عزل وتعريف البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية من المرضى والأطقم الطبية ببعض أقسام مركز مصراتة الطبي

[1]صالح عبدالله شكري [2]الطاهر مصطفى الحبقي [3]علاء الدين علي الصلابي
[2,1] قسم الأحياء، شعبة الأحياء الدقيقة، كلية العلوم، جامعة مصراتة، ليبيا
[3] قسم الصحة البيئية، كلية الصحة العامة، جامعة بنغازي
*E-mail: Saleh.shokri@sci.misuratau.edu.ly
*E-mail: Tahermalhubge@yahoo.co.uk
*E-mail: allaadeein.elsalabi@uob.edu.ly

الملخص:
أصبح انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية والمسببة لعدوى المرافق الصحية مشكلة متزايدة بشكل ملحوظ على نطاق عالمي، حيث ترتبط بارتفاع نسبة الإمراضية والتكاليف العلاجية وكذلك ارتفاع معدل الوفيات، بالإضافة إلى ما يسببه الإستخدام المفرط والخاطئ للمضادات الحيوية من ظهور سلالات مقاومة لهذه الأدوية مما يجعل خيارات العلاج محدودة. في هذه الدراسة تم التحقق من انتشار البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية المتعددة (Multi-Drug Resistant bacteria (MDR))، في المرضى والأطقم الطبية بمركز مصراتة الطبي، حيث تم تجميع المسحات من تجويف الأنف واليدين وكذلك من الجروح لبعض المرضى بقسم العناية المركزة، قسم حديثي الولادة، وحدة عناية حديثي الولادة، قسم العظام، غرفة عمليات المسالك البولية، قسم الجراحة. تم عزل وتعريف البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية من مرضى ببعض أقسام مركز مصراتة الطبي. بينت نتائج عزل البكتيريا من المسحات التي تم تجميعها، الحصول على 35 عزلة بكتيرية من إجمالي المسحات المأخوذة (88) أي بنسبة 39.8% من مجموع المسحات المأخوذة ظهرت بها بكتيريا، ترجع هذه العزلات إلى البكتيريا السالبة لصبغة جرام، حيث تم زراعة المسحات على الوسط الزراعي ماكونكي آجار (MacConkey agar) المضاف إليه المضاد الحيوي السيفتازيديم (Ceftazidime) بتركيز 4 مليجرام/ لتر بغرض عزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية، وقد أظهرت نتائج تعريف العينات البكتيرية المتحصل عليها انتشار ستة أنواع من البكتريا السالبة لصبغة جرام وهي: *Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و *Serratia liquefaciens* و *Acinetobacter baumannii* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas putida*، وقد تم إجراء اختبار حساسية المضادات الحيوية عليها، وكانت النتيجة بأن أظهرت مقاومة عالية لمجاميع مختلفة من المضادات الحيوية المستخدمة في المستشفيات الليبية، وبينت النتائج أن أغلب العزلات كانت مقاومة للمضاد الحيوية الايمبينم. بدراسة بعض آليات المقاومة للمضادات الحيوية، تم التحقق من إنتاجها لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (Extended Spectrum B-lactamase (ESBLs)) بنسبة 11.4% والميتالوبيتالاكتاميز (Metallo B-lactamase (MBLs)) بنسبة 65.7% من إجمالي البكتيريا المعزولة. وبنسبة 71.4% من إجمالي الأنواع المعزولة (35 عزلة) من الأقسام الطبية، مقاومة لمجموعة الكاربابينيم ويطلق عليها (Carbapenem Resistant (CR)) منها 23 عزلة تمتلك إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز والباقي بعدد 2 عزلة قد يفسر مقاومتها نتيجة لإنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز المحللة للكاربابينيم التابعة للفئة د (Carbapenem Hydrolyzing Class D Beta lactamases (CHCD)).

الكلمات المفتاحية: (MDR، ESBLs، MBLs، CR، CHCD، مركز مصراتة الطبي)

المقدمة Introduction

أصبح انتشار البكتيريا المسببة لعدوى المرافق الصحية والمقاومة للمضادات الحيوية مشكلة متزايدة في جميع أنحاء العالم، حيث ترتبط بارتفاع نسبة الإمراضية والتكاليف العلاجية وكذلك ارتفاع معدل الوفيات، ويؤدي الإستخدام المفرط والخاطئ للمضادات الحيوية بشكل عام إلى ظهور سلالات مقاومة لهذه الأدوية؛ نتيجة حدوث طفرات واكتسابها لجينات مقاومة للمضادات الحيوية، الأمر الذي جعل العلاج محدود جدا ضد هذه السلالات الممرضة والمسببة للعديد من الالتهابات والمشاكل الصحية [1]. تركز الاهتمام في نهايات القرن العشرين على الأمراض التي تسببها البكتيريا الموجبة لصبغة جرام خصوصا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسلين (Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)) والمكورات المعوية المقاومة للفانكومايسين (Vancomycin Resistant *Enterococci* (VRE)). في السنوات الماضية أصبحت البكتيريا السالبة لصبغة جرام تشكل خطرا أكبر؛ نظرا للتغطية العلاجية المحدودة وغير الكافية على عكس البكتيريا الموجبة التي تم تطوير علاجات للأمراض المتسببة عنها أدت إلى انخفاض معدل الامراضية والوفيات، لذلك تعتبر الآن البكتريا المعوية Enterobacteriaceae و *Pseudomonas* spp

و*Acinetobacter baumannii* من أكثر مسببات عدوى المرافق الصحية وأوسعها انتشارا وسبباً في العديد من الالتهابات والمشاكل الصحية [2،3]. ترجع الزيادة في انتشار البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية بشكل أساسي إلى الجينات المنتقلة على تركيبات جينية خاصة بالبكتيريا منها البلازميدات، والتي يمكن أن تنتشر بسهولة بين الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام. تواجد البكتيريا الحاملة للبلازميدات المنتقلة (Conjugative plasmids) في بيئات المرافق الصحية وخاصة المستشفيات وحول المرضى وفي المواقع التشريحية المختلفة للمرضى مثل: مجرى الدم والجهاز التنفسي وفي الجروح، يساهم في زيادة انتشار عدوى المستشفيات من خلال انتقال جينات مقاومة المضادات الحيوية التي تحملها البلازميدات المنتقلة من السلالات المقاومة للمضادات الحيوية للسلالات غير المقاومة، وبالتالي تصبح تمتلك نفس الشراسة؛ الأمرالذي يؤدي إلى زيادة انتشار البكتيريا المقاومة في المستشفيات والمرافق الصحية [3]. تنتهج البكتيريا آليات مختلفة لمقاومة المضادات الميكروبية؛ ويرجع ذلك لعدة أسباب منها: الإستخدام غير المرشد للمضادات الحيوية، أو تعرض البكتيريا لجرعات غير قاتلة من المضادات الحيوية، أو كنتيجة لاستخدام مضادات حيوية تستهدف بعض السلالات الحساسة وبدون التأثير على السلالات المقاومة؛ مما يسبب سيادة الأنواع المقاومة وانتشارها سواء عند المرضى أو في البيئات المختلفة. تعتمد بعض الآليات التي تستخدمها البكتيريا على منع دخول المضادات الحيوية إلى داخل الخلية البكتيرية، ويتم ذلك من خلال الطفرات (mutations) مثل: طفرات فقد بروتينات الغشاء الخارجي ((Outer membrane protein loss (OMP)، أو من خلال مضخة إيفلوكس (Efflux pump). كما تنتهج البكتيريا السالبة لصبغة جرام آليات مقاومة للمضادات الميكروبية من خلال إنتاجها لإنزيمات البيتالاكتاميز، والتي تبطل مفعول مجموعة البنسلينات، وإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف التي تبطل مفعول مجموعة البنسلينات والجيل الأول والثاني والثالث والرابع للسيفالوسبورينات، كذلك إنتاج إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز المبطلة لفعالية المجموعات السابقة من المضادات الحيوية بالإضافة إلى مجموعة الكاربابينيم، أيضا توجد إنزيمات أخرى عديدة تنتجها بعض السلالات البكتيرية لمقاومة مجموعات عديدة من المضادات الحيوية، كإنزيمات مقاومة مجموعة الكاربابينيم، هذه الإنزيمات مسؤولة على انتاجها جينات تكون مشفرة على الكروموسوم البكتيري أو البلازميدات البكتيرية. اكتساب البكتيريا لهذه الجينات يكون غالبا بواسطة اكتساب البكتيريا للبلازميد، حيث تعتبر البكتيريا التي تحمل جينات المقاومة علي البلازميدات أخطر من تلك التي تكون محمولة على الكروموسوم؛ وذلك بسبب سهولة انتقال البلازميد البكتيري من سلالة إلى أخرى في نفس البيئة، حيث توجد عوامل أو حاملات جينية (Mobile genetic elements) تساعد على نقل هذه البلازميدات وما تحمله من جينات مسؤولة على إعطاء البكتيريا المضيف صفات جديدة كقدرتها على مقاومة المضادات الميكروبية الأمر الذي يؤدي إلى زيادة انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الميكروبية [4]. تحمل العديد من السلالات البكتيرية التابعة للبكتيريا المعوية جينات تعطي عند تعبيرها إنزيمات البيتالاكتاميز، مثل bla_{CTX-M} المسؤولة على انتاج إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBLs))، كما تمتلك هذه الأنواع والأنواع البكتيرية الأخرى غير المخمرة لسكر اللاكتوز مثل: *Pseudomonas aeruginosa* و*Acinetobacter baumannii* جينات مسؤولة عن إنتاج إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز ((Metallo-beta lactamases (MBLs)، مثل: ((Sao Paolo MBL (SPM-1) و ((NeoDelhi MBL (NDM) و ((Verona Integron mediated (VIM)، أو قد تمتلك بعض الجينات المسؤولة على انتاج إنزيمات مقاومة الكاربابينيم (Carbapenem hydrolysing class D beta lactamases (CHCD))، وهي تعرف بـOXA مثل: امتلاك بعض سلالات بكتيريا *Klebsiella pneumoniae* لجين OXA48، وامتلاك بعض سلالات بكتيريا *A. baumannii* لجينات OXA23 و OXA24 و OXA58، هذه الجينات تكون في الغالب محمولة على البلازميدات البكتيرية، الأمر الذي يساهم في انتشارها إلى سلالات أخرى، وبالتالي انتشار البكتيريا السالبة لصبغة جرام والمقاومة للمضادات الحيوية [2].

تهدف هذه الدراسة إلى التحقق من انتشار بكتيريا عدوى المستشفيات ومقاومتها للمضادات الحيوية مابين المرضى والأطقم الطبية بمركز مصراته الطبي

المواد وطرائق العمل Methods and Materials

تم اختيار مركز مصراتة الطبي مكانا للدراسة، حيث تم أخذ 88 عينة (Swab Culture)، خلال الفترة من شهر يناير وحتى شهر أكتوبر 2017 شملت بيئة بعض الأقسام الطبية وهي وحدة العناية الفائقة (Intensive Care Unit (ICU)) ، قسم الجراحة (Surgery Department)، غرفة عمليات المساك البولية (Urology

Operation Theater (UOT))، قسم العظام (Orthopedic Department)، وحدة العناية الفائقة لحديثي الولادة ((Neonate Intensive Care Unit (NICU) و قسم حديثي الولادة (Neonate Department).

المواد المستخدمة

أوساط الزرع المستخدمة

تم عزل البكتيريا باستخدام وسط الماكونكي أجار (MacConkey Agar)، بينما تم استخدام وسط مولر هينتون أجار (Mueller Hinton Agar) لإجراء اختبارات المضادات الحيوية، كذلك للكشف عن بعض الإنزيمات المفرزة من البكتيريا لإبطال مفعول المضادات الحيوية، كما تم استخدام وسط النيوترينت السائل (Nutrient broth) لحفظ العزلات.

المضادات الحيوية المستخدمة

تم استخدام المضادات الحيوية المصنعة من قبل شركة Oxoid Ltd. الخاصة بتقدير حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية المستخدمة في المستشفيات الليبية جدول (1).

جدول (1): المضادات الحيوية المستخدمة

المضاد الحيوي	الاختصار	التركيز
Augmentin	AMC	30µg
Cefotaxime	CTX	30µg
Ceftazidime	CAZ	30µg
Imipenem	IPM	10µg
Gentamycin	CN	10µg
Amikacin	AK	30µg
Ciprofloxacin	CIP	5µg

طرائق العمل

تحضير أوساط الزرع المستخدمة

تم تحضير أوساط الزرع حسب ما هو موصى به من قبل الشركة المصنعة (Oxoid Ltd) في طريقة التحضير. تمت إضافة المضاد الحيوي السيفتازيديم (Ceftazidime)، بنسبة 4 مليجرام/لتر لوسط الماكونكي أجار وذلك بعد الانتهاء من تحضير الوسط وقبل عملية التوزيع في أطباق بتري. الهدف من إضافة المضاد الحيوي Ceftazidime للوسط هو القضاء على جميع الأنواع البكتيرية الحساسة وضعيفة المقاومة للمضادات الحيوية التابعة للبنسلينات والجيل الأول والثاني والثالث من السيفالوسبورينات، والسماح فقط بنمو الأنواع المقاومة للمضادات الحيوية التي تفرز إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) أو إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) أو غيرها من الإنزيمات والتي تعطيها القدرة على مقاومة المضادات الحيوية [5،6]. تم تحضير وسط (Mueller Hinton Agar)، والذي تم استخدامه في إجراء اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية (Antibiotic sensitivity test)، وكذلك في اختبارات الكشف عن إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) والميتالوبيتالاكتاميز (MBLs)، أيضا تم تحضير وسط النيوترنت بروث (Nutrient

(Broth وإضافة 10% جلسرول وتوزيعه على أنابيب، حيث تم استخدامه في حفظ الأنواع البكتيرية المعزولة. تم تكرار تحضير الأوساط الغذائية حسب الحاجة إليها أكثر من مرة [7،8].

جمع العينات

تم جمع عدد 88 عينة من مركز مصراتة الطبي لبعض المرضى والأطقم الطبية من أقسامه المختلفة، باستخدام مسحات قطنية معقمة (Plain sterile cotton swab)، وتم نقل هذه المسحات بعد أخذها مباشرة للمختبر وزراعتها. العينات تم أخذها من تجويف الأنف واليدين والجروح لبعض المرضى.

زراعة العينات

تم زراعة العينات على وسط الماكونكي أجار الخالي من الملح (MacConkey agar without salt)، المضاف إليه المضاد الحيوي سفتازيديم (Ceftazidime) بنسبة 4 مليجرام/لتر، وتم التحضين على درجة حرارة 37°م لمدة 18-24 ساعة. تم تشخيص وتعريف العزلات ومن ثم إجراء اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية واختبارات الكشف عن إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) و الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) على وسط مولر هينتون آجار. تم حفظ العينات في المجمد، وذلك بزراعتها في وسط نيوترنت السائل المضاف إليه 10% جلسرول، باتباع الطرق المانعة للتلوث (aseptic techniques) [5].

تشخيص وتعريف العزلات

تم تشخيص وتعريف البكتيريا المعزولة حسب المعايير المختبرية من خلال شكل وحجم المستعمرات النامية على الطبق، حيث أن لكل نوع بكتيري خصائص مزرعية تختلف عن غيره من الأنواع، تم تشخيص جميع العزلات وتعريف الجنس والنوع لكل عزلة بشكل دقيق بواسطة اختبار Analytical Profile Index (API) 10S، والذي يشمل مجموعة اختبارات كيموحيوية يتم من خلالها تشخيص وتعريف البكتيريا بشكل دقيق [9].

اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية

تم اجراء اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية باستخدام طريقة كيربي باور (Kirby-Bauer disc-diffusion Method)، حسب توصيات اللجنة الوطنية لمعايير المختبرات والعينات السريرية (Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI 2016))، حيث تمت زراعة واختبار البكتيريا المعزولة علي وسط مولر هينتون اجار (Mueller Hinton Agar (MHA)). تم تحضير المعلقات البكتيرية وتم معايرة تركيز المعلق البكتيري باستخدام جهاز العكارة (Turbidity meter)، وذلك للحصول على تركيز 0.5. تم زرع المعلقات البكتيرية على أطباق بتري التي تحتوي على MHA باستخدام ممسحة قطنية معقمة لكل نوع بكتيري على حدة [5] ، تم تحضين الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة من 18-24 ساعة، ثم قراءة نتائج اختبار الحساسية من خلال قياس قطر منطقة التثبيط إن وجدت (Inhibition zone) بواسطة المسطرة والاستناد على المعايير السريرية والمختبرية في قياس قطر منطقة التثبيط، حيث تم استخدام معيار (CLSI 2016) واعتماد ما إذا كانت البكتيريا مقاومة للمضاد الحيوي أو متوسطة المقاومة أو حساسة [10].

اختبار انتاج البكتيريا لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)

تم الكشف عن إنتاج البكتريا لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) عن طريق النمط الظاهري (Phenotypic) للجين المنتج لهذه الإنزيمات، وقد تم استخدام طريقة (DDST) Double-disk synergy test، حيث تم اختبار البكتيريا المعزولة التي أعطت نتائج مقاومة للجيل الثالث من السيفالوسبورينات علي وسط مولر هينتون أجار (Muller Hinton Agar)، وذلك بعد عمل معلق للأنواع البكتيرية والمعايرة باستخدام جهاز قياس العكارة، ثم إضافة قرص المضاد الحيوي amoxicillin-clavulanate (AMC30µg) في مركز الطبق، واضافة قرص Ceftazidime و Cefotaxime و Ceftriaxone واضافة قرص المضاد الحيوي Cefepime حول قرص المضاد الحيوي (Amoxicillin-clavulanate)، بحيث كانت المسافة مابين الأقراص 20 mm، وتم تحضينها على درجة حرارة 37°م لمدة 18-24 ساعة، ثم دونت النتائج بحيث يدل وجود تآزر (Synergism) مابين أي قرص من أقراص السيفالوسبورينات مع الأجمنتين أو ظهور البكتيريا مقاومة لجميع الأقراص فهذا يدل بشكل مبدئي عن إيجابية الاختبار أي أن هذه السلالة قد تفرز إنزيمات ESBLs، أما اذ كانت البكتيريا حساسة فهذا يعني إن الاختبار سالب [11].

اختبار انتاج البكتيريا لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs)

تم اختبار قدرة الأنواع البكتيرية المقاومة لمجموعة الكاربابينيم على إنتاج إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) عن طريق النمط الظاهري (Phenotypic) لهذه الإنزيمات، وذلك بزرع هذه الأنواع البكتيرية المقاومة لمجموعة الكاربابينيم على وسط المولر هينتون أجار MHA بعد تحضير المعلقات البكتيرية وتحديد تركيزها بواسطة جهاز قياس العكارة، ، وفي هذه الدراسة تم اختبار الأنواع البكتيرية المقاومة للمضاد الحيوي الايمبينم، وقد تم تحضير محلول حمض الخليك الرباعي ثنائي الآمين (Ethylene Diamine tetra acetic acid) والمعروف بـ (EDTA). تم استخدام قرصان من المضاد الحيوي الايمبينم لكل نوع بكتيري، القرص الأول ايمبينم على طبق MHA المزروع مسبقاً بالبكتيريا المراد اختبارها، اما القرص الثاني فقد تم تشبيعه بوضع 5 ميكرو لتر من EDTA ووضعه علي البكتريا المزروعة في الطبق، على أن تكون المسافة بين القرصين لا تقل عن 20 ملم. تم وضع الأطباق في الحاضنة لمدة 18-24 ساعة على درجة حراة 37°م، ومن ثم رصد النتائج، بحيث تُعد البكتيريا المختبرة منتجة للإنزيم إذا أظهرت مقاومة للمضاد الحيوي الايمبينيم وحساسة للايمبينم المشبع بالايديتا؛ ويرجع السبب في ذلك هو عمل مادة EDTA، والتي تعمل على وقف عمل إنزيمات MBLs وبالتالي يتحرر الامبينيم الذي يحتوي على EDTA من التأثير المثبط لإنزيمات MBLs ويعطي تأثير قاتل للبكتيريا أي نتيجة موجبة للاختبار. يتم اعتماد النتيجة موجبة للاختبار أي أنها تمتلك إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) على أساس مقاومة البكتيريا للمضاد الحيوي الامبينيم (Imipenem) وحساسيتها للإمبينيم الذي يحتوي على EDTA [5، 12] .

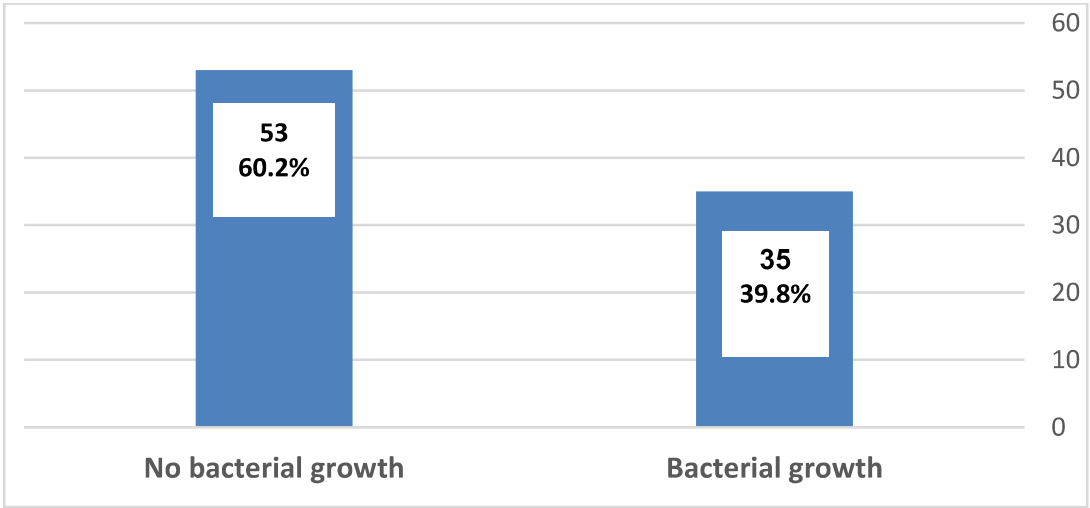
التحليل الاحصائي:

تم ادخال البيانات في برنامج الإكسل وتحليلها عن طريق برنامج SPSS version no.25 وتم حساب التكرارات والنسب المئوية، الأعمدة البيانية واختبار مربع كاي لجودة المطابقة.

النتائج Results

عزل البكتيريا من الأقسام الطبية

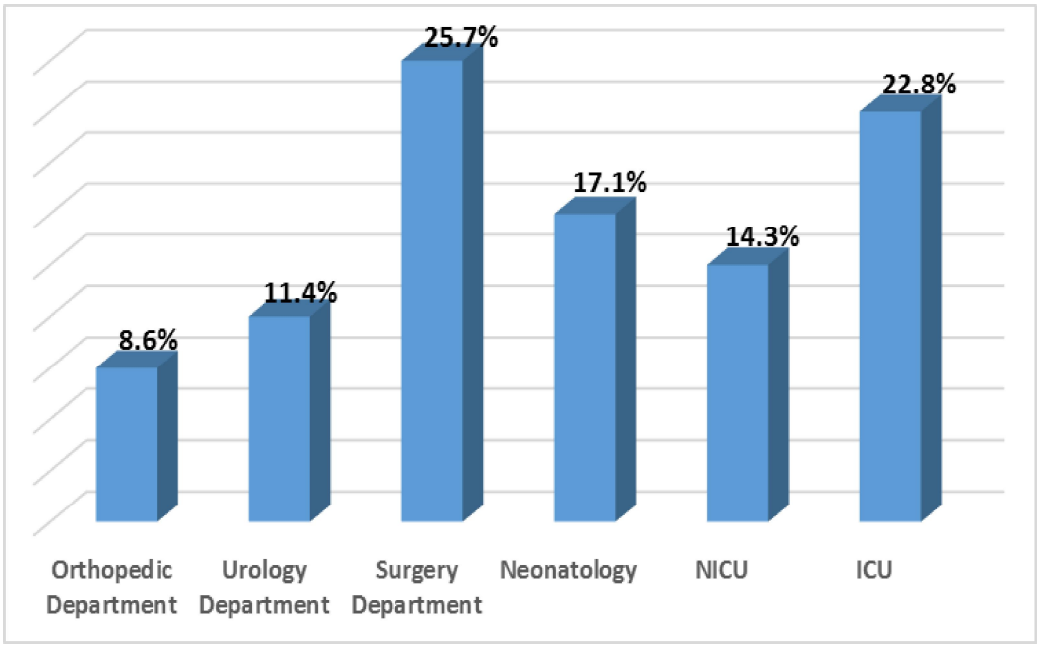
بينت نتائج عزل البكتيريا من المسحات التي تم تجميعها، الحصول على 35 عزلة بكتيرية من إجمالي المسحات المأخوذة (88)، أي بنسبة 39.8% من مجموع المسحات المأخوذة التي ظهرت بها بكتيريا شكل (1)، ترجع هذه العزلات إلى البكتيريا السالبة لصبغة جرام، والتي تم جمعها من المرضى والأطقم الطبية لبعض من الأقسام الطبية، حيث تم زراعة المسحات على الوسط الزرعي الماكونكي آجار، المضاف إليه المضاد الحيوي سيفتازيديم بتركيز 4 مليجرام/ لتر لغرض عزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية. تبين النتائج أيضاً ارتفاع نسبة وجود البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية في بيئة الأقسام الطبية الحرجة وغير الحرجة.



شكل (1): نسبة وجود البكتيريا من إجمالي المسحات المأخوذة بالمستشفى

وقد بينت النتائج أن نسبة ظهور العزلات البكتيرية من المسحات المأخوذة كانت مختلفة ما بين الأقسام، وقد كانت أعلى نسبة عزل للبكتيريا تم تسجيلها في قسم الجراحة، حيث كانت نسبتها 25.7% من إجمالي العزلات

البكتيرية المتحصل عليها، يليها قسم العناية الفائقة بنسبة 22.8%، أما قسم حديثي الولادة فكانت بنسبة 17.1% ووحدة العناية الفائقة لحديثي الولادة بنسبة 14.3% وغرفة عمليات المسالك البولية فكانت بنسبة 11.4%، في حين كانت في قسم العظام أقل ظهورا بنسبة 8.6% من إجمالي البكتريا المعزولة، حيث كانت هناك فروقا معنوية بين نسبة ظهور العزلات البكتيرية في الأقسام الطبية، وهي دلالة واضحة على وجود اختلاف في انتشار الأنواع البكتيرية بين الأقسام شكل (2)*.



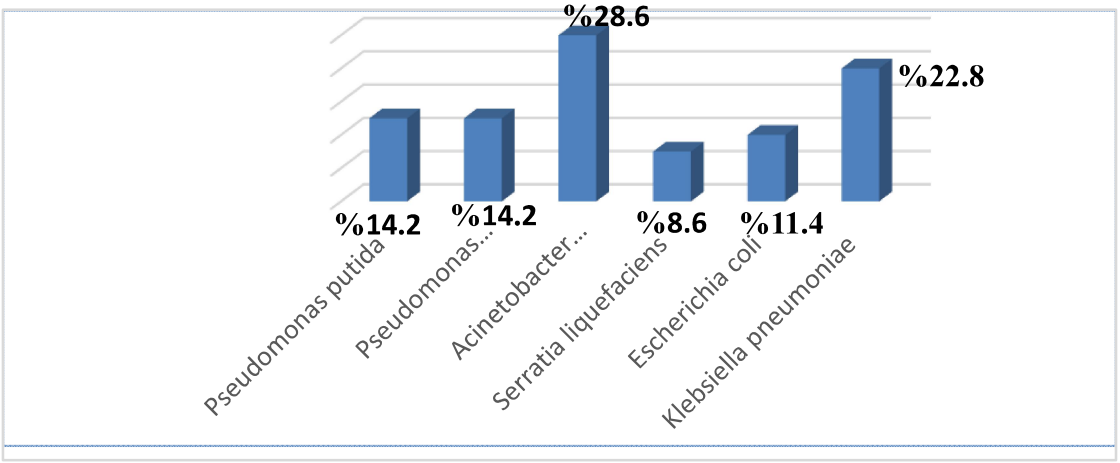
*: P- value (0.000) < 0.05 (chi-square test)

شكل (2): ظهور العزلات البكتيرية في المسحات المأخوذة من الأقسام الطبية.

تعريف العزلات البكتيرية

أظهرت نتائج تعريف العينات البكتيرية المتحصل عليها عزل ستة أنواع من البكتريا السالبة لصبغة جرام، والمقاومة للمضادات الحيوية، وهذه البكتيريا تنقسم إلى قسمين، ثلاثة أنواع بكتيرية تتبع البكتيريا السالبة لصبغة جرام المخمرة لسكر اللاكتوز من عائلة الانتيروباكتيرييسي (Enterobacteriaceae) وهي: *K. pneumoniae* و *E. coli* و *S. liquefaciens* ، وثلاثة أنواع تتبع البكتيريا السالبة لصبغة جرام غير المخمرة لسكر اللاكتوز وهي: *A. baumannii* و *P. aeruginosa* و *P. putida*.، والتي تم عزلها من المرضى في مختلف الأقسام الطبية المدروسة بمركز مصراته الطبي.

وقد بينت النتائج الحصول على 10 عزلات غير مكررة من بكتيريا *A. baumannii* ، والتي كانت الأعلى ظهورا بنسبة 28.6% من مجموع الأنواع البكتيرية التي تم عزلها، و8 عزلات من بكتيريا *K. pneumoniae* أي بنسبة 22.8%، وبنفس العدد (5 عزلات) لكل من بكتيريا *P. aeruginosa* و *P. putida*. (14.2%)، وقد ظهرت بكتيريا *E. coli* بعدد 4 عزلات (23.3%)، في حين كانت العزلات من بكتيريا *S.liquefaciens* بعدد ثلاث عزلات وهي الأقل ظهورا بنسبة 8.6% من الأنواع البكتيرية المتحصل عليها من المسحات المأخوذة من المرضى والأطقم الطبية بالأقسام الطبية، حيث كانت هناك فروقا معنوية ($P < 0.05$) بين الأنواع البكتيرية التي ظهرت في المسحات المأخوذة من الأقسام الطبية وذلك باستخدام اختبار مربع كاي (chi-square test) شكل (3)*.

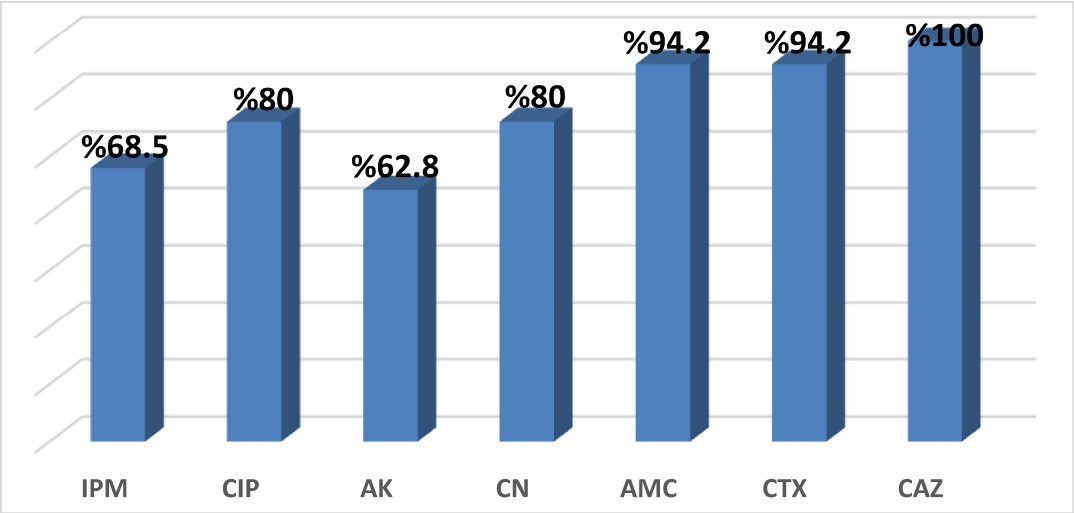


*: P- value (0.000) < 0.05 (chi-square test)

شكل (3): نسبة ظهور الأنواع البكتيرية في الأقسام الطبية

حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية

تم إجراء اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الميكروبية، وذلك بغرض دراسة ضراوة ومدى خطورة هذه الأنواع المنتشرة في الأقسام الطبية المستهدفة في الدراسة. بينت النتائج ظهور مقاومة عالية للمضادات الميكروبية المستخدمة في الدراسة، حيث أظهرت هذه الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام المعزولة من بعض أقسام مركز مصراتة الطبي مقاومة عالية جدا لمضادات الجيل الثالث من السيفالوسبورينات وهي Ceftazidime وCefotaxime والمضاد الميكروبي التابع للبنسلينات (Amoxicillin-clavulanic acid) المعروف تجاريا باسم Augmentin، يليها المضاد الحيوي Imipenem و المضادين الحيويين gentamicin و Amikacin التابعين لمجموعة الجلايكوسايدات الأمينية و المضاد التابع لمجموعة الكوينولونات، Ciprofloxacin حيث كانت المقاومة عالية أيضا، ولكن أقل من المضادات السابقة، ومن خلال نتائج اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الميكروبية، تبين أن جميع الأنواع البكتيرية المعزولة كانت مقاومة تماما بنسبة 100% للمضاد الحيوي السفتازيديم، كما تبين أن نسبة 94.2% من العزلات كانت مقاومة للمضاد الحيوي الأجمنتين، وبنفس النسبة (94.2%) مقاومة للسيفوتاكسيم، وبنسبة 80.0% مقاومة للمضاد الحيوي السبروفلوكساسين، والجينتامايسين، والامبينيم بنسبة 68.5%، أما فيما يخص أقل نسبة مقاومة، فقد تم رصدها مع المضاد الحيوي الأميكاسين بنسبة 62.8%، شكل (4).



شكل (4): نسب العزلات البكتيرية المقاومة للمضادات الميكروبية

دراسة آلية مقاومة البكتيريا السالبة لصبغة جرام للمضادات الحيوية

تمت دراسة مقاومة الأنواع البكتيرية المعزولة من الأقسام الطبية، من حيث قدرتها على إنتاج الإنزيمات المحللة أو المبطلة لفاعلية المضادات المستخدمة للقضاء عليها، وقد أظهرت النتائج قدرة نسبة كبيرة من هذه العزلات على إنتاج الإنزيمات التي تجعلها تمتلك صفة المقاومة للمضادات المتعددة (Multi-Drug Resistance (MDR)).

1- إنتاج البكتيريا لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)

أظهرت النتائج أنه بنسبة 11.4% من إجمالي العزلات التي ظهرت في الأقسام الطبية (35 عزلة) تمتلك إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)، حيث كانت هذه العزلات مقاومة للمضادات الحيوية السيفتازيديم والسيفوتاكسيم، وهي مضادات تابعة للجيل الثالث من السيفالوسبورين، في حين حساسة لمضاد الإمبينيم التابع للكاربابينيم، وعند إجراء إختبار الكشف عن إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف، باستخدام طريقة (DDST) للكشف عن النمط الظاهري للجين المسؤول عن إنتاج هذه الإنزيمات، كانت هذه العزلات موجبة لهذا الإختبار، شكل (5). وقد بينت النتائج أيضاً، أن العزلات البكتيرية التي تم الكشف عن امتلاكها ESBLs كانت من بكتيريا *K. pneumoniae* و *E. coli* و *S. liquefaciens*، والتي تم عزلها من قسم الجراحة، وقسم العظام ووحدة العناية الفائقة لحديثي الولادة، ولم تكن هناك فروقا معنوية بين الأنواع التي ظهرت منتجة لإنزيمات ESBLs جدول (2).

جدول (2): العزلات البكتيرية الموجبة لإختبار الكشف عن إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)

العدد	العزلات	القسم
1	***K. pneumoniae* SAA29**	**قسم الجراحة**
2	***E. coli* SAA71**	**وحدة العناية الفائقة لحديثي الولادة**
3	***S. liquefaciens* SAA72**	**وحدة العناية الفائقة لحديثي الولادة**
4	***E. coli SAA63***	**قسم العظام**

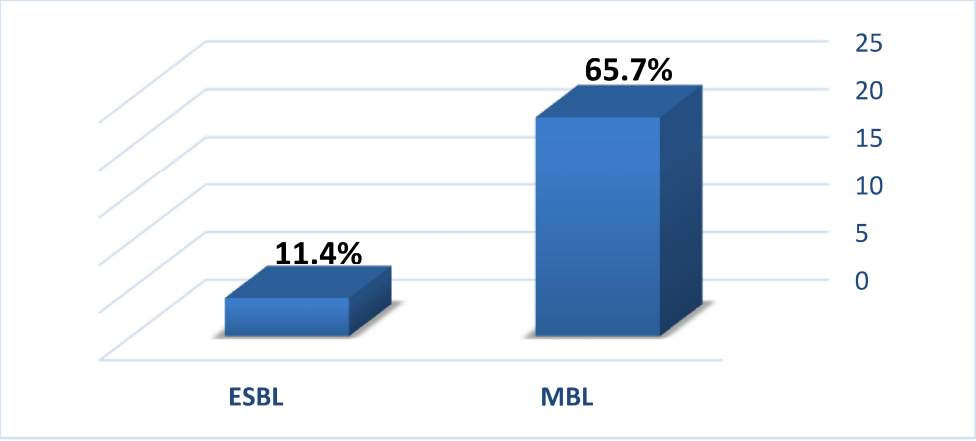
2- إنتاج البكتيريا لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs)

بينت نتائج الكشف عن إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز ظهور 23 عزلة تمتلك هذه الإنزيمات من إجمالي العزلات البكتيرية المتحصل عليها من الأقسام الطبية (35)، أي بنسبة 65.7% من العزلات منتجة للـ MBLs كما هو موضح في شكل (5)، حيث بينت النتائج حساسية هذه العزلات للمضاد الحيوي الإمبينيم المضاف إليه مادة EDTA في حين كانت مقاومة للإمبينيم في إختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية. تظهر هذه النتائج قدرة البكتيريا على إنتاج إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) القادرة على إكساب البكتيريا المقاومة والقدرة على تكسير المضادات الحيوية التابعة لمجموعة البيتالاكتام (البنسلينات والسيفالوسبورينات والكاربابينيمات)، ويبين الجدول (3) الأنواع البكتيرية المعزولة من الأقسام الطبية والمنتجة لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز، حيث كانت هناك فروقا معنوية مابين الأنواع المعزولة من الأقسام الطبية، وهى دلالة على وجود إختلاف في انتشار إنزيمات MBLs بين الأقسام الطبية المدروسة. تعمل مادة EDTA على تثبيط عمل إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز الأمر الذي يتيح المجال لعمل المضاد الحيوي الإمبينيم لقتل البكتيريا، والتي تعتبر دلالة على امتلاكها لأحد إنزيمات MBLs.

جدول (3): الأنواع البكتيرية المعزولة من الأقسام الطبية الموجبة لإختبار الكشف عن انزيمات الميتالوبيتا لاكتاميز

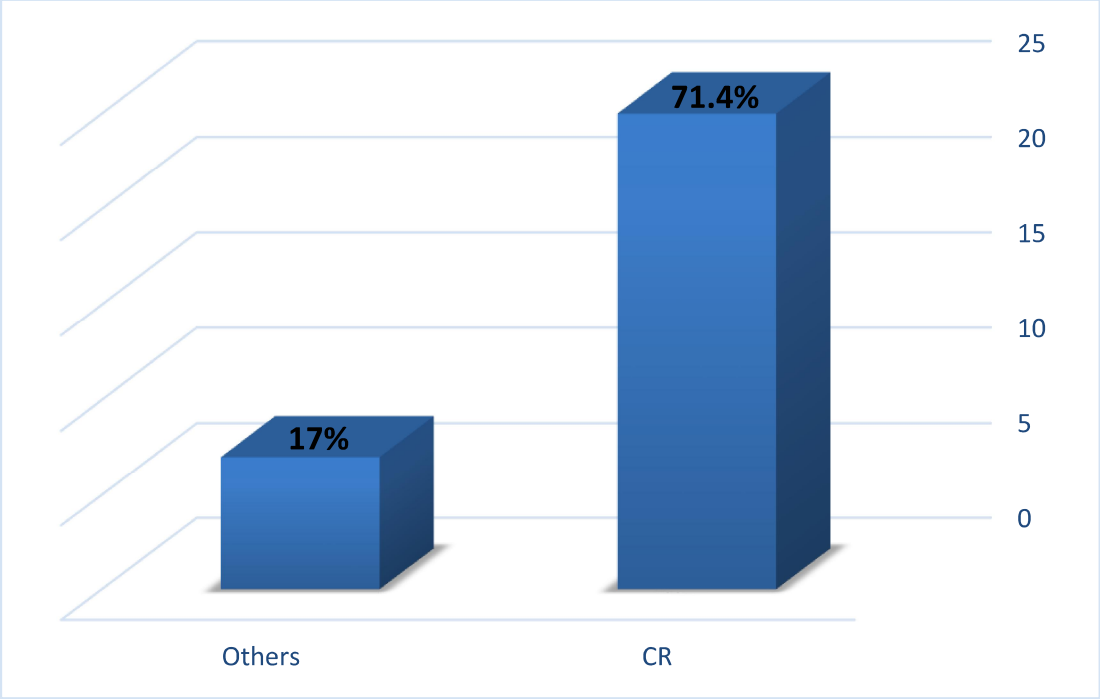
البكتيريا	الأقسام الطبية						نسبة الأنواع البكتيرية المنتجة للإنزيم
	العناية الفائقة	الجراحة	غرفة عمليات المسالك البولية	العظام	العناية الفائقة لحديثي الولادة	حديثي الولادة	
K. pneumoniae	-	3	2	-	1	1	(n= 7)%30.4
A. baumannii	2	2	1	1	1	-	(n= 7)%30.4
P. aeruginosa	-	-	-	-	2	1	(n= 3) %13.0
E. coli	1	1	1	-	-	-	(n= 3) %13.0
P. putida	1	-	-	-	-	1	(n= 2) %8.9
S. liquefaciens	1	-	-	-	-	-	(n= 1) %4.3
المجموع	5 (%21.7)	6 (%26.0)	4 (%17.4)	1 (%4.3)	4 (%17.4)	3 (%13.0)	(n= 23) %100

P- value (0.01) < 0.05 (chi-square test)

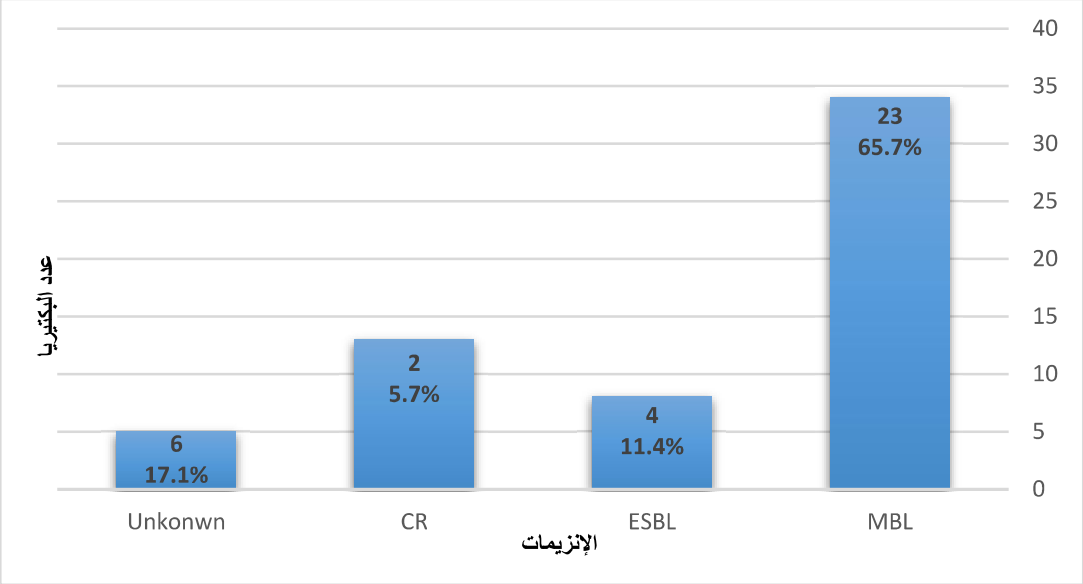


شكل (5): نسبة ظهور إنزيمات ESBLs وMBLs من الأنواع البكتيرية المعزولة داخل الأقسام الطبية

وقد بينت نتائج دراسة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية، وبالأخص مجموعة الكاربابينيم والتي يمثلها الامبينيم في هذه الدراسة، أن 25 عزلة من إجمالي البكتيريا المعزولة (35 عزلة) من الأقسام الطبية، مقاومة لمجموعة الكاربابينيم ويطلق عليها ((Carbapenem Resistant (CR) أي بنسبة 71.4% من البكتيريا المعزولة مقاومة لمجموعة الكاربابينيم، المعروفة بإنزيمات الكاربابينيميز (Carbapenemase) شكل (6)، ومن ضمن هذه الإنزيمات والذي تم الكشف عنها إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز، والتي كما أشرنا إليها سابقا ظهرت في 23 عزلة، أي أن إنزيمات مقاومة الكاربابينيم التي ظهرت في البكتيريا المعزولة 0.92% منها إنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز، والباقي (8.0%) قد يفسر مقاومتها نتيجة لإنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز المحللة للكاربابينم التابعة للفئة د ((Carbapenem Hydrolysing Class D Beta lactamases CHCD)، أو قد تكون مقاومتها لمجموعة الكاربابينم نتيجة للمقاومة الفسيولوجية، وعدد 4 عزلات كما أشرنا سابقا منتجة لإنزيمات ESBLs أي بنسبة 11.4%، وباقي العزلات البكتيرية لديها آليات أخرى لمقاومة المضادات الحيوية والتي كان عددها 6 عزلات بكتيرية، أي بنسبة 17.1% من العزلات البكتيرية المتحصل عليها لديها آليات أخرى لمقاومة المضادات الحيوية شكل (7).



شكل (6): نسبة ظهور CR من الأنواع البكتيرية المعزولة من الأقسام الطبية



شكل (7): نسب ظهور آليات مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية

المناقشة Discussion

في هذه الدراسة، من مجموع المسحات المأخوذة من بعض أقسام مركز مصراتة الطبي (88 مسحة) تم عزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية بواقع 35 عزلة، وأظهرت نتائج تعريف البكتيريا أن هذه العزلات المتحصل عليها كانت: *K. pneumoniae* و *A. baumannii* و *P. aeruginosa* و *E. coli* و *P. putida* و *S. liquefaciens*. تم عزل هذه الأنواع البكتيرية من المرضى المقيمين ببعض الأقسام الطبية الحرجة وغير الحرجة وكذلك من بعض الأطقم الطبية، وهذا يشير إلى انتشار بكتيريا عدوى المستشفيات مابين المرضى والأطقم الطبية في بيئة المستشفى، ويعتبر ظهور هذه السلالات البكتيرية بهذا العدد (35عزلة) والتي تم عزلها على وسط الماكونكي أجار المضاف إليه المضاد الحيوي Ceftazidime بتركيز4 مليجرام / لتر أمر بالغ الخطورة، حيث يشير إلى ارتفاع نسبة انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية بالمستشفى، خصوصا أن بعضها تم عزلها من الجروح لذى بعض المرضى وبالتالي تكمن الخطورة في تسبب مشاكل صحية لهؤلاء المرضى وحدوث التهابات أو إصابة الجروح لبعضهم، الأمر الذي يؤدي إلى صعوبة علاجهم، وعدم إيجاد مضادات رادعة لها أو تحد من إحداثها للعدوى، والتي قد تؤدي إلى بتر بعض الأعضاء للمرضى خصوصا المرضى المصابين بداء السكري في حالة عدم قدرة الطبيب في السيطرة عليها، أو وصولها إلى الدم وحدوث حالات تلوث الدم (Bacteremia)، أو تسمم الدم (Septicemia)، والتي قد تنتهي بالوفاة لكثير من الحالات. أظهرت نتائج اختبار حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية في هذه الدراسة مقاومة عالية جدا للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، وأن نسب فعالية المضادات الحيوية ضد هذه السلالات كانت منخفظة ولا تكاد تتأثر بأغلب المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، وهذا يجعل خيارات العلاج محدود جدا، ومن المؤشرات التي تدل على خطورة الأنواع البكتيرية المعزولة، كما بينت نتائج الدراسة قدرة بعض من هذه السلالات (4 عزلات) على إفراز إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs)، وهي بذلك مقاومة للبنسلينات والأجيال الأربعة للسيفالوسبورين والازترونام، وبينت أيضا أن عدد كبير من البكتيريا المعزولة (23 عزلة) منتجة لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs)، وهي تعتبر خطيرة لكونها مقاومة للبنسلينات والأجيال الأربعة للسيفالوسبورين وكذلك مجموعة الكاربابينيم، الأمر الذي يشير إلى امتلاكها للمورثات الجينية المسؤولة على إفراز هذه الإنزيمات، وقد بينت نتائج دراسة مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وبالأخص مجموعة الكاربابينيم والتي يمثلها الامبينيم في هذه الدراسة، أن 25 عزلة (71.4%) مقاومة للكاربابينيم والتي يطلق عليها (Carbapenem Resistant (CR)) والتي من ضمنها

الأنواع المنتجة لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز والبعض الأخر منها قد يفسر سبب مقاومتها هو امتلاكها لإنزيمات البيتالاكتاميز المحللة للكاربابينيم التابعة للفئة د (Carbapenem Hydrolyzing Class D Beta lactamase (CHCD))، أو قد تكون مقاومتها بسبب فسيولوجي. يعتبر هذا العدد (25) من الأنواع المعزولة مقاوم للكاربابينيم (CR) أو تمتلك MBLs، كذلك التي تمتلك ESBLs، مؤشر خطير إلى امتلاك هذه السلالات جينات تعطي عند تعبيرها إنزيمات البيتالاكتاميز، والتي تكون مسؤولة على إعطاء البكتيريا صفة المقاومة للمضادات الميكروبية، وعلى حسب نوع الجينات تحدد مدى شراسة وخطورة البكتيريا المقاومة وإحداثها للعدوى، وهذه الجينات في الغالب تكون محمولة على تركيبات جينية خاصة منها البلازميدات البكتيرية والتي تنتشر بسهولة بين الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة جرام، وبالتالي زيادة انتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية وما تسببه من مشاكل تهدد الصحة العامة والمجتمع [3]. ظهور بكتيريا عدوى المستشفيات السالبة لصبغة جرام بهذا العدد (35 عزلة) من إجمالي المسحات المأخوذة (88 مسحة)، ومقاومتها العالية للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة، قد يكون دليلا على عدم الكفاءة في التنظيف والتطهير الجيد للبيئة المحيطة بالمرضى والأجهزة الملحقة بهم، كذلك عدم الالتزام الجيد بإصحاح اليدين واتباع الطرق الصحيحة أثناء التعامل مع المرضى أو في حالات تغيير الجروح (Aseptic Technique)، وعدم الالتزام بالملابس الوقائية، والذي يساهم في إنتقالها من البيئة إلى المرضى، ولا يقتصر الأمر على ارتداء القفازات فقط، حيث هناك حالات حرجة تستدعي أخذ الاحتياطات الكاملة قبل وأثناء التعامل مع المريض، أو في حالات تغيير الجروح، أو دخول المريض لغرفة العمليات، أو حتي المرضى المقيمين بالأقسام الطبية خصوصا وحدة العناية الفائقة؛ حيث تكون الحالات حرجة أكثر من باقي الأقسام، حيث تعتبر من أسباب ظهور وانتشار البكتيريا المسببة لعدوى المستشفيات، ولعل السبب الرئيسي والأساسي لانتشار البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية بمركز مصراتة الطبي بهذا الحجم هو ما شهده المركز من حروب خلال السنوات الماضية. يعتبر مركز مصراتة الطبي المكان الرئيسي لاستقبال جرحى الحروب التي دارت في البلاد خلال السنوات الماضية، حيث كان يستقبل عدد كبير من الجرحى يفوق طاقته الإستعابية بأضعاف، الأمر الذي يجعل الأطباء والممرضين وغيرهم من العاملين لا يستطيعون الإلتزام الكامل بطرق الوقاية أو العناية الجيدة من التعقيم والتطهير سواء للأجهزة والمعدات أو العناية بالمرضى أنفسهم والبيئة المحيطة بهم، وتطهير وتنظيف الجروح بالشكل المطلوب، كذلك بالنسبة للمضادات الحيوية، حيث تعتبر حالات الحروب مختلفة عن الحالات العادية، والعدد يفوق قدرة المركز والأطباء على العناية بهم بالشكل المطلوب، كذلك الإمكانيات المتاحة لا تستوعب هذه الأعداد الهائلة. كل هذه العوامل قد تساعد البكتيريا على تطوير نفسها واكتساب المورثات الجينية التي تفرز إنزيمات المقاومة للمضادات الميكروبية، وتجعلها أكثر شراسة، وبالتالي تساهم في زيادة انتشار بكتيريا عدوى المستشفيات ومقاومتها للأدوية المتعددة (MDR)، وهذا يشكل خطرا كبيرا على حياة المرضى مما يترتب عليه فقدان أخر الخيارات العلاجية المتوفرة، وأيضا عدم قدرة الطبيب في السيطرة على البكتيريا وإبادتها، بالإضافة إلى زيادة تكاليف العلاج للمستشفى. توافقت هذه الدراسة مع دراسة قام بها [6]، لعزل بكتيريا عدوى المستشفيات السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية من بعض مستشفيات مدينة بنغازي، حيث بينت الدراسة أيضا أن البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية موجودة بشكل متزايد مابين المرضى والبيئة المحيطة بهم، وفي ظهور إنزيمات البيتالاكتاميز (ESBLs و MBLs) في عدد من العزلات البكتيرية، وأيضا ظهور بكتيريا *P. aeruginosa* و *A. baumannii* في وحدة العناية الفائقة (ICU). كما توافقت هذه الدراسة مع دراسة أجراها [13] على 500 عينة تم أخذها من المرضى المقيمين بوحدة العناية الفائقة (ICU)، والذين ظهرت عليهم أعراض وعلامات الإصابة بعدوى المستشفيات، حيث كانت معظم العزلات المسببة للأمراض من البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية وهي: *P. aeruginosa* بنسبة 43.2% و *Klebsiella spp* بنسبة 33.7%، هذه النتائج توافقت مع نتائج هذه الدراسة، حيث كانت هذه الأنواع البكتيرية من ضمن البكتيريا المتحصل عليها، إلا أن نسب ظهورها تختلف مع نسبة ظهورها في هذه الدراسة والتي كانت *P. aeruginosa* بنسبة 14.2% و *K. pneumoniae* بنسبة 22.8%، ولعل ذلك يرجع إلى الاختلاف في حجم العينات المأخوذة، والذي كان أقل بشكل كبير في دراستنا (88) مقارنة مع هذه الدراسة (500)، كذلك لم تقتصر دراستنا على أخذ العينات من وحدة العناية

الفائقة فقط بل شملت بعض الأقسام الطبية الأخرى، الأمر الذي يشير إلى الإختلاف في انتشار أنواع البكتيريا السالبة لصبغة جرام المسببة لعدوى المستشفيات حسب البيئة المتوفرة في كل قسم، كذلك مع مقاومتها للمضادات الحيوية، توافقت هذه الدراسة بأن كان المضاد الحيوي الأميكاسين هو الأفضل فعالية مع البكتيريا السالبة لصبغة جرام المعزولة، في حين لم تتفق مع المضاد الحيوي الإمبينيم والذي لم يكن الأفضل في دراستنا على عكس هذه الدراسة؛ وذلك بسبب أن الأنواع البكتيرية المتحصل عليها في دراستنا نسبة عالية منها منتجه لإنزيمات الميتالوبيتالاكتاميز (MBLs) أو الإنزيمات المقاومة لمجموعة الكاربابينيم (CR)، والتي استخدم منها المضاد الحيوي الإمبينيم، ولعل البكتيريا المعزولة في هذه الدراسة لا تمتلك المورثات الجينية المنتجة لهذه الإنزيمات، أو نسبة قليلة منها فقط التي تمتلكها، الأمر الذي يجعل المضاد الحيوي الإمبينيم أفضل فعالية مع هذه السلالات، كما تجدر الاشارة إلى أن العزلات في دراستنا كانت من المرضى والأطقم الطبية، وهذا يعكس خطورة انتشار هذه الأنواع في بيئة المستشفى، وبالتالي انتقالها مابين المرضى وإصابتهم بعدوى المستشفيات، والتسبب في مشاكل صحية عديدة للمرضى. تشير النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة إلى وجود احتمالية كبيرة لامتلاك عدد من العزلات إنزيمات CTX-M واسعة الطيف، من خلال توافق هذه العزلات مع نتائج الدراسة التي أجراها [4] لفحص آليات مقاومة البكتيريا السالبة لصبغة جرام للمضادات الحيوية، حيث جُمعت العينات من ثلاث مناطق رئيسية وهي المرضى بالمستشفيات في كلا من بنغازي وطرابلس، ومن بيئة المستشفيات في المدينتين، والبيئة خارج المستشفيات لرصد مدى انتشار العدوى في هذه الأماكن، وتوافقت النتائج المتحصل عليها مع دراستنا من عزل البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية، وفي كونها مقامة للمضادات الحيوية، خصوصا الجيل الثالث من السيفالوسبورينات، والتي استخدم منها في دراستنا المضاد الحيوي Ceftazidime و Cefotaxime، وظهور عدد من العزلات الموجبة لاختبار الكشف عن وجود إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف. لم تتفق هذه الدراسة مع الدراسة التي أجراها [14]، حيث كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد حساسية البكتيريا الممرضة السالبة لصبغة جرام لمضادات الكاربابينيم الثلاثة imipenem و meropenem و doripenem، والمعزولة من سبع مراكز طبية في ألمانيا، حيث تم جمع العزلات والتي كان عددها 363 عزلة، من المرضى المقيمين بهذه المراكز الطبية والذين يعانون من التهابات متعددة، وكانت العزلات المتحصل عليها هي: بكتيريا *P. aeruginosa* بنسبة 45.2%، والبكتيريا التابعة للعائلة المعوية *Enterobacteriaceae* بنسبة 46%، و 4.7% لبكتيريا *Acinetobacter* spp، وبنسبة 4.1% لباقي البكتيريا المعزولة السالبة لصبغة جرام، وقد أظهرت نتائج الدراسة نشاطا واسعا لمجموعة الكاربابينيم ضد هذه العزلات الممرضة السالبة لصبغة جرام في ألمانيا، لم تتفق هذه النتائج مع النتائج المتحصل عليها في دراستنا، حيث ظهرت نفس الأنواع البكتيرية المتحصل عليها في هذه الدراسة إلا أنها أظهرت مقاومة بنسبة عالية لمجموعة الكاربابينيم، ويشير ذلك إلى امتلاك هذه السلالات المعزولة في دراستنا إلى الجينات المسؤولة على إفراز إنزيمات CHCD، أو MBLs، والتي تعمل على إيقاف نشاط مجموعة الكاربابينيم، ويرجع ذلك إلى الإختلاف الكبير في الوعى الصحي، والاهتمام بتنظيف وتطهير الاسطح، وبيئة المستشفى، ونظافة الأيدي من قبل العاملين، وتطهير الجروح، وغيرها من طرق مكافحة العدوى في مستشفيات ألمانيا مقارنة مع امكانيات مركز مصراتة الطبي، كذلك حجم مركز مصراتة الطبي والذي يعتبر المكان العام الرئيسي الوحيد للمدينة لا يسع لعدد المرضى المقيمين، الأمر الذي يعيق عملية مكافحة عدوى المستشفيات بالشكل المطلوب، مما يساهم ذلك في انتشار البكتيريا المسببة للعدوى والمقاومة للمضادات الحيوية في بيئة المستشفى. الجدير بالذكر أن مشكلة انتشار البكتيريا السالبة لصبغة جرام المقاومة للمضادات الحيوية في المستشفيات والمرافق الصحية والتي تحتوي على عدد كبير من المورثات الجينية التي تعطي عند تعبيرها خاصية المقاومة لأغلب المضادات الحيوية، أصبحت من المشاكل العالمية التي تزداد يوما بعد يوم في خطورتها وحدوثها للعدوى وارتفاع نسبة الإمراضية والوفيات وزيادة التكاليف العلاجية في جميع أنحاء العالم.

References المراجع

1. Peleg, A. and Hooper, D. (2010): Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *The New England Journal of Medicine*, 13; 362(19): 1804–1813.
2. Kumarasamy, K. K.; Toleman, M. A.; Walsh, T. R.; Bagaria, J.; Butt, F.; Balakrishnan, R.; Chaudhary, U.; Doumith, M.; Giske, C. G.; Irfan, S.; Krishnan, P.; Kumar, A. V.;

Maharjan, S.; Mushtaq, S.; Noorie, T.; Paterson, D. L.; Pearson, A.; Perry, C.; Pike, R.; Rao, B.; Ray, U.; Sarma, J. B.; Sharma, M.; Sheridan, E.; Thirunarayan, M. A.; Turton, J.; Upadhyay, S.; Warner, M.; Welfare, W.; Livermore, D. L. and Woodford, N. (2010): Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancetent Infectious Diseases*. 10(9): 597–602.

3. Hawkey, P.M. and Jones, A.M. (2009): The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 64, Suppl. 1, i3–i10.

4. El Salabi, A. A.; Walsh.T. R. and Chouchani, C. (2012): Extended spectrum B-lactamases,carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Critical Reviews in Microbiology*. 1-10.

5. Dandachi, I.; Sokhn, E. S.; Dahdouh, E. A.; Azar, E.; El-Bazzal, B.; Rolain, J. and Daoud, Z. (2018): Prevalence and Characterization of Multi-Drug-Resistant Gram-Negative Bacilli Isolated From Lebanese Poultry: A Nationwide Study. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 9, 1 – 11.

6. Araig, Z. A.; El salabi, A. A. and Ben Gwierif, S. (2014): Isolation of nosocomial multi-drug resistant gram-negative bacteria from some Benghazi hospitals. *BIOMEDICAL SCIENES*. 1No1:3, 10.2823|1022.

7. Mathlouthi, N. A.; Areig, Z. A.; Al Bayssari, C. A.; Bakour, S.A.; El salabi, A. A.; Ben Gwierif, S.; Zorgani, A. A.; Ben Slama, K. A.; Chouchani, C. A. and Rolain, J. (2015): Emergence of Carbapenem-Resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumanii Clinical Isolates Collected from Some Libyan Hospitals. *Microbial Drug Resistance*. 21(3):335-41.

8. Ouertani, R. A.; Limelette, A. A.; Guillard, T. A.; Brasme, L. A.; Jridi, Y. A.; Barguellil, F. A.; Elsalabi, A. A.; de Champs, C. A. and Chouchani, C. (2015): First report of nosocomial infection caused by Klesiella pneumonia ST147 producing OXA-48 and VEB-8 B-lactamases in Tunisia. *Global Antimicrobial Resistance*. 191 1-4.

9. Saleem, R.; Ejaz, H.; Zafar, A.; Younas, S. and Rathore, A. W. (2017): Phenotypic characterization of extended-spectrum-beta-lactamase producing E. coli from healthy individuals, patients, sewage sludge, cattle, chickens and raw meat. *Pakistan Journal of Medical Sciences*. Vol. 33 No. 4. 886 -890.

10. Ananthan, S. and Subha, A. (2005): Cefoxitin resistance mediated by loss of a porin in clinical strains of Klebsiella pneumoniae and Escherichia coli. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 23(1):20-23.

11. Drieux، L.; Brossier، F.; Sougakoff، W. and Jarlier، V. (2008): Phenotypic detection of extended-spectrum b-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*. 14 (Suppl. 1): 90–103.

12. Ellabib، M.; Aboshkiwa، M.; Almargani، N.; Zorgani، A.; El-Salabi، A. and El-Gumati، M. (2013): Detection of metallo-β -lactamase in Pseudomonas aeruginosa from Tripoli, Libya. *Journal of Biomedical Sciences*. Vol. 2 No. 1:3.

13. Jamshidi، M.; Javadpour، S.; Eftekhari، T.; Moradi، N، and Jomehpour، F. (2009): Antimicrobial resistance pattern among intensive care unit patients. *African Journal of Microbiology Research*. Vol. 3(10) pp. 590-594.

14. Valenza, G.; Seifert, H.; Decker-Burgard, S.; Laeuffer, J.; Morrissey, I.; Mutters, R. and COMPACT Germany Study Group. (2012): Comparative Activity of Carbapenem Testing (COMPACT) study in Germany'، *International Journal of Antimicrobial Agents*. 39(3):255-8.

Isolation and definition of Multi-Drug Resistant Gram-negative Bacteria from the environment of some Departments of Misurata Medical Center

Saleh. A. Shokri [1], Altaher. M. Alhubge[2] and Allaaeddin. A. Elsalabi[3]
[1,2]Biology Department, Microbiology Division, Faculty of Sciences, Misurata University, Misurata, Libya
[3]Environmental Health Department, Faculty of Public Health, Benghazi University, Benghazi, Libya
*E-mail: Saleh.shokri@gmail.com
*E-mail: Tahermalhubge@yahoo.co.uk
*E-mail: allaadeein.elsalabi@uob.edu.ly

Abstract:
Multi-drug resistant bacteria that cause health care associated infections are transmitted worldwide, this is linked with increased morbidity and cost of treatment, in addition to increased mortality rates. Furthermore, the spread of MDR bacteria is caused by the improper and excessive use of antibiotics, which limits the therapeutic options. This study was undertaken to investigate the occurrence of MDR Gram negative bacteria in the environment of Misurata Medical Center (MMC); the swabs were collected from Intensive Care Unit (ICU), Neonatal ICU, Neonatal Department, Surgery Department, Urology Department, Operation Theaters, and Orthopedic Department. The swabs were cultured on MacConkey agar supplemented with 4 mg/l of ceftazidime, the isolates were identified and tested against some antibiotics used as treatment options in Libya. The results showed that out of 212 swabs collected, sixty isolates (28.3%) of MDR Gram negatives were found spreading the in the hospital environmental setting. These isolated belong to 6 species of Gram negative bacteria; *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia liquifecans*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *P. putida*. Antibiotic Sensitivity Testing (AST) showed that most isolates were highly resistant to antibiotics, particularly to imipenem. Some isolates were Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) producers (13.3%), whereas, high percentage of isolates were Metallo Beta Lactamase (MBL) producers (56.7%).

Keywords: (MDR, ESBLs, MBLs, CR, CHCD, MMC)