Phenotypic methods and in detecting drug resistasance among nosocomial pathogens

Naglaa Mohamed Ahmed Gad

إن الإنتشار الوبائي العالمي لظاهرة مقاومة الميكروبات للمضادات الحيوية يهدد العصر الذهبي للعلاج بالمضادات الحيوية. كما أنه يجعل من العلاج التجريبي مسألة صعبة للغاية.إن تواجد أجناس من البكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية التى تستخدم فى المستشفيات تعتبر مشكلة متزايدة وهى تعبر عن صفات جينية جديدة داخل البكتيريا سالبة الجرام والتى تساوى أو تفوق خطورة البكتيريا موجبة الجرام والتى يستلزم السيطرة عليها من أجل منع انتشارهما.الهـــدف من البحث:التعرف على نسبة المقاومة فى المضادات الحيوية للبكتيريا سالبة الجرام وموجبة الجرام.التعرف على مقدرة الطرق الظاهرية (Phenotypes) الأدنى المثبط التركيز قياس على ًبناءا الحيوية للمضادات البكتيريا مقاومة معرفة فى (MIC) سنسيتايتر بجهاز (Sensititer) (مريض 205 على تمت الدراسة هذه-1:البحث ووسائل المرضى. تعرضوا لعدوى المستشفيات اخذت منهم عنيات من (دم- صديد، بصاق، مسحات من الجروح وبول) وقد زرعت بطرق تقليدية.2- تم التعرف على نسبة إنتشار مقاومة المضادات الحيوية بطريقة اختبار انتشار القرص على آجار المولار هنتون.3- تم قياس التركيز المثبط الأدنى ((MIC للمضادات الحيوية باستخدام جهاز سنسيتايتر (Sensititer) لعدد (74) مريض تعرضوا لعدوى المستشفيات منهم (54) مصاب بالبكتيريا العصوية السالبة الجرام, و(20) مريض مصاب بالبكتيريا العنقودية الموجبة الجرام. ويعد جهاز سنسيتايتر طريقة نصف آلية للتعرف على السلالات البكتيرية ومعرفة استجابتها للمضادات الحيوية باستخدام تكنولوجيا الفلوروسنت.4- تم التعرف على الطرق الظاهرية (Phenotypes) بالنسبة للبكتيريا العصوية السالبة الجرام باستخدام الطرق التالية:*التشخيص الظاهري لإنزيم بيتا لاكتاميز متعدد المدى (الإسبل) باستخدام أقراص تحتوى على السيفوتاكسيم ,السيفتازيديم ,و السيفيبيم مع وبدون حمض الكلافويلونيك كمانع للإسبل. يتم وضعهم على نفس الآجار .إن الميكروب الذى يعطى زيادة فى منطقة عدم النمو حول القرص الذى يحتوى على الكلافويلونيك مع بعض أو كل المضادات الحيوية المذكورة ,أكبر من أو مساو ل (5 مم) يعتبر تأكيد ظاهرى على انتاجه للإسبل.* التشخيص الظاهري للميتالو بيتا لاكتاميز باستخدام قرص يحتوى على10 ميكروجرام امبينيم وآخر يحتوى على 10 ميكروجرام امبينيم تم إضافة ايديتا عليه كمانع للميتالو بيتا لاكتاميز ,تم تحضيرها فى المعمل, بحيث يكون تركيزها عند إضافة 10 ميكروجرام منها للقرص(750ميكروجرام) .يتم الزرع على آجار المولار هنتون .إن الكائن الذى يعطى زيادة فى منطقة عدم النمو حول القرص الذى يحتوى على امبينيم مع ايديتا ,أكبر من أو مساو ل(7 مم) عن القرص الذى يحتوى على امبينيم فقط يعتبر تأكيد ظاهرى على انتاجه للميتالو بيتا لاكتاميز.* التشخيص الظاهري لمختلف الطرق الظاهرية مجتمعة عن طريق استخدام أربعة أقراص تم زرعها على آجار المولار هنتون وتم تنسيقها فى ترتيب معين .أ- قرص سيفبودوكسيم 10 ميكروجرام.ب- قرص سيفبودوكسيم 10 ميكروجرام مع 1 ميكروجرام حمض الكلافويلونيك كمانع للإسبل .ج- قرص سيفبودوكسيم 10 ميكروجرام مع 500 ميكروجرام كلوكساسيلين كمانع للأمبس بيتا لاكتاميز.د- قرص سيفبودوكسيم 10 ميكروجرام مع 1 ميكروجرام حمض الكلافويلونيك كمانع للإسبل, و500 ميكروجرام كلوكساسيلين كمانع للأمبس بيتا لاكتاميز.الخطوة الأولى :لو كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول كل قرص فى حدود 2 مم من بعضها البعض ,فهذا معناه أن البكتيريا غير منتجة للإسبل أو للأمبس بيتا لاكتاميز.الخطوة الثانية:لو كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (ب,أ) و(د,ج)أكبر من أو مساو ل)5 مم). و كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (د,ب) و(ج,أ) أقل من (5مم). فهذا معناه أن البكتيريا منتجة للإسبل بيتا لاكتاميز فقط.الخطوة الثالثة: لو

كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (ب,أ) و(د,ج) أقل من (5 مم). و كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (د,ب) و(ج,أ) أكبر من أو مساو ل (5مم). فهذا معناه أن البكتيريا منتجة للأمبس بيتا لاكتاميز فقط .الخطوة الرابعة: لو كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (د,ج) أكبر من أو مساو ل(5 مم). و كان الفرق فى منطقة عدم النمو حول (ب,أ) أقل من (5 مم). فهذا معناه أن البكتيريا منتجة للإسبل و للأمبس بيتا لاكتاميز مجتمعين.الخطوة الخامسة:إن البكتيريا التي تظل مقاومة لسيفبودوكسيم 10 ميكروجرام ولا تعطى منطقة من عدم النمو حتى مع الأقراص التى تحتوى على 1 ميكروجرام حمض الكلافويلونيك, أو 500 ميكروجرام كلوكساسيلين, أو كلاهما معا. فهذا معناه أن الميكروب إما منتج للإسبل أ و للأمبس بيتا لاكتاميز مع لامنفذية لسيفبودوكسيم. أو أن الميكروب منتج لإنزيم الكاربابينيميز.أهم نتائج الدراسة:معظم البكتيريا العصوية السالبة الجرام و البكتيريا العنقودية الموجبة الجرام تم عزلها من العناية المركزة للأ طفال والكبار, وقد كان معظمها من عينات الدم.مثلت الكلبسييلا 64.2% من حالات عدوى الدم بالبكتيريا العصوية السالبة الجرام , بينما مثلت المكورات العنقوديه السالبة الكوأجيليز 46.2% من حالات عدوى الدم بالبكتيريا العنقودية الموجبة الجرام.تم عزل كلويفيرا كريوكرسنس ,رووالتيلا تيريجينيا و ايروموناس هيدروفيلا , وقد تم التعرف عليها باستخدام جهاز سنسيتايتر. وقد كانت كلها منتجة للإسبل باستخدام الطرق الظاهرية.تم عزل 10 من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيللين ,وقد استجابت كلها للفانكوميسين.تم عزل 7 من المكورات العنقودية السالبة الكوأجيليز المقاومة للميثيسيللين, وقد كان 3 منها مقاومة للفانكوميسين.تم عزل 3 من المكورات المعوية المقاومة للفانكوميسين.مثل الإ سبل 13.6% , الأمبس 1.9%, الإ سبل و الأمبس معا 4.9% , الميتالو بيتا لا كتاميز5.4%, من حالات عدوى المستشفيات فى مستشفى بنها الجامعي التى تم عزلها فى هذه الدراسة.التوصيات:عمل دراسات واسعة المدى تشمل عدداً أكبر من المرضى لتوضيح أنماط مقاومة المضادات الحيوية المختلفة فى مستشفى بنها الجامعى.ضرورة متابعة تنفيذ إجراءات مكافحة العدوى في المستشفيات من أجل تقليل فرص انتقال البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة بين المرضى.نشر الوعى بخطورة مقاومة المضادات الحيوية المختلفة المتزايدة وقدرتها على القضاء على آخر فرص العلاج للعديد من المرضى مما قد يودى بحياتهم .سرعة البدء فى العلاج التجريبى المدروس للمرضى الأكثر عرضة للإصابة بعدوى المستشفيات ,انتظارا لنتائج فحص المزارع.زيادة الدراسات الإشرافية لتوضيح أنماط مقاومة المضادات الحيوية المختلفة وزيادة الدخل المحدد لها فى دول العالم الثالث .زيادة الوعى بين الناس بالإستخدام الأمثل للمضادات الحيوية (مدة العلاج ,الجرعات المحددة في مواعيد محددة تحت الإشراف الطبي الكامل وليس بطريقة عشوائية مع توقف بيع وشراء المضادات الحيوية بدون وصفة طبية) .التشجيع على تصنيع مضادات حيوية جديدة.وضع خطة وخريطة للمضادات الحيوية التي تستخدم في المستشفيات.