

Mycobacterium phage assay as a rapid method for detection of rifampicin resistant strains of mycobacterium tuberculosis in pulmonary tuberculous patients

Inas Shaban Hasan Khater

ادت الزيادة الكبيرة في معدل مرض الدرن في اماكن معينة من العالم و ظهور السلالات المقاومة للأدوية النوعية الخاصة به إلى الحاجة الملحة إلى طرق بسيطة وسريعة تساعد في تشخيص هذا المرض. وقد ادى التأخير في تشخيص مرض الدرن وعمل اختبارات الحساسية للأدوية النوعية وايضا الفشل في عزل المرضى الى انتشار بكتيريا الدرن المقاومه للأدوية النوعية الخاصة به.الهدف من البحث:تهدف هذه الدراسة إلى التعرف السريع على سلالات الدرن المقاومه للريفامبيسين في مرض الدرن الرئوي بواسطه اختبار الفاج الدرني لعمل الحساسيه لعقار الريفامبيسينطرق البحث:تم إجراء هذه الدراسة علي مريض عيادات الصدر في مستشفى بنها الجامعي و مستشفى الصدر بنهاوايضا قسم الميكروبيولوجي والمناعة بكلية طب بنها في الفترة من شهر يناير الي يونيو سنه 2010 وقد شملت الدراسة 50 مريض منهم 37 ذكر و 13 اشي و تراوحت اعمارهم بين 18 الي 67 عام ولقد تم اختيار الحالات المشتبه إصابتهم بالدرن الرئوي بناء على التاريخ المرضي والفحص الإكلينيكي والفحص بالأشعة. تم تقسيم المرضي الى مجموعتين:أ- تسع وعشرون مريض لم يتناولوا علاج للدرن مسبقا- واحد وعشرون مريض يتناولون علاج مجموعتين و تم تقسيم المرضي في هذه المجموعه الي مجموعتين:1. ثلاثة عشر مريض يتناولون علاج الريفامبيسين و تم تقسيم المرضي في هذه المجموعه الي مجموعتين:2. ثمانية مريض تناولوا علاج للدرن مسبقا و لم ينجحهذا وقد خضع كل مرضي الدرن بدون اي مشاكل. اخذ التاريخ المرضي متضمنا: العمر- النوع - المنهـ - التاريخ العائلي وتاريخ الاصابة بحاله الدراسـة للاتـي:- اخذ التاريخ المرضـي متضـمنـا: العـمر- النـوع - المـنهـ - التـارـيخ العـائـلي وتـارـيخ الـاصـابـة بـحالـه مـماـثلـه و تـارـيخ العـلاـج باـدوـبـه ضـد الدرـن- الفـحـص الاـكـلـينـيـكي- الفـحـص بـالـاـشـعـه: اـشـعـه (منـظـر جـانـبـي و اـمامـي خـلفـي)- الـدـرـاسـه الـبـكتـيرـيـولـوجـيـه و هي كـالـاتـيـ:الـعينـات: 0 تم تـجمـيع عـيـنة بـصـاقـ من كل مـريـض صـباـحاـ (عيـنة الصـبـاحـ الـبـاكـرـ) و خـضـعـتـ العـيـنـاتـ لـلـدـرـاسـهـ الـبـكتـيرـيـولـوجـيـهـ التـالـيـهـ:- الفـحـصـ المـجـهـرـيـ لـمـسـحـاتـ الـبـصـاقـ باـسـتـخدـامـ صـبـغـةـ زـيلـ نـيلـسـونـ وـ صـبـغـهـ الـفـلـورـوـسـينـ دـايـ اـسـيـاتـ وـ الـاـيـثـيدـيـومـ بـرـومـاـيدـ. زـرعـ العـيـنـاتـ عـلـىـ مـسـتـنبـتـ لـفـنـشـتـينـ جـنـسـ الـخـاصـ بـمـيـكـرـوبـ الدـرـنـ وـ التـارـيفـ عـلـىـ سـلـالـاتـ الدـرـنـ المـعـزـولـهـ بـوـاسـطـهـ الفـحـصـ المـجـهـرـيـ لـمـسـحـاتـ الـبـصـاقـ باـسـتـخدـامـ صـبـغـةـ زـيلـ نـيلـسـونـ وـ التـفـاعـلـاتـ الـبـيـوـكـيمـيـائـهـ وهـيـ اـخـتـرـالـ الـنـيـترـاتـ وـ اـخـتـارـ اـنـتـاجـ الـنـيـاسـينـ. اـخـتـارـ الفـاجـ الدرـنـ(الفـاستـ بلاـكـ رـيفـامـبـيـسـينـ رـيسـبـونـسـ)ـ اـنـتـاجـ الـبـحـثـ:1ـ تـراـوـحـتـ اـعـمـارـ الـمـرـضـيـ تحتـ الـدـرـاسـهـ ماـ بـيـنـ 18ـ 67ـ عـامـ . سـجـلـ اـعـلـيـ مـعـدـلـ لـلـاصـابـهـ بـالـدـرـنـ 18ـ حـالـهـ (36%)ـ فـيـ الـمـجـمـوعـهـ الـعـمـريـهـ 20ـ 30ـ عـامـ. 2ـ كـانـتـ مـعـظـمـ حـالـاتـ الدـرـنـ مـنـ الرـجـالـ 37ـ حـالـهـ (74%)ـ بـيـنـمـاـ السـيـدـاتـ 13ـ حـالـهـ (26%)ـ وـ قـدـ يـرـجـعـ ذـلـكـ إـلـىـ طـبـيعـهـ النـشـاطـ وـ الـعـمـلـ وـ التـعـرـضـ لـلـإـزـدـحـامـ وـ نـقـصـ التـقـيـفـ الصـحـيـ وـ التـدـخـينـ. 3ـ شـمـلـتـ الـدـرـاسـهـ 31ـ عـامـلـ (62%)ـ وـ 12ـ رـبـةـ مـنـزـلـ (26%)ـ وـ ايـضاـ 6ـ موـظـفـينـ(12%). 4ـ وـجـدـ اـنـهـ عـدـدـ مـدـخـنـيـ السـجـائـرـ فـيـ هـذـهـ الـدـرـاسـهـ 16ـ (32%)ـ وـ الـجـوزـهـ 14ـ (28%)ـ وـ 6ـ حـالـاتـ (12%)ـ يـدـخـنـونـ الـجـوزـهـ وـ السـجـائـرـ مـعـاـ. 5ـ وـجـدـ اـنـهـ مـنـ بـيـنـ 50ـ عـيـنةـ بـصـاقـ اـخـذـتـ مـنـ الـمـرـضـيـ تـحـتـ الـدـرـاسـهـ 42ـ عـيـنةـ (84%)ـ كـانـتـ اـيجـابـيـ الصـبـغـهـ بـالـزـيلـ نـيلـسـونـ فـيـ حـينـ اـنـ 8ـ عـيـنـاتـ (16%)ـ كـانـتـ سـلـبيـهـ. 6ـ مـنـ بـيـنـ 42ـ مـرـضـيـ مـصـابـ بـالـدـرـنـ وـ اـيجـابـيـ لـصـبـغـهـ الـزـيلـ نـيلـسـونـ وـجـدـ 25ـ (59.5%)ـ مـرـضـيـ لـمـ يـاخـذـوـ اـيـ عـلاـجـ لـلـدـرـنـ بـيـنـماـ 17ـ (40.5%)ـ مـرـضـيـ كـانـواـ تـحـتـ الـعـلاـجـ مـتـضـمـنـاـ الـرـيفـامـبـيـسـينـ لـمـدـهـ تـصـلـ الـيـ اـكـثـرـ مـنـ 7ـ شـهـرـيـنـ. 7ـ مـنـ بـيـنـ ثـمـانـيـهـ مـرـضـيـ مـصـابـوـنـ بـالـدـرـنـ وـ سـلـبـيـوـنـ لـصـبـغـهـ الـزـيلـ نـيلـسـونـ وـجـدـ 4ـ (50%)ـ مـرـضـيـ لـمـ

يأخذوا اي علاج للدرن و (50%) 4 مرضى كانوا تحت العلاج متضمنا الريفامبيسين لمده تصل الى اكثر من شهرين.8. وجدت 42 (84%) عينه بصاق ايجابيه بواسطه صبغه الزيل نلسن واياضا صبغه الفلورسين داي اسيتات و الايثيديم بروميد بينما وجدت 4 (8%) عينات سلبيه بواسطه الاشتين.9. تم صبغ جميع عينات البصاق (50 عينه) بواسطه صبغه الفلورسين داي اسيتات و الايثيديم بروميد ونتج عن ذلك وجود 23 (46%) عينه تحتوي علي عصيات حيه و 4(8%) عينات احتوت علي عصيات ميته و 23 (46%) احتوت علي الاثنين.10. تم زرع 50 عينه بصاق علي مستنبت لفنشتين جنسن حيث تم فصل 46 حالة ايجابية و 4 حالات (8%) سلبيه.11. تم تشخيص (42)84% عينه بصاق ايجابيه بواسطه صبغه الزيل نلسن و الزرع علي مستنبت لفنشتين جنسن بينما وجدت (8%) 4 عينات سلبيه بواسطه الاشتين و 4 (8%) عينات سلبيه بواسطه صبغه الزيل نلسن.12. تم تشخيص (92%) 46 عينه بصاق ايجابيه بواسطه مستنبت لفنشتين جنسن و صبغه الفلورسين داي اسيتات بينما وجدت 4 (8%) عينات سلبيه بواسطه الطريقتين13. نتائج طريقه الفاج الدرني(الفاست بلاك ريفامبيسين ريسبونس) التي اجريت علي 50 عينه بصاق كشفت عن 35 (70%) عينه ايجابيه و 15 (30%) عينه سلبيه.14. أوضحت التفاعلات البيوكيميائية التي اجريت علي 46 سلاله درن مفصوله أن 41 (89.1%) سلاله معزولة تتسمى إلى سلاله متفطرة التدرن وأن (10.9%) منها تتسمى لميكروب متفطرة غير تدرينية.15. وجد ان هناك تساوي بين تشخيص عصيات الدرن بواسطه صبغة الزيل نلسن في المرضي الذين لم يأخذوا اي علاج للدرن و المرضي تحت العلاج و كان هذا بفارق احصائي غير ملحوظ.16. وجد ان هناك زياده في معدل عزل الدرن بواسطه مستنبت لفنشتين جنسن في المرضي الذين لم يأخذوا اي علاج للدرن اكثرب من المرضي تحت العلاج و كان هذا بفارق احصائي غير ملحوظ.17. بالنسبة للعلاقة بين المعلومات الديموجرافية لمرضى الدرن و المقاومة للريفامبيسين وجد أنه هناك فروق احصائيه غير ملحوظه في العلاقة بين كل من النوع وال عمر و التدخين و نتائج المقاومه للريفامبيسين .18. وجد انه هناك فروق إحصائية ملحوظه بين مقاومة ميكروب الدرن لعقار الريفامبيسين و مرض السكر ولم يوجد أي فروق إحصائية واضحه في العلاقة بين كل من تاريخ مرض الدرن و حدوث تحاويف بالرئه و تاريخ المخالطة لمرضى الدرن مع نتائج المقاومه للريفامبيسين.19. وجد أنه من اجمالي 50 حالة درن تحت الدراسة كان هناك 17 (34%) حالة مقاومة للريفامبيسين و 33 (66%) حالة حساسه للريفامبيسين وانه من اجمالي 17 حالة مقاومة للريفامبيسين كان هناك 9 (52.9%) حالات ذو مقاومه اوليه للريفامبيسين و 8 (47.1%) ذو مقاومه ثانويه للريفامبيسين .20. وجد أنه من اجمالي 17 حالة درن مقاومة للريفامبيسين كان هناك حالتان (11.8%) ذوي اعراض إكلينيكية طفيفه و 4 (23.6%) حالات إكلينيكية متوسطة و 11 (64.7%) حالة متقدمه إكلينيكيا .استنتاجات و توصيات البحث:-
1- ارتفاع معدل المقاومه الأوليه لميكروب الدرن في مجتمعنا وهذا يدل على عدم فاعليه برامج مكافحة الدرن مما يتطلب مزيد من الدراسات لتقييم هذه البرامج و يجب الاكتشاف السريع و العلاج الجيد حتى لا تنتشر سلالات الدرن المقاومه للأدويه.
2- يوصى بالامتناع عن تدخين السجائر و الجوزه نظرا للارتباط الوثيق بين التدخين والإصابة بالدرن.
3- للحد من حدوث مقاومه ميكروب الدرن لعقار الريفامبيسين ينصح بقصر استخدام هذه الأدوية لعلاج مرض الدرن فقط وعدم استخدامها كمضاد بكتيري واسع المجال.
4- يوصى بعمل اختبارات حساسيه لميكروب الدرن للأدويه الخاصه به وذلك لكل سلاله درن يتم عزلها.
5- ينصح باستخدام طريقه الفاج الدرني(الفاست بلاك ريفامبيسين ريسبونس) بجانب الفحص الميكروسكوبى للبصاق وذلك لاكتشاف حالات درن اضافيه قد يصعب تشخيصها باستخدام الصبغه فقط.
6- نتائج الفاست بلاك ريفامبيسين ريسبونس يتم الحصول عليها في خلال 48 ساعه من مزرعه الدرن و ذلك اسرع من الطرق المعتاده. هذا الاختبار يمكننا من التشخيص السريع لسلالات الدرن متعدد المقاومه و بالتالي تمكنا من علاج المرض و الاقلal من انتشار هذه السلالات.هذه الطريقة لا تحتاج الي اجهزه متخصصه و بالتالي تعطي الفرصة للاستخدام الواسع و خصوصا في البلدان الفقيره.
7- يوصى بعمل المزيد من الابحاث الخاصه بصبغه الفلوريسين داي اسيتات و الايثيديوم بروميد وذلك لوضع معايير لاستخدامها وتبسيط طريقه العمل حيث أنها تمكنا من متابعة علاج حالات الدرن من حيث الاستجابه للعلاج.