحة أوعية
هضمية
غدد
صدرية
رابع عظمية
جراحة عظمية
جراحة بولية
عناية عصبية
خامس
حروق
عناية صدرية
عناية إسعافية
رابع عامة
0
2
4
6
8
عدد الحالات إيجابية MHT

ب- مشفى الأطفال:

كان توزع نتائج اختبار هودج المعدل كالتالي:

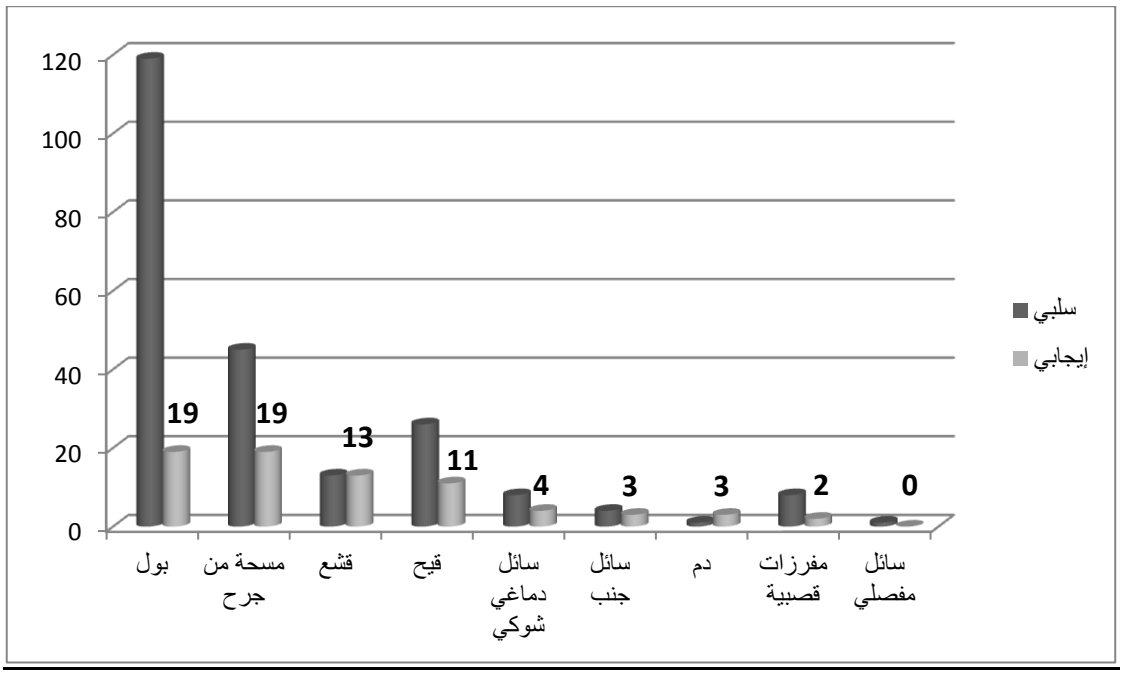
الشعبة	إيجابي		سلبي		المجموع	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
الوليد والخديج	١٠	%٨٣,٣٣	٢	%١٦,٦٧	١٢	%١٥,٣٨
الإنتانية	٥	%٣١,٢٥	١١	%٦٨,٧٥	١٦	%٢٠,٥١
عناية	٢	%٢٨,٧٥	٥	%٧١,٤٣	٧	%٩
أمراض الدم	١	%٧,١٤	١٣	%٩٢,٨٦	١٤	%١٧,٩٥
إقامة	١	%١٦,٦٧	٥	%٨٣,٣٣	٦	%٧,٦٩
حواضن	١	%٥٠	١	%٥٠	٢	%٢,٥٦
الجراحة	٠	%٠	١٠	%١٠٠	١٠	%١٢,٨٢
العامة	٠	%٠	٩	%١٠٠	٩	%١١,٥٤
غسيل كلية	٠	%٠	١	%١٠٠	١	%١,٢٨
كلية	٠	%٠	١	%١٠٠	١	%١,٢٨
المجموع	**٢٠**	**%٢٥,٦٤**	**٥٨**	**%٧٤,٣٦**	**٧٨**	**%١٠٠**



٥) <u>حسب مصدر العينة:</u>

كان توزع نتائج اختبار هودج المعدل حسب مصدر العينة كالتالي:

مصدر العينة	المجموع		MHT			
			إيجابي		سلبي	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
بول	١٣٨	%٤٦	١٩	%١٣,٧٧	١١٩	%٨٦,٢٣
مسحة من جرح	٦٤	%٢١,٤	١٩	%٢٩,٦٩	٤٥	%٧٠,٣١
قشع	٢٦	%٨,٧	١٣	%٥٠	١٣	%٥٠
قيح	٣٧	%١٢,٣٧	١١	%٢٩,٧٣	٢٦	%٧٠,٢٧
سائل دماغي شوكي	١٢	%٤	٤	%٣٣,٣٣	٨	%٦٦,٦٧
سائل جنب	٧	%٢,٣٤	٣	%٤٢,٨٦	٤	%٥٧,١٤
دم	٤	%١,٣٤	٣	%٧٥	١	%٢٥
مفرزات قصبية	١٠	%٣,٣	٢	%٢٠	٨	%٨٠
سائل مفصلي	١	%٠	٠	%٠	١	%١٠٠
المجموع	**٢٩٩**	**%١٠٠**	**٧٤**	**%٢٤,٧٥**	**٢٢٥**	**%٧٥,٢٥**



٦) **<u>حسب تاريخ جمع العينة:</u>**

كانت النتائج الإيجابية لاختبار هودج المعدل في ازدياد من بداية الدراسة إلى نهايتها:

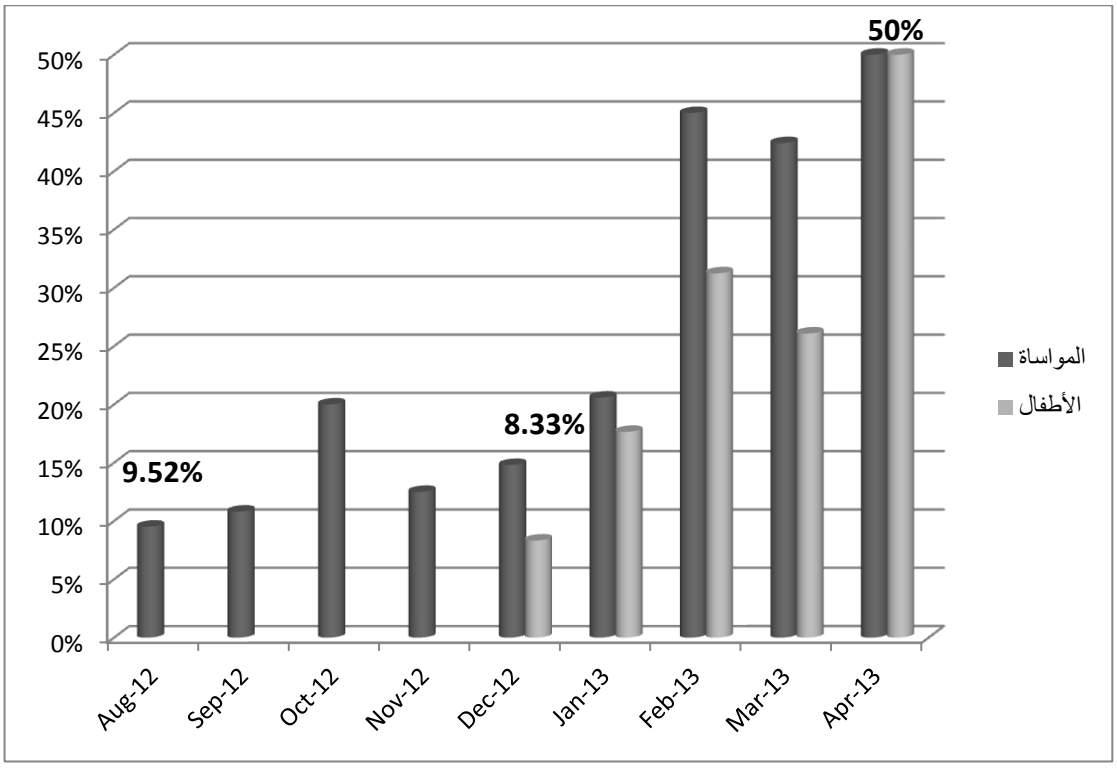
الشهر	المجموع	MHT			
		إيجابي		سلبي	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة
٢٠١٢/٠٨	٢١	٢	%٩,٥٢	١٩	%٩٠,٤٨
٢٠١٢/٠٩	٣٧	٤	%١٠,٨١	٣٣	%٨٩,١٩
٢٠١٢/١٠	٥	١	%٢٠	٤	%٨٠
٢٠١٢/١١	٢٤	٣	%١٢,٥	٢١	%٨٧,٥
٢٠١٢/١٢	٣٩	٥	%١٢,٨٢	٣٤	%٨٧,١٨
٢٠١٣/٠١	٥١	١٠	%١٩,٦١	٤١	%٨٠,٣٩
٢٠١٣/٠٢	٣٦	١٤	%٣٨,٨٩	٢٢	%٦١,١١
٢٠١٣/٠٣	٥٦	٢٠	%٣٥,٧١	٣٦	%٦٤,٢٩
٢٠١٣/٠٤	٣٠	١٥	%٥٠	١٥	%٥٠

أ- مشفى المواساة:

الشهر	المجموع	MHT			
		إيجابي		سلبي	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة
٢٠١٢/٠٨	٢١	٢	%٩,٥٢	١٩	%٩٠,٤٨
٢٠١٢/٠٩	٣٧	٤	%١٠,٨١	٣٣	%٨٩,١٩
٢٠١٢/١٠	٥	١	%٢٠	٤	%٨٠
٢٠١٢/١١	٢٤	٣	%١٢,٥	٢١	%٨٧,٥
٢٠١٢/١٢	٢٧	٤	%١٤,٨١	٢٣	%٨٥,١٩
٢٠١٣/٠١	٣٤	٧	%٢٠,٥٩	٢٧	%٧٩,٤١
٢٠١٣/٠٢	٢٠	٩	%٤٥	١١	%٥٥
٢٠١٣/٠٣	٣٣	١٤	%٤٢,٤٢	١٩	%٥٧,٥٨
٢٠١٣/٠٤	٢٠	١٠	%٥٠	١٠	%٥٠

ب- مشفى الأطفال:

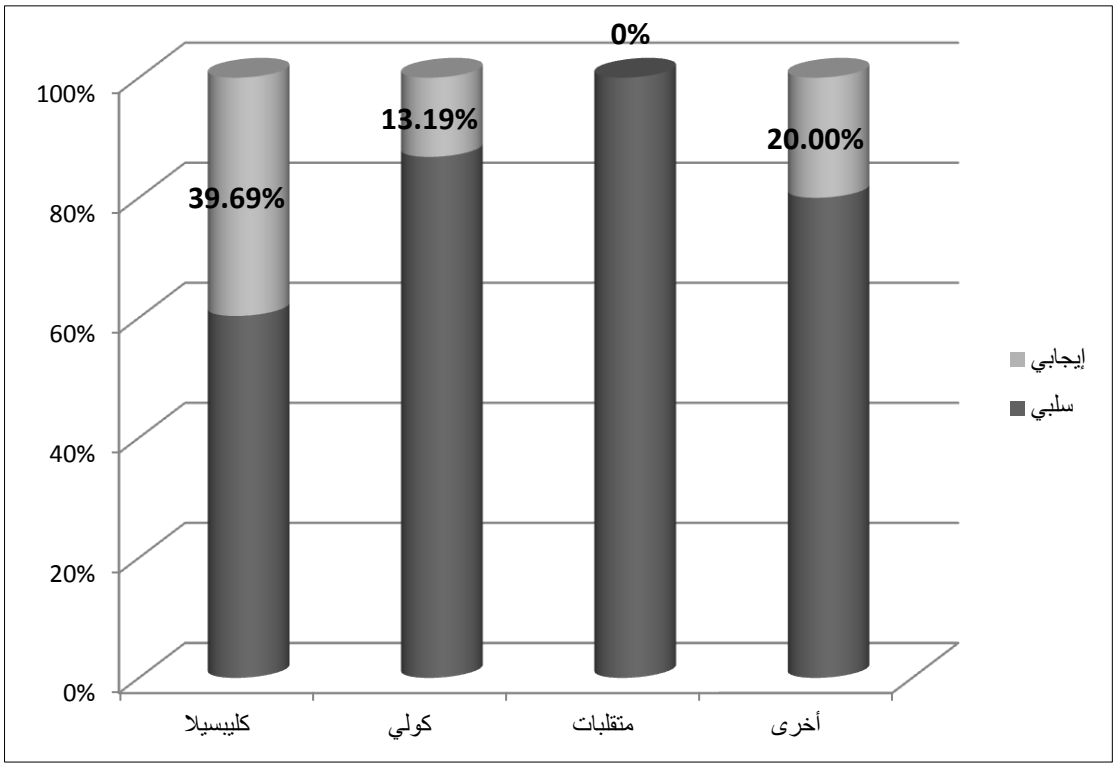
الشهر	MHT				
	المجموع	إيجابي		سلبي	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة
٢٠١٢/١٢	١٢	١	%٨,٣٣	١١	%٩١,٦٧
٢٠١٣/٠١	١٧	٣	%١٧,٦٥	١٤	%٨٢,٣٥
٢٠١٣/٠٢	١٦	٥	%٣١,٢٥	١١	%٦٨,٧٥
٢٠١٣/٠٣	٢٣	٦	%٢٦,٠٩	١٧	%٧٣,٩١
٢٠١٣/٠٤	١٠	٥	%٥٠	٥	%٥٠



٧) **حسب نوع الجرثوم:**

درسنا توزع الحالات الإيجابية والسلبية حسب نوع الجرثوم ونسبة الحالات الإيجابية والسلبية من كل جرثوم فكانت النتائج كالتالي:

نوع الجرثوم	المجموع		MHT			
			إيجابي		سلبي	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
كلبسيلة	١٣١	%٤٣,٨١	٥٢	%٣٩,٦٩	٧٩	%٦٠,٣١
كولي	١٤٤	%٤٨,١٦	١٩	%١٣,١٩	١٢٥	%٨٦,٨١
متقلبات	٩	%٣,٠١	٠	%٠	٩	%١٠٠
أخرى	١٥	%٥,٠٢	٣	%٢٠	١٢	%٨٠
المجموع	**٢٩٩**	**%١٠٠**	**٧٤**	**%٢٤,٧٥**	**٢٢٥**	**%٧٥,٢٥**



٦. مقارنة بين المرضى إيجابيي اختبار هودج المعدل وسلبييه حسب بعض عوامل الخطورة المقترحة:

تم وبحسب الاستبيان دراسة بعض عوامل الخطورة التي قد تكون سبباً في زيادة التعرض للأخماج عموماً وتطوير السلالات الجرثومية للمقاومة خصوصاً وهي:

١) القبول في إحدى شعب العناية المشددة في القبول الحالي.

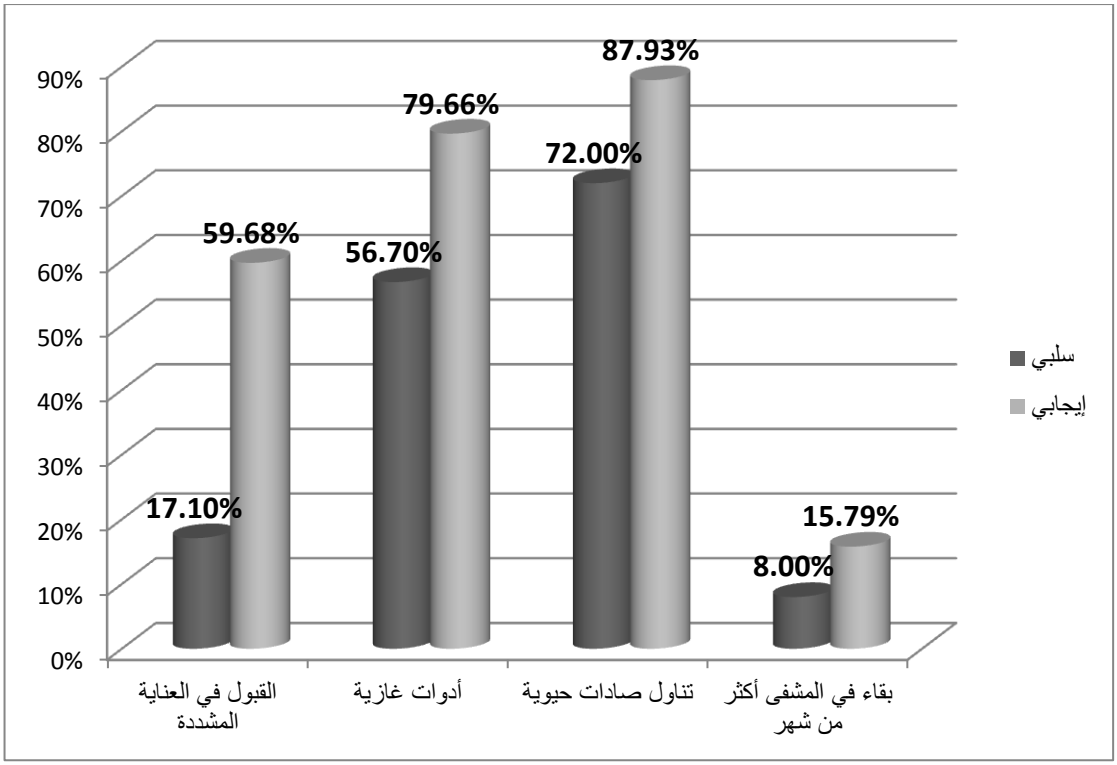
٢) البقاء في المشفى أكثر من شهر.

٣) التعرض لأحد الأدوات الغازية (مداخل وريدية مركزية، قثاطر بولية، فغر كلية، فغر قولون، تهوية آلية، قناعات وقنيات الأكسجة).

٤) تناول صادات حيوية.

فكان توزع النتائج كالتالي:

عوامل الخطورة	عدد الحالات		MHT			
			إيجابي		سلبي	
			العدد	النسبة	العدد	النسبة
القبول في العناية المشددة في المراجعة الحالية	نعم	٧٠	٣٧	%٥٩,٦٨	٣٣	%١٧,١
	لا	١٨٥	٢٥	%٤٠,٣٢	١٦٠	%٨٢,٩
أدوات غازية	نعم	٤٧	٤٧	%٧٩,٦٦	١٠٦	%٥٦,٧
	لا	١٩٩	١٢	%٢٠,٣٤	٨١	%٤٣,٣
تناول صادات حيوية	نعم	١٨٥	٥١	%٨٧,٩٣	١٣٤	%٧٢
	لا	٥٩	٧	%١٢,٠٧	٥٢	%٢٨
مدة البقاء في المشفى	نعم	٢٤	٩	%١٥,٧٩	١٥	%٨
	لا	٢٢٠	٤٨	%٨٤,٢١	١٧٢	%٩٢



٧. تطور إنتاج الكاربابينيماز (+ MHT) إلى مقاومة بطريقة كيربي- باور (قطر تثبيط أصغر من ١٤):

قمنا بتقسيم مدة الدراسة إلى ٣ فترات زمنية:

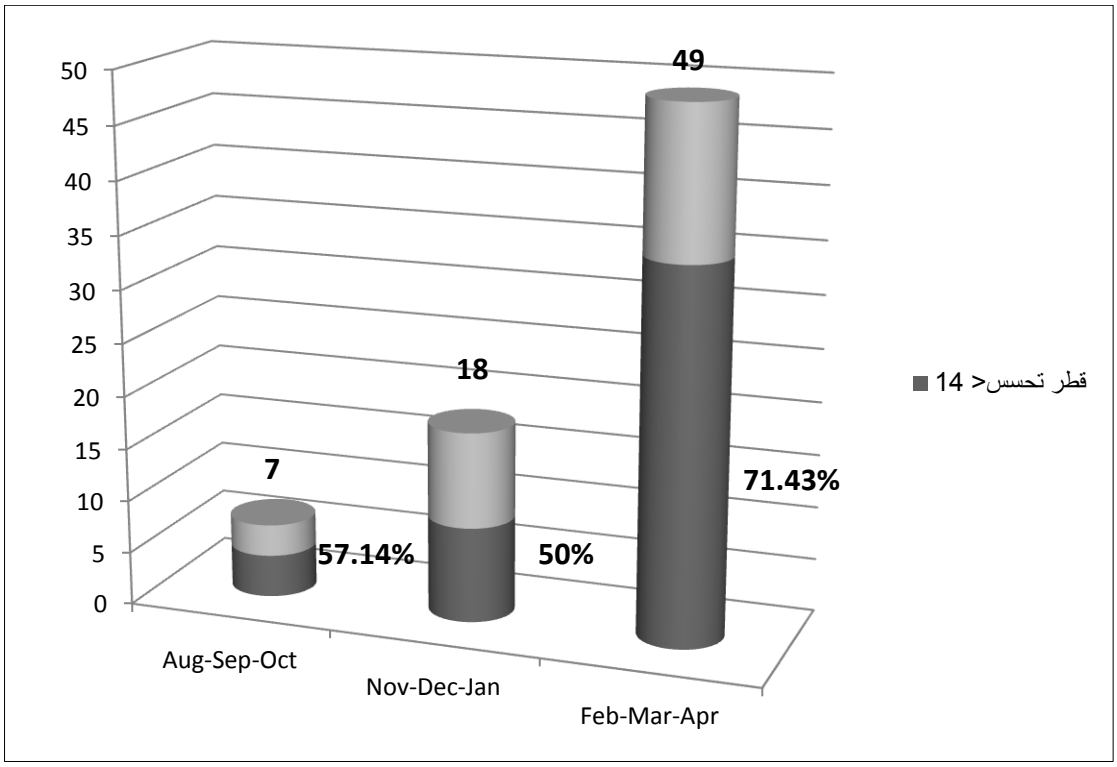
- الأولى تضم نتائج الأشهر الثامن والتاسع والعاشر من ٢٠١٢.
- والثانية تضم نتائج الأشهر الحادي عشر والثاني عشر من ٢٠١٢ والأول من ٢٠١٣.
- والثالثة تضم نتائج الأشهر الثاني والثالث والرابع من ٢٠١٣.

ثم حسبت نسبة النتائج التي تبدي قطر تثبيط أصغر من ١٤ من جملة النتائج إيجابية اختبار هودج المعدل وذلك بهدف معرفة:

هل تلك الذراري التي كانت لا تزال ضمن عتبة الحساسية بطريقة كيربي- باور في حال لم يتم الحد من انتشارها قد زادت أثناء انتقالها وانتشارها من إفراز الكاربابينيماز للحد الذي تصبح معه مقاومة بطريقة كيربي- باور؟

فكانت النتائج كالتالي:

الأشهر	المجموع	MHT إيجابي		قطر التحسس < ١٤	
		العدد	النسبة	العدد	النسبة
أول ٣ أشهر	٦٣	٧	%١١,١١	٤	%٥٧,١٤
ثاني ٣ أشهر	١١٤	١٨	%١٥,٧٨	٩	%٥٠
ثالث ٣ أشهر	١١٢	٤٩	%٤٣,٧٥	٣٥	%٧١,٤٣



الدراسات المقارنة:

الدراسة الأولى:[٢٦]

Modified Hodge test: A useful and the low-cost phenotypic method for detection of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae members

أجريت هذه الدراسة في الهند في الفترة بين نيسان ٢٠٠٨ وشباط ٢٠١٠ وشملت ١٠٧٢ عينة أمعائيات. فكانت النتيجة أن ٣٥,٩% من العينات كانت إيجابية الــ MHT وكانت نسبة كل جرثوم كما يلي: الكلبسيلة (٢٥,٩%) وكولي (٣,٦%) وأخرى (٧٠,٥%).

شملت دراستنا ٣٠٠ عينة أمعائيات فكانت ٢٤،٦٧% من العينات إيجابية الــ MHT وكانت نسبة كل جرثوم كالتالي: الكلبسيلة (٤٣,٨١%) وكولي (٤٨,١٦%) وأخرى (٨,٠٢%).

الدراسة	الفترة الزمنية	عدد العينات	الأنواع الجرثومية			MHT إيجابي
			كلبسيلة	كولي	أخرى	
الهند	٢٠٠٨ – ٢٠١٠	١٠٧٢	%٢٥,٩	%٣,٦	%٧٠,٥	%٣٥,٩
دراستنا	٢٠١٢ – ٢٠١٣	٣٠٠	%٤٣,٨١	%٤٨,١٦	%٨,٠٢	%٢٤,٦٧

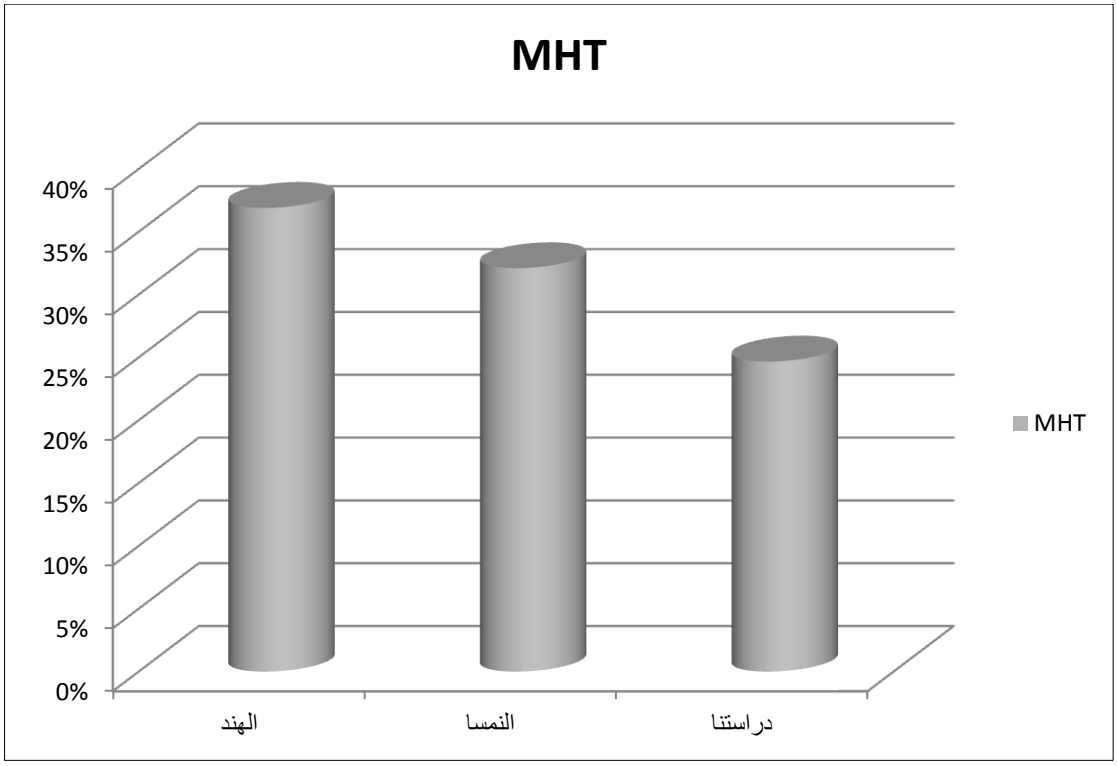
الدراسة الثانية:[٢٧]

Carbapenemases in Enterobacteriaceae in Austria 2010 to 2012

أجريت هذه الدراسة في النمسا بين عامي ٢٠١٠ و٢٠١٢ وشملت ٢١٨ عينة أمعائيات منها (٦٠,٥%) كلبسيلة و(٩,٦%) كولي وأخرى (٣٠,٣%). وكانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل ٣٢,١%.

شملت دراستنا ٣٠٠ عينة أمعائيات منها (٤٣,٨١%) كلبسيلة و(٤٨,١٦%) كولي وأخرى (٨,٠٢%) وكانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل ٢٤,٦٧%.

الدراسة	الفترة الزمنية	عدد العينات	الأنواع الجرثومية			MHT إيجابي
			كلبسيلة	كولي	أخرى	
النمسا	٢٠١٠ – ٢٠١٢	٢١٨	٦٠,٥%	٩,٦%	٣٠,٣%	٣٢,١%
دراستنا	٢٠١٢ – ٢٠١٣	٣٠٠	٤٣,٨١%	٤٨,١٦%	٨,٠٢%	٢٤,٦٧%

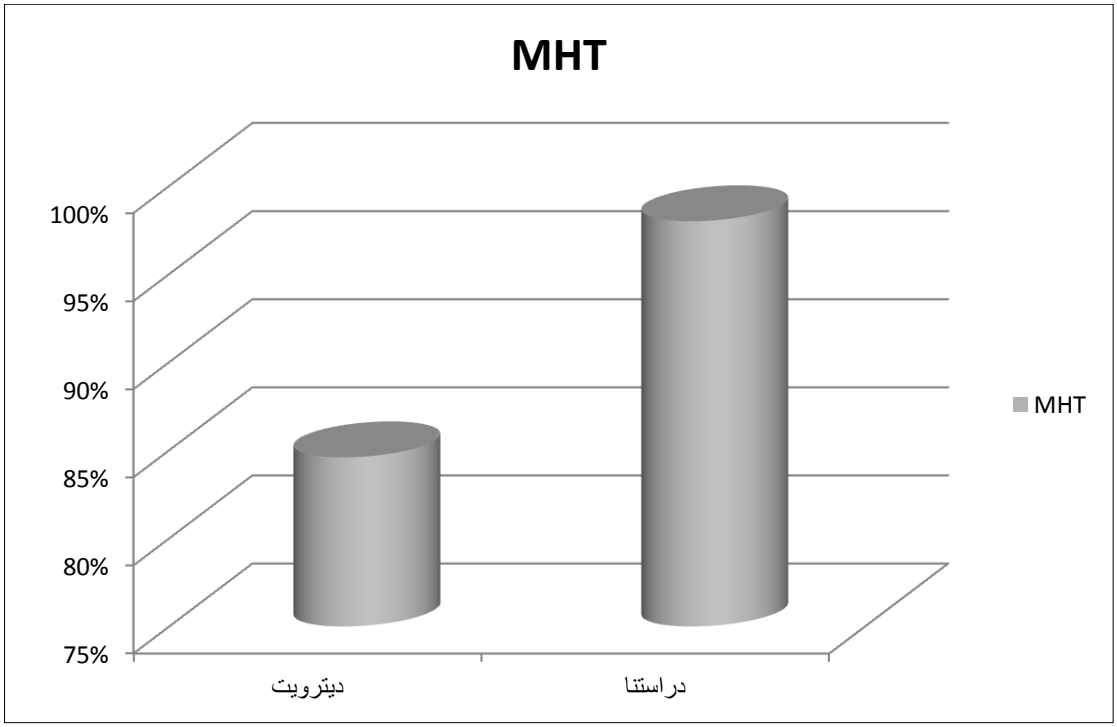


الدراسة الثالثة:[٢٨]

Evaluation of a Real-Time PCR Assay for the Detection of the Klebsiella pneumoniae Carbapenemase Genes in Microbiological Samples in Comparison With the Modified Hodge Test

أجريت هذه الدراسة في ديترويت في أمريكا ٢٠١١ وشملت ٧٨ عينة ذات حساسية متوسطة أو ذات مقاومة للكاربابينيم (قطر تثبيط أصغر من ١٦) فكانت ٨٤،٦% من العينات إيجابية الـــ MHT وكانت نسبة كل جرثوم كالتالي: كلبسيلة (٨٠,٣%) وكولي (٣%) وأخرى (٩%). دراستنا شملت ٥٦ فكانت ٩٨% من العينات إيجابية الـــ MHT وكانت نسبة كل جرثوم كالتالي: كلبسيلة (٧٥%) وكولي (١٧،٨%) وأخرى (٧,٢%).

الدراسة	الفترة الزمنية	عدد العينات	الأنواع الجرثومية			MHT إيجابي
			كلبسيلة	كولي	أخرى	
ديترويت	٢٠١١	٧٨	%٨٠,٣	%٣	%٩	%٨٤,٦
دراستنا	٢٠١٢ – ٢٠١٣	٥٦	%٧٥	%١٧,٨	%٧,٢	%٩٨



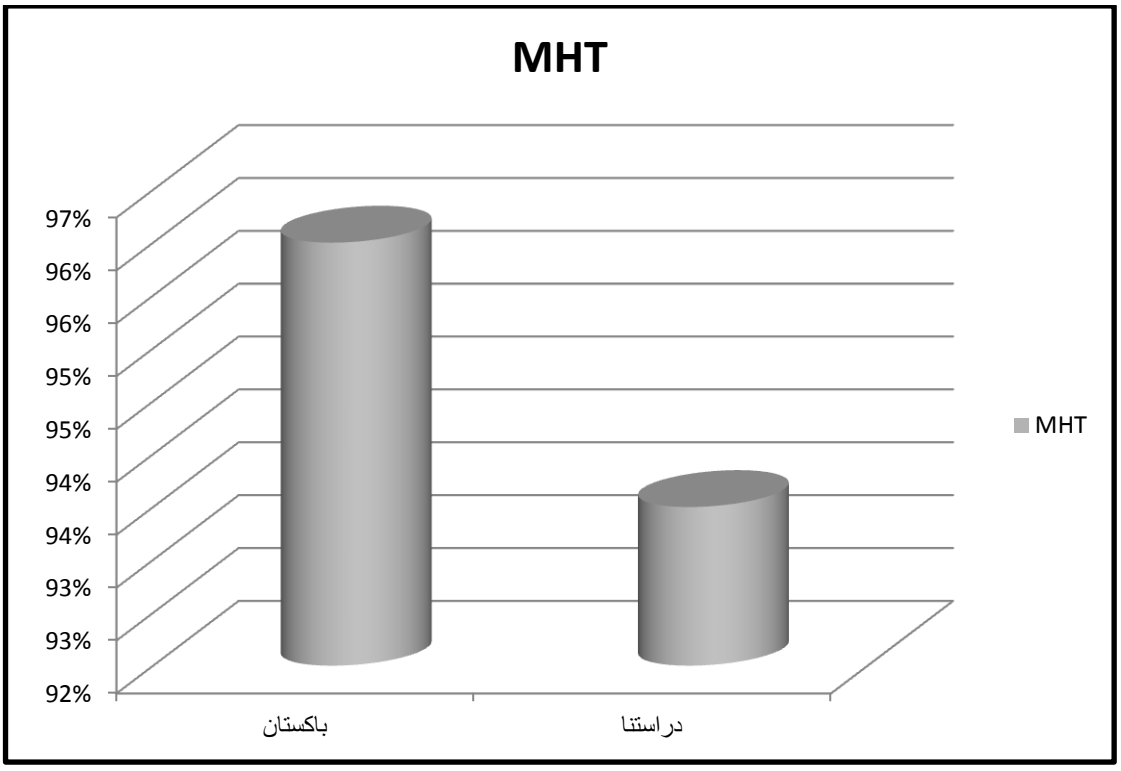
الدراسة الرابعة:[٢٩]

Effectiveness of Modified Hodge Test to detect NDM-1 Carbapenemases: an experience from Pakistan

أجريت هذه الدراسة في باكستان في الفترة من حزيران ٢٠٠٩ إلى تموز ٢٠١٠. شملت ١٠٠ عينة من الأمعائيات التي تبدي قطر تثبيط أصغر من ٢٣ منها (٦٣%) كلبسيلة و(٣٢%) كولي و٥% أخرى، فكانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل ٦٩%.

دراستنا شملت ٧٨ عينة ذات قطر تثبيط أصغر من ٢٣ منها (٦٩,٢%) كلبسيلة و(٢٦,٩%) كولي و(٣,٩%) أخرى. فكانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل فيها ٩٣,٥%.

الدراسة	الفترة الزمنية	عدد العينات	الأنواع الجرثومية			MHT إيجابي
			كلبسيلة	كولي	أخرى	
باكستان	٢٠٠٩ – ٢٠١٠	١٠٠	٦٣%	٣٢%	٣%	٦٩%
دراستنا	٢٠١٢ – ٢٠١٣	٧٨	٦٩,٢%	٢٦,٩%	٣,٩%	٩٣,٥%

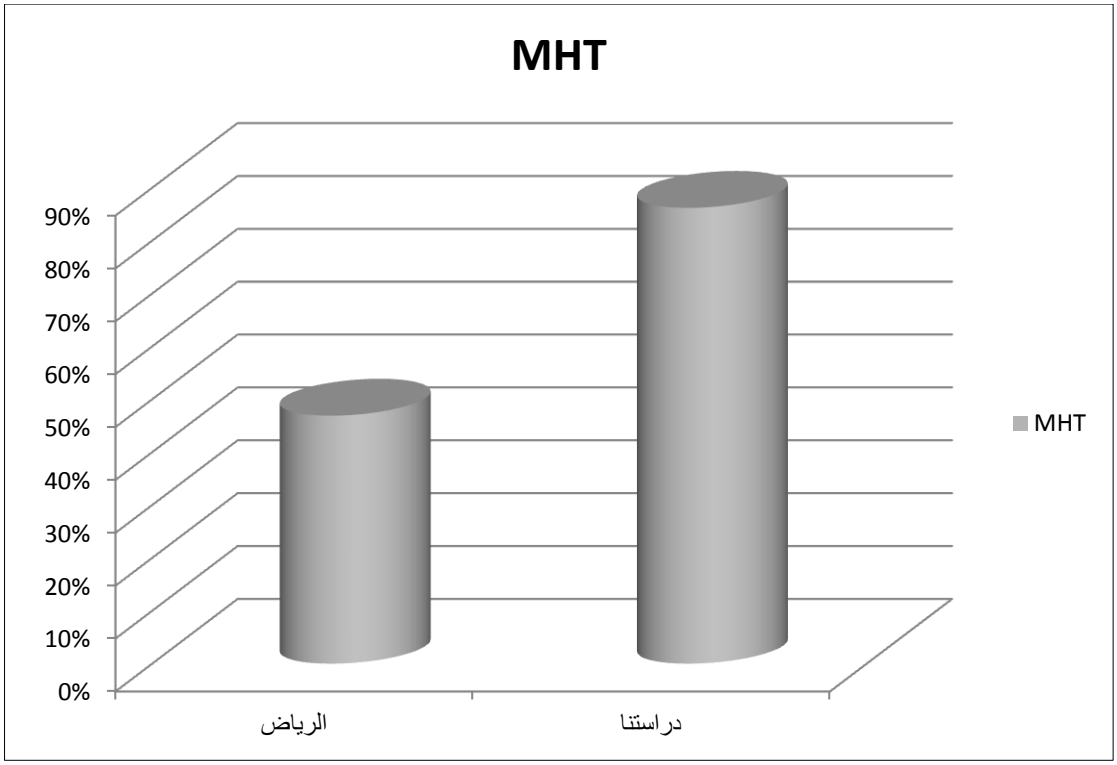


الدراسة الخامسة:[٣٠]

Emergence of multidrug-resistant (MDR) Gram-negatives at a referral medical hospital complex in Riyadh, Saudi Arabia

أجريت هذه الدراسة في الرياض في السعودية عام ٢٠١٠. شملت ٦٤ عينة أمعائيات ذات تركيز MIC عالي (قطر تثبيط ١٤– ٢٢) فكانت النتيجة أن ٤٦،٩% من العينات كانت إيجابية MHT وكانت نسبة كل جرثوم كالتالي: كلبسيلة (٨٥%) وكولي (٤،٧%) وأخرى (١٠,٣%). أما دراستنا فشملت ٢٩ عينة بقطر (١٤ – ٢٢) فكانت النتيجة أن ٨٦،٢% من العينات كانت إيجابية MHT وكانت نسبة كل جرثوم كالتالي: كلبسيلة (٥٢%) وكولي(٤٨%).

الدراسة	الفترة الزمنية	عدد العينات	الأنواع الجرثومية			MHT إيجابي
			كلبسيلة	كولي	أخرى	
الرياض	٢٠١٠	٦٤	%٨٥	%٤,٧	%١٠,٣	%٤٦,٩
دراستنا	٢٠١٢ – ٢٠١٣	٢٩	%٥٢	%٤٨	%٠	%٨٦,٢



مناقشة النتائج:

١) كانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل متقاربة بين الذكور والإناث وهذا ينفي دور الجنس كعامل خطورة لاكتساب المقاومة.

٢) كانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل متقاربة بين مشفيي الأطفال والمواساة.

٣) كانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل في الذراري المقاومة للكاربابينيم (قطر تثبيط أصغر من ١٤) ١٠٠% أي أن إفراز الكاربابينيماز هو الآلية الأساسية في المقاومة لدينا.

٤) نلاحظ ازدياداً في إيجابية اختبار هودج المعدل من ٩,٥٢% في بداية دراستنا في الشهر الثامن من ٢٠١١ إلى ٥٠% في نهاية دراستنا في الشهر الرابع من ٢٠١٣. أي تضاعفت حوالي ٥ مرات. وقد يفسَّر هذا بزيادة انتشار هذه الذراري نتيجة عدم التدخل للحد من انتشارها، أو قد يفسَّر بقصر الفترة الزمنية التي شملتها الدراسة.

٥) إن نسبة تطور المقاومة مخبرياً من قطر تثبيط يقع ضمن مجال الحساسية (١٤ – ٢٢) إلى مقاوم (أصغر من ١٤) والذي قد يرجح تولد المقاومة سريرياً قد زاد من ٥٧% في الأشهر الثلاث الاولى من الدراسة إلى ٧١% في الأشهر الثلاث التالية وقد يفسَّر هذا بأن الفشل في السيطرة على تلك الذراري لم يؤدي إلى زيادتها فحسب بل إلى تطوير مقاومتها بزيادة إفرازها للكاربابينيماز إلى الحد الذي يجعلها تقاوم الكاربابينيمات، أو قد يفسَّر بقصر الفترة الزمنية التي شملتها الدراسة.

٦) بدراسة نسبة الأرجحية OR لعوامل الخطورة المقترحة تبين التالي:

- القبول في العناية المشددة OR = 7.2.
- الأدوات الغازية OR = 3.
- تناول صادت حيوية OR = 2.8.

- مدة البقاء في المشفى أكثر من شهر OR = 2.2.

وهذا يعني أن وجود المريض في إحدى شعب العناية المشددة كان عامل خطورة كبير في اكتساب الذراري المنتجة للكاربابينيماز وكذلك وجود أدوات غازية أو تناول صادات حيوية أو بقاء المريض في المشفى لمدة تتجاوز الشهر.

٧) ظهرت أكثر النتائج إيجابية اختبار هودج المعدل في شعب إسعاف الجراحة، والعناية الإسعافية، والصدرية (٨ حالات في كل منها)، والحروق (٥ حالات)، وإسعاف الداخلية، والعناية العصبية (٤ حالات في كل منها).

وفي الأطفال في شعبة الخديج والوليد (١٠ حالات)، والإنتانية (٥ حالات).

وقد يعزى ذلك إلى أن مرضى هذه الشعب لديهم غالباً عوامل خطورة لاكتساب الأخماج عموماً والمقاومة خصوصاً بسبب وضعهم على تغطية إنتانية واسعة الطيف روتينياً وتعرضهم للأدوات الغازية من تهوية آلية ومداخل وريدية وقثاطر بولية وغيرها.

٨) كانت نسبة إيجابية اختبار هودج المعدل في دراستنا ٢٤,٦٧% أقل من الدراسات التي في الهند والنمسا (٣٥,٩% و٣٢,١% على الترتيب) ولكننا نجد أن النسبة في الأشهر الأخيرة من دراستنا قد زادت لتتجاوز تلك النسب في الشهر الأخير (٥٠%) وهذا قد يفسر بأن وقت ظهور هذه الذراري في مشافينا كان متأخراً ولكنه ومنذ بدءِ ظهوره وبسبب عدم التدخل للسيطرة عليه فهو في ازدياد إلى الحد الذي قد يتجاوز تلك النسب العالمية فيما لو أجريت دراسة مستقبلية لاحقاً. كما قد يفسر اختلاف النسب باختلاف تواتر استخدام الكاربابينيمات الذي يسهم بتطوير المقاومة.

كما نجد أن نسبة الذراري المنتجة للكاربابينيماز من أصل الذراري التي تبدي قطر تثبيط أصغر من ٢٢ أو تلك المقاومة أكثر من النسب التي في دراسات ديترويت وباكستان

والسعودية وهذا يبين أن الآلية الأساسية للمقاومة لدينا هي إفراز الكاربابينيماز بينما تلعب آليات المقاومة الأخرى دوراً أقل أهمية.

التوصيات والمقترحات:

١) نقترح تطبيق توصيات الـــ CDC التي أصدرت نشرة في نهاية عام ٢٠١٢[٨] بينت فيها أهم الخطوات اللازمة للحد من انتشار CRE، ونلخصها فيما يلي:

- غسل اليدين بالمواد المطهرة.
- اتباع احتياطات التماس عند التعامل مع مريض مخموج بأحد الذراري المقاومة للكاربابينيم أو المنتجة للكاربابينيماز وتتضمن:
  - غسل اليدين بالمواد المطهرة قبل ارتداء القفازات والثوب الطبي.
  - ارتداء القفازات والثوب الطبي قبل الدخول إلى غرفة المريض المخموج.
  - خلع القفازات والثوب الطبي ثم غسل اليدين بالمواد المطهرة قبل الخروج من غرفة المريض.
- تعليم الكادر الطبي وتثقيفه عن كيفية تجنب انتقال هذه الذراري وانتشارها باتباع الخطوتين السابقتين على الأقل.
- عدم استعمال الأدوات الغازية (مداخل وريدية مركزية، قثطرة بولية، تنبيب رغامى) إلا في حال الحاجة الملحة لها وإزالتها فور إمكان الاستغناء عنها.
- عزل المرضى المخموجين بالذراري المقاومة في غرف مفردة لكل مريض أو جمعهم على الأقل في غرفة مشتركة وتخصيص كادر طبي وتمريضي متمرس ومخلص لهؤلاء المرضى.

- وضع استراتيجية يقوم بها القسم المخبري بالتبليغ السريع عن أي عينة تحمل هذه الذراري ليتم فوراً اتخاذ الاجراءات الوقائية السابقة للحد من انتشارها.
- الاستخدام الحكيم للصادات وذلك بـــ:
  - استخدامها للاستطابابات والمدة الموصى بها.
  - التقليل من استخدام الصادات واسعة الطيف واستخدام الصادات النوعية للحالة السريرية إن أمكن.
- تحري ورصد استعمار السلالات الجرثومية المنتجة للكاربابينيماز لمن هو على تماس مع المرضى المشخص لديهم وجود هذه الذراري وذلك عن طريق فحص البراز أو مسحة المستقيم أو مسحة ما حول المستقيم.

٢) نوصي باعتماد القيم القديمة للـــ MIC وإجراء اختبار هودج المعدل لكل عينة تبدي قطر تثبيط أصغر من ٢٢ ملم أو MIC أكبر من ١ مكغ / مل. وفي حال كانت إحدى العينات إيجابية اختبار هودج المعدل لا تغير نتيجة اختبار التحسس ولكن يسجل كملاحظة أن الاختبار إيجابي والجرثوم منتج للكاربابينيماز ليتم اتخاذ الإجراءات اللازمة لمنع انتشار هذه الذرية لمرضى آخرين وأقسام أخرى.

٣) إجراء دراسات مستقبلية لتحري واقع تطور إفراز الكاربابينيماز والمقاومة للكاربابينيم وذلك بعد محاولة تطبيق توصيات الـــ CDC ضمن الإمكانيات المتاحة.

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. CRE 2012 Toolkit. Guidance for Control of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE). Centers for Disease Control and Prevention 2012.
8. Pfeifer Y, Cullik A, Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogen, Int. J Med Microbiol. 2010 Aug;300(6):371-9.
9. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother 2001;45:1151–61.
10. Nordmann, P., and L. Poirel. 2002. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin. Microbiol. Infect. 8:321-331.
11. Woodford N, Tierno PM Jr, Young. Outbreak of Klebsiella pneumoniae producing a new carbapenem-hydrolyzing class A beta-lactamase, KPC-3, in a New York Medical Center, Antimicrob Agents Chemother. 2004 Dec;48(12):4793-9.

12. Thierry Naas and Patrice Nordmann. Plasmid-Mediated Carbapenem-Hydrolyzing β-Lactamase KPC in a Klebsiella pneumoniae Isolate from France, Antimicrob Agents Chemother. 2005 October; 49(10): 4423–4424.
13. Phillips M, Sharma S. Clinical outcomes of infections caused by KPC-producing organisms; NIH Workshop on ESKAPE Pathogens; Bethesda, MD. 2009.
14. Kitchel B, Rasheed JK, Patel JB, et al. Molecular epidemiology of KPC-producing Klebsiella pneumoniae isolates in the United States: clonal expansion of multilocus sequence type 258. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2009;53:3365–3370.
15. Patel G, Huprikar S, Factor SH, Jenkins SG, Calfee DP. Outcomes of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae infection and the impact of antimicrobial and adjunctive therapies. Infect Control Hosp Epidemiol 2008;29:1099-106.
16. Castanheira M, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibility patterns of KPC-producing or CTX-M-producing Enterobacteriaceae. Microb Drug Resist 2010; 16:61–5.
17. Hussein K, Sprecher H, Mashiach T, Oren I, Kassis I, Finkelstein R. Carbapenem resistance among Klebsiella pneumoniae isolates: Risk factors, molecular characteristics, and susceptibility patterns. Infect Control Hosp Epidemiol 2009; 30:666–71.
18. Endimiani A, Depasquale JM, Forero S, et al. Emergence of blaKPCcontaining Klebsiella pneumoniae in a long-term acute care hospital: A new challenge to our healthcare system. J Antimicrob Chemother 2009; 64:1102–10.
19. Perez F, Endimiani A, Ray AJ, et al. Carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii and Klebsiella pneumoniae across a hospital system: Impact of post-acute care facilities on dissemination. J Antimicrob Chemother 2010; 65:1807–18.

20. Urban C, Bradford PA, Tuckman M, et al. Carbapenem-resistant Escherichia coli harboring Klebsiella pneumoniae carbapenemase betalactamases associated with long-term care facilities. Clin Infect Dis 2008; 46:e127–30.
21. Anderson KF, Lonsway DR, Rasheed JK, et al. Evaluation of methods to identify the Klebsiella pneumoniae carbapenemase in Enterobacteriaceae. J Clin Microbiol 2007; 45:2723–5.
22. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty third informational supplement. CLSI document M100-S23. Wayne, PA: CLSI, 2013.
23. F. Rossi, A.P. Cury. The Modified Hodge Test Negative Predictive Value among carbapenem-resistant isolates in a Brazilian university hospital, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2012.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteen informational supplement. CLSI document M100-S19. Wayne, PA: CLSI, 2009.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty two informational supplement. CLSI document M100-S22. Wayne, PA: CLSI, 2012.
26. K. V. Ramana, Ratna Rao. Modified Hodge test: A useful and the low-cost phenotypic method for detection of carbapenemase producers in Enterobacteriaceae members, J Nat Sci Biol Med. 2013 Jul-Dec; 4(2): 346–348.
27. H. Kerschner, R. Hart. Carbapenemases in Enterobacteriaceae in Austria 2010 to 2012, European society clinical microbiology and infectious disease. Apr2013.
28. A. Raghunathan, L. Samuel. Evaluation of a Real-Time PCR Assay for the Detection of the Klebsiella pneumoniae Carbapenemase Genes in Microbiological Samples in Comparison With the Modified Hodge Test, Am J Clin Pathol 2011;135:566-571.

29. B. Sultan, F. Hussain. Effectiveness of Modified Hodge Test to detect NDM-1 Carbapenemases: an experience from Pakistan. Journal of Pakistan medical association Aug 2013; 63: 955.
30. A. AlAgeel, A. AlMazyed. Emergence of multidrug-resistant (MDR) Gram-negatives at a referral medical hospital complex in Riyadh, Saudi Arabia, society clinical microbiology and infectious disease: Apr 2013.