Bacteriological and genomic methods for detection of vancomycin resistant enterococci

Al Shaimaa Mahmoud Al Tabbakh

المقدمة:توجد بكتريا المكورات المعوية بصورة طبيعية فى أمعاء الإنسان وفى الجهاز التناسلى للأنثى وفى الطبيعة . وهذه البكتريا تسبب أحيانا الإصابة بالأمراض . الفانكوميسين هو مضاد حيوى يستخدم عادة لعلاج الإصابة بالأمراض التى تسببها المكورات المعوية . وفى بعض الحالات وجد أن هذه المكورات المعوية تصبح مقاومة لهذا الدواء و لذلك أطلق عليها المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين .ومعظم العدوى بهذه المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين تحدث فى المستشفيات. ويمكن ان تعيش هذه المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين فى أمعاء الإنسان والجهاز التناسلى للأنثى بدون ان تسبب مرض . ولكن أحيانا يمكن أن تسبب عدوى فى الجهاز البولى، التهاب صمامات القلب ،عدوى مجرى الدم ، التهاب الأغشية السحائية بالمخ والتهاب الجروح .ولم يتضح بعد مدى انتشار المكورات المعوية المضادة للفانكوميسين وعلى الرغم من ذلك فان هناك مجموعات من المرضى معرضون بشدة للإصابة بالعدوى بهذه البكتريا وذلك يتضمن مرضى الحالات الحرجة او الحالات المرضية شديدة الخطورة أو ذوى نقص المناعة (مثل مرضى الرعاية المركزة ووحدات الأورام و زراعة الأعضاء) والأشخاص الذين أجريت لهم جراحات داخل البطن أو جراحات القلب والصدر أو الذين وضعت لهم قسطرة بولية أو وريدية أو الأشخاص الذين أقاموا بالمستشفيات لمدة طويلة أو تلقوا مضادات الميكروبات المتعددة أو علاج بالفانكوميسين .وقد تم فصل المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين أول مرة فى عام 1988 فى المملكة المتحدة وفرنسا ثم فى الولايات المتحدة الأمريكية . والان توجد فى العديد من البلدان.وهناك ست انماط جينيه من المكورات المعوية المضادة للفانكوميسين وهى vanA ,B ,C,D,E ,G اثنان منهم هم vanA ,vanB ينتقلان عن طريق جينيات مكتسبة جديدة لم تكن موجودة من قبل فى المكورات المعوية .النمط الأول vanA يتميز بمعدل عالى مكتسب فى مقاومة الفانكوميسين والتيكوبلانين بينما الـ vanB يتميز بمعدل مختلف فى مقاومة الفانكوميسين مع التأثر بـالتيكوبلانين فى المعمل . وهناك نمط ثالث هو الـــ vanC ويتميز بمعدل منخفض فى مقاومة الفانكوميسين وعدم مقاومة التيكوبلانين .وقد أظهرت الدراسات أنه طالما دخلت المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين الى مستشفى وخاصة بعد انتشارها الى العديد من المرضى والعنابر فان مكافحتها تكون صعبة جدا .ويتم الكشف عن هذه المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين عن طريق زراعتها على مستنبت خاص وأفضل مستنبت لها هو البايل اسكولين أزيد اجار المضاف إليه 6 ميكروجرام من الفانكوميسين.وأيضا هناك التفاعل البلمرى التسلسلى على العينة مباشرة من أجل الكشف عن جينات van B&A وهذا يعطى نتائج أكثر حساسية وأسرع من الزراعة على المستنبت الخاص.الهدف من البحث:-1- عزل والتعرف على المكورات المعوية من عينات براز مرضى المستشفى بالطرق البكتريولوجية المختلفة .2- اختبار استجابة هذه المكورات المعوية التى تم عزلها للمضادات الحيوية المختلفة.3- عزل المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين.4- الكشف الجزيئى عن جين vanA & vanB genes فى المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين .المرضى ووسائل البحث:-أجريت هذه الدراسة على 80 حالة من المرضى الذين تم حجزهم فى مستشفى بنها الجامعى فى أقسام مختلفة خلال الفترة من شهر أكتوبر 2008 و حتى نهاية شهر سبتمبر 2009 و قد تراوحت أعمار المرضى ما بين حديثى الولادة و حتى80 عاما وقد تم فى هذه الدراسة عمل التالى:1- تحديد دقيق لبيانات والتاريخ المرضي لكل حالة .2- اختبارات بكتريولوجية :-o اخذ عينة براز من هؤلاء المرضى وزراعتها على البايل اسكولين أزيد أجار.o التعرف على المكورات المعوية المفصولة عن طريق:- صبغة الجرام- التفاعلات

البيوكيميائيةo اختبار حساسية المكورات المعوية التى تم عزلها للمضادات الحيوية المختلفة و منها الفانكوميسين عن طريق اختبار انتشار القرص.o التعرف على المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين عن طريق استخدام اجار البايل اسكولين المزود بالفانكوميسين و تحديد أقل تركيز مثبط للبكتريا.3- الكشف عنvanA &vanB genes فى المكورات المعويه المقاومة للفانكوميسين المعزولة بواسطة التفاعل البلمرى التسلسلى الوقتى الحقيقى (PCR time Real)).نتائج الدراسة :-تتلخص نتائج الدراسة فيما يلي :-• تم عزل 77 نوع مختلف من المكورات المعوية .• أظهرت نتائج البحث أن عدد المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين التى تم عزلها كان عددها خمسة وبهذا يكون معدل الاستيطان بهذا الميكروب فى مستشفى بنها الجامعى هو 6.5% .حيث تم تشخيص ثلاث حالات مقاومة للفانكوميسين باستخدام طريقة انتشار القرص وارتفع عدد هذه الحالات الى خمس حالات باستخدام طريقة الزرع على آجار الإسكولين المزود بالفانكوميسين.• أظهرت نتائج التفاعل البلمري التسلسلي التى أجريت على الكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين وجود جين vanA في أربع فصائل من المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين وجين vanB في فصيلة واحدة فقط.• بدراسة عوامل الخطورة التي تتسبب في اكتساب المرضي للمكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين وجد أن هذه العوامل هى: استخدام الفانكوميسين المتكرر في علاج المرضي وطبيعة المرض(وحدة أمراض الدم التابعة لقسم الباطنة العامة).التوصيات:-• عمل دراسات واسعة المدى تشمل عدداً أكبر من المرضى لتوضيح أنماط مقاومة المكورات المعوية للمضادات الحيوية المختلفة .• التأكيد على ضرورة إدراج طريقة الكشف عن المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين بواسطة استخدام آجار الإسكولين المزود بالفانكوميسين .• استخدام التفاعل البلمري التسلسلي للكشف عن جين VanC .• الكشف عن المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين في العينات الإكلينيكية المختلفة .• ضرورة متابعة تنفيذ إجراءات مكافحة العدوى في المستشفيات من أجل تقليل فرص انتقال المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين بين المرضى .• وضع نظام يشتمل على طرق للتحرى عن واستئصال المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين في المناطق الأكثر عرضة للإصابة .• الترصد النشط لأنماط مقاومة البكتريا لمضادات الميكروبات والحث على الاستخدام الحذر لمضادات الميكروبات المختلفة .