استخدام القراءة التفسيرية في توضيح آليات المقاومة لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* المعزولة من مرضى التهاب المسالك البولية

جمال عبد الرحمن إبراهيم
علي عبد شراد
قسم علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الأنبار

استلم البحث في: 6 تموز 2011 ، قبل البحث في: 18 آذار 2012

الخلاصة

تهدف الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص بكتريا الكليبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumoniae* في160 عينة ادرار لمريضات راجعن مستشفى النسائية و الأطفال في مدينة الرمادي للمدة من شهر تشرين الثاني 2007 الى غاية شهر ايار 2008. واختبار مدى حساسيتها لعدد من المضادات الحيوية بغية توضيح الية مقاومتها لتلك المضادات بالاعتماد على طريقة القراءة التفسيرية لتجنب استخدامها علاجاً.

شخّصت 42 عزلة تعود لبكتريا الكليبسيلا الرئوية امتازت بمقاومتها العالية لعدد من المضادات الحيوية ولغرض تحديد آليات هذه المقاومة فحصت حساسية هذه العزلات لطيف واسع من المضادات الحيوية التي إشتملت على مجموعة البيتالاكتام ومنها مجموعة الامانيوكلايكوسايدات بطريقة الانتشار حول الأقراص واستخدمت السلالة ATCC 25922 بكتريا قياسية.

وجد أن 7\42 (16،6 %) من العزلات من النوع البري التقليدي (Classical) و6\42 (14،2%) منتجة لأنزيمات البنسلينيز بمستوى عالٍ وأن 29\42 (69%) من العزلات منتجة لأنزيمات ESBLs و7\ 42 (16،6%) منتج لأنزيمات ESBL-Ceftazidimase و 22\42 (52،3 %) منتجة لأنزيمات ESBL- Broad .أما مضادات الامانيوكلايكوسايدات فكانت آليات المقاومة هي 4\42 (9،5%) من النوع البري التقليدي (Classical) و8\42 (19%) منتجة للأنزيم AAC(3´)-I و11\42(26%) منتجة لأنزيم AAC(3´)-II و 6\42(14%) منتجة لأنزيم APH(3) و5\42 (11،9%) منتجة للأنزيم AAC(6´) في حين كانت نسبة وجود الأنزيم ANT(2´) هي 19% (8\42).

وأظهرت الدراسة أن عزلات *K. pneumoniae* تحمل آليات مقاومة غير اعتيادية وأن وجود مثل هذه النسبة العالية من العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الجديدة في هذا النوع من بكتريا الكلبسيلا يشير إلى الاستعمال غير الحكيم للمضادات الحيوية وضعف السيطرة على العدوى في المستشفى.

الكلمات المفتاحية :المقاومة البكتيرية ، *Klebsiella pneumoniae* ، القراءة التفسيرية.

المقدمة

تعد بكتريا *Klebsiella pneumoniae* السبب الرئيس في حدوث الإصابات باخماج المستشفيات المتكررة Nosocomial infections لاسيما نوع الكلبسيلا الرئوية ذي المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية Multidrug-resisance [1].

تلجأ البكتريا الى مقاومة فعل المضاد الحيوي أما بانتاج انزيمات من أهمها البيتالاكتام المحللة لمجموعتي البنسلينات والسيفالوسبورينات القادرة على تحليل جزيئات المضاد الحيوي أو اجراء تحويرات فيها لتحويلها الى جزيئات خاملة [2] وقد رافق الاستعمال المتزايد لأغلب المضادات الحيوية ومنها مضادات البيتالاكتام ظهور سلالات مطفرة امتازت بمقاومتها العالية لهذه المضادات التي امتدت لتشمل أغلب مشتقاتها الحديثة[3] والقراءة التفسيرية (interpretative reading) تستهدف تحليل أنماط الحساسية للعزلات تجاه مجموعة من المضادات الحيوية وتحديد آليات المقاومة المتوقعة ، كما تساعد على تقدير انتشار آليات المقاومة وتشخيص نتائج الحساسية ، وتعد القراءة التفسيرية طريقة متقدمة عن الطرائق التشخيصية التقليدية والمتداولة في المختبرات ومن الممكن الإفادة منها في حالة عدم توافر الطرائق الوراثية و لكنها لا تحل محلها من حيث الدقة[4].

تشكل مضادات البيتالاكتام المضادات الحيوية المثالية للقراءة التفسيرية ونظراً للمدى الواسع لآليات المقاومة فإن غالبية المختبرات لا تستعمل عدداً كبيراً من المضادات الحيوية في الاختبارات الروتينية ؛ لذا يجب أن تستعمل بعض من مضادات البيتالاكتم ذي القيمة التشخيصية المهمة مثل السفتازديم أو السفوتاكسيم الذي يعد مؤشراً جيداً لمعظم أنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف المشتقة من عائلة TEM أوSHV وان المقاومة للسفتازديم بغياب المقاومة للسفوكستين (لا يمثل المادة الأساس لأنزيمات الـ ESBLs) مؤشر قوي أيضاً لانتاج أنزيمات الـ ESBLs الذي يمكن تأكيدها بوساطة اختبار الأقراص المتآزرة [5] ومن جانب آخر فإن المقاومة للسفوكستين من قبل أفراد العائلة المعوية يعد تشخيصاً تقريبياً لانتاج أنزيمات الـAmpC بيتالاكتايميز[6]. إن استعمال مثبطات البيتالاكتاميز يعد وسيلة مفيدة في تشخيص آليات المقاومة في القراءة التفسيرية ومن المثبطات المستعملة (Tazobactam, sulbactam, clavulanic acid) ، إذ إن الأنزيمات العائدة لصنف A مثل SHV, TEM تتثبط بهذه المثبطات ولكن أنزيمات الـAmpC بيتالاكتايميز لاتثبط بهذه المثبطات [7].

من الممكن تمييز أنزيمات البيتالاكتاميز الكروموسومية(KOXY)K1 المنتجة بمستوى عالٍ من قبل عزلات الـكليبسيلا عن أنزيمات ESBLs لكونها تسبب المقاومة للازتريونام والسفروكسيم ولكن لا تسبب المقاومة للسفتازديم والسفوتاكسم ، وبصورة عامة فإن المقاومة لمضادات البيتالاكتام في غالبية أفراد العائلة المعوية تعود إلى وجود أنزيمات البيتالاكتاميز الكروموسومية أو البلازميدية[8].

كما توجد مجاميع كبيرة ومتنوعة من الأنزيمات المحورة للأمينوكلايكوسيدات تعمل وبشكل فعال على المناطق الحساسة لها في تركيب هذه المضادات وأن أغلب عمليات التحوير الكيميائي تعزى لوجود عائلة الأنزيمات(6') AAC و (3') AAC هناك العديد من آليات المقاومة للأمينوكلايكوسيدات ومن أكثرها انتشاراً الأنزيمات المحورة وأن المظهر الذي تعرضه أنماط المقاومة من الصعب التنبؤ به ما لم تُطَبقْ طرائق معينة مثل القراءة التفسيرية وأن العديد من المختبرات البكتريولوجية تستخدم هذه الطريقة لتعديل استعمال المضادات الحيوية . وأن الاستخدام العملي لهذه الطريقة بالمعنى السريري أصبح مطلوباً لتحديد العلاج الأكفأ للمريض[6]. ومن هنا برزت فكرة الحصول على عدد من العزلات بكتريا *K. pneumoniae* من مستشفيات مدينة الرمادي ودراسة مقاومتها لعدد من المضادات لتفسير آلية هذه المقاومة بطريقة القراءة التفسيرية.

طرائق العمل

جمعت 160 عينة إدرار من المريضات المراجعات لمستشفى النسائية و الأطفال في مدينة الرمادي للمدة من شهر تشرين الثاني 2007 الى غاية شهر آيار 2008 وبمختلف الفئات العمرية بعد معاينتهن من الطبيب المختص.

زرعت العينات مباشرة على أوساط الاكار المغذي و واكار الماكونكي ووسط اكار الدم بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 درجة مئوية مدة 24 ساعة بعدها اختيرت 3-5 من المستعمرات النامية و أجريت لها عملية تنقية على وسط الماكونكي الصلب لدراسة صفاتها الزرعية من حيث حجمها ولونها وارتفاعها وحافاتها وغيرها من الصفات الزرعية الأخرى . شخّصت العزلات بالاعتماد على الفحوصات البكتيريولوجية والكيموحيوية اعتماداً على المصادر العلمية المتبعة لتشخيص البكتريا[9].

استعملت أقراص المضادات الحيوية المبينة في الجدول الملحق (1) وبطريقة الانتشار حول الأقراص (Disk Diffusion) وكما جاء في[10] للتعرف على حساسية هذه العزلات البكتيرية لهذه المضادات الحيوية بشكل منفرد وتحليل انماط الحساسية لهذه المضادات وقد استخدمت طريقة القراءة التفسيرية لتسهيل قراءة نتائج حساسية ومقاومة العزلات قيد الدراسة تجاه مضادات البيتالاكتام وتحديد آليات المقاومة[5].

النتائج و المناقشة

أظهرت نتائج زرع 160 عينة موجبة للبكتريا على شكل مستعمرات واضحة ذي خصائص مختلفة . شخصت منها 42 عزلة (21.25%) تعود لجنس الكلبيسيلا الرئوية من خلال الخصائص الزرعية و الفحوصات الكيموحيوية ، إذ امتازت بمستعمراتها الكبيرة والمخاطية القوام ، مخمرة لسكر اللاكتوز والسالبة لملون كرام . وأظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية إنها سالبة لفحص الاوكسديز وإنتاج H_2S والأندول والمثيل الأحمر واختبار الحركة فيما أعطت نتائج موجبة لاختبارات الكاتليز والفوكس بروسكاور واستهلاك الستريت وإنتاج اليوريز. وقد أكدت نتائج اختبارات أشرطة API 20E هذه النتائج.

أظهرت نتائج اختبار حساسية 42 عزلة لبكتريا الكليبسيلا الرئوية تجاه المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة كما في الجدول رقم (1) وجود مقاومة عالية للعزلات تجاه مضادات البيتالاكتام المستعملة ، إذ إن جميع العزلات 42\42 (100%) كانت مقاومة لمضاد الامبيسيلين (AMP) ، و35\ 42 (83 %) مقاومة لمضاد الاوكمنتين (AUG) ، و42/36(85%) مقاومة لمضاد البيراسلين (PIP) ، و42/35 (83%) مقاومة لمضاد السيفالوثين (CEF) وبذلك فإن نسبة العزلات المقاومة لهذه المضادات عالية وأن المقاومة لهذه المضادات قد يعود إلى إنتاج البكتريا لإنزيمات البيتالاكتاميز TEM-1,TEM-2وSHV-1 [11] . وإن الإنتاج العالي لهذه الأنزيمات قد تسبب في المقاومة للبنسلينات واسعة الطيف وسيفالوسبورينات الجيل الأول [5] أما بالنسبة إلى مضاد السفوكستين (FOX) فقد وجد أن جميع العزلات 42\42 (100%) حساسة تجاهها ، إذ إن هذا المضاد يمتاز بمقاومته للفعل التحللي لأنزيمات الـ TEM وSHV والـ ESBLs ولكن يتحلل بفعل أنزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز ، ولذا فإن العزلات المقاومة للسفوكستين قد تكون منتجة لأنزيمات الـ AmpC بيتالاكتاميز البلازميدية[14]. كما وجد أن 42\30 (71%) من العزلات مقاومة تجاه السفروكسيم (CXM) وأما بالنسبة الى مضادات السفتازديم (CAZ)، السفوتاكسيم (CTX) والسفترايكسون (CRO) فقد وجد 42\30 (71 %) ، 42\29 (69%) و42\28 (67%) من العزلات مقاومة و على التوالي ، وبذلك فإن نسبة كبيرة من العزلات كانت مقاومة تجاه هذه المضادات. أما بالنسبة إلى نتائج الحساسية تجاه والازتريونام(ATM) فقد كانت 42/29 (69%) عزلة مقاومة لذلك فان المقاومة للازتريونام والسيفالوسبورينات الواسعة الطيف في عزلات الكلبسيلا يمكن عدها علامة لقدرة هذه البكتريا على انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف[13]. أما بالنسبة إلى نتائج حساسية العزلات تجاه مضاد السفيبيم(FEP) فقد وجد 42\29 (69%) من عزلات الكليبسيلا كانت مقاومة تجاهه ويعد السفيبيم أكثر فعالية تجاه البكتريا من سيفالوسبورينات الجيل الثالث لكونه يمتاز باختراقه السريع عبر الجدار الخارجي للبكتريا السالبة لملون غرام وكون موقع الهدف لعمله عبارة عن مجموعة من البروتينات المرتبطة بالبنسلين(لإيقافها نمو البكتريا نتيجة الارتباط بالأنزيمات المسؤولة عن إنهاء المرحلة الثالثة والأخيرة في بناء طبقة الببتيدوكلايكان Peptidoglycan وتسمى هذه الأنزيمات بالبنسلينات المرتبطة بالبروتين PBPs) . و يمتلك فعالية متوسطة تجاه أنزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز المنتجة بمستوى عالٍ من قبل العزلات الطافرة أي أنه أقل تأثراً من سيفالوسبورينات الجيل الثالث بهذه الأنزيمات[8،14] وكما أنها أقل تحفيزاً من سيفالوسبورينات الجيل الثالث لانتاج أنزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز [14] وعلى الرغم من عدم استعمال المضاد علاجاً في العراق إلا أن المقاومة كانت عالية تجاهها في العزلات قيد الدراسة وقد يعود ذلك إلى وجود مقاومة مشتركة مع مضادات البيتالاكتام الأخرى لاسيما السيفالوسبورينات ، إذ اقترح [15] إلى أن استعمال واحدة من السيفالوسبورينات قد تقلل من حساسية البكتريا تجاه المضادات الحيوية الأخرى ولا يشترط أن تكون من التركيب الكيميائي نفسه وكما أشار[16] إلى وجود المقاومة المشتركة بين المضادات الحيوية المتشابهة في آلية فعاليتها ، مثل البنسلينات والسيفالوسبورينات وان لم تتشابه في تركيبها الكيميائي، إن المقاومة العالية للسفيبيم في عزلات الكلبسيلا قيد الدراسة قد يعود لامتلاكها أنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف التي تسبب نقصانا في حساسية البكتريا لمضاد السفيبيم [17].

إن مضاد الأميبنم (IPM) كان ذا فعالية عالية تجاه بكتريا الكليبسيلا وبنسبة حساسية (100%) ، إذ إن مضادات الكاربابينم (الأميبنم و الميروبينم) و التيموسيلين تكون مستقرة تجاه أنزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز [8].

وبصورة عامة نجد أن البكتريا موضوع الدراسة أظهرت مقاومة عالية تجاه مضادات البيتالاكتام المستعملة وهذا قد يعود إلى كون العزلات معزولة من مرضى يمثلون عاملا خطراً للإصابة أو الاستيطان ببكتريا منتجة لآليات مقاومة متعددة بصورة عامة وقد يعود ذلك إلى وجود أنزيمات الـAmpC بيتالاكتاميز.

من خلال نتائج اختبار الحساسية باستعمال الأمينوكلايكوسيدات وحساب النسب المئوية للمقاومة كما في الجدول(2) وجد أن نسبة المقاومة للجنتامايسين (GEN) 42\27 (64%) وكانت نسبة المقاومة للنتلمايسين (NET) ، والتوبرامايسين (TOB) ، والأميكاسين (AMK) ، والكاناميسين (KAN) ، والنيومايسين (NEO) هي 42\16 (38%)، 42\16 (38%)، 42\5 (11،9%)، 42\30 (71،4%) و42\22 (53,3%) على التوالي. أظهرت المسوحات الوبائية أن المجتمعات الثانوية للبكتريا ذي المقاومة المؤقتة شائعة الوجود في موقع الاستيطان البكتيري والالتهابات في المرضى الذين يتلقون العلاج بالأمينوكلايكوسيدات، وأنه لا يمكن الكشف عن هذه المجتمعات مبدئياً في مختبرات البكتريا السريرية لكونها تعود إلى عزلات تمتاز بحساسيتها للأمينوكلاكوسيدات وأن المجتمعات الثانوية المقاومة لها علاقة وثيقة في فشل العلاج لاسيما في الحالات التي تستوجب إطالة مدة العلاج بالأمينوكلايكوسيدات [18]. وأن التعريض المستمر للأمينوكلاكوسيدات يؤدي إلى مقاومة متكيفةAdaptive resistance وأن هذه المقاومة لا تحدث نتيجة للطفرات بل نتيجة لانتقاء مجتمعات ثانوية ويترتب عليها مقاومة تصالبية Cross-resistance للأمينوكلاكوسيدات الأخرى وهذه هي الصفة المهمة للمقاومة المتكيفة على العكس من الطفرات الرايبوسومية Ribosomal Mutation والتحويرات الأنزيمية التي

ينتج منها مقاومة لامينوكلايكوسيدات محددة[19] ، وبالاعتماد على طريقة القراءة التفسيرية لاستنتاج آليات المقاومة بالاعتماد على مظاهر المقاومة للمضادات الحيوية وكما موضح في النتائج في الجدول (1) وجد42\7 (48,7%) من العزلات منتجة لمستوى واطئ من أنزيمات البيتالاكتاميز (classical-low SHV) ، إذ كانت مقاومة تجاه الأمبسيلين ولكنها متوسطة الحساسية تجاه مضاد الأوكومتين مما يدل على تثبيط الـ clavulanic acid لأنزيمات البيتلاكتاميز العائدة لصنف A . وكما ان42\6 (14,2%) كانت منتجة لمستوى عالٍ من أنزيمات البيتالاكتاميز البنسلينيز (penicillinase-high level) وتعد هذه الآلية من آليات المقاومة غير الاعتيادية وتعد العزلات في هذه الحالة مقاومة لجميع البنسلينات. وقد وجد أن 42\6 (16,6%) من العزلات قد تكون منتجة لأنزيمات الـESBL ceftazidimase التي تعد من آليات المقاومة غير الاعتيادية والتي يجب أن تسجل العزلة المنتجة لها مقاومة لبقية السيفالوسبورينات[20] ، فقد أشار [21] إلى حالة وفاة لمريض مصاب بتجرثم الدم المتسبب عن الـ *E.coli* التي أظهرت مقاومة عالية تجاه السفتازديم وحساسة تجاه السفوتاكسيم وعند إعطاء السفوتاكسيم علاجاً سببت فشل العلاج والوفاة ، وتعد أنزيمات الـ ESBL-ceftazidimase من الأنزيمات الشائعة من بين أنزيمات الـESBLs في عزلات الكليبسيلا الرئوية [22]. كذلك وجد 42\22 (52,3%) من العزلات كانت منتجة لأنزيمات الـ ESBL-broad ، إذ أعطت مقاومة عالية ومتشابه تجاه السيفالوسبورينات المستعملة وقد يعود ذلك إلى ان هذا العزلات منتجة لمستوى عالٍ من أنزيمات الـ TEM-1، TEM-2 و SHV-1 أو بسبب وجود أنزيمات الـ IR ، أو قد يعود إلى حاجز النفاذية [17].

إن العزلات البكتيرية المنتجة لأنزيمات الـ ESBLs عادةً تُسجل مقاومة لكل البنسلينات والسيفالوسبورينات والازتريونام باستثناء الأمبنيم الذي يعد من المضادات الفعالة [20] كذلك السفوكستين [4] ، ولكن لا ينصح باستعمال السفوكستين لأنه يؤدي إلى انتقاء السلالات الطافرة المقاومة للسيفوكستين عن طريق النقصان في القنوات البروتينية للغشاء الخارجي [5 ، 22] ، لذلك فمن الضروري لمختبرات علم البكتريا السريرية أن تكون قادرة على تشخيص الأجناس البكتيرية والأشكال الجديدة من المقاومة وتحديد الأنزيمات المنتجة لأن الفشل في الكشف عن هذه الأنزيمات قد يؤدي الاستعمال غير الرشيد لمضادات حيوية غير ملائمة وظهور حالات فشل العلاج أحياناً قد تؤدي إلى الوفاة [23] وانتشار ممرضات سالبة لملون غرام مع آليات مقاومة من الصعب السيطرة عليها.

تشير أنماط المقاومة للأمينوكلاكوسيدات في العصيات السالبة لصبغة كرام إلى إنتاج الأنزيمات المحورة للأمينوكلاكوسيدات، ومن خلال نتائج الجدول (2) وجد أن 42\4 (9,5%) ذو نمط مقاومة تعزى إلى أنزيم Classical الذي يسبب أحياناً المقاومة للفورتيمايسين وجد كذلك أن نسبة نمط المقاومة التي تعود إلى أنزيم AAC(3´)-I هي 42\8 (19%) وهو ذو طيف مقاومة ضيق يتضمن الجنتامايسين والفورتيمايسين وشخص هذا الأنزيم بنسبة (30%) في العزلات السالبة لصبغة كرام [24] أما نسب أنماط المقاومة الأخرى فتعود إلى إنتاج أنزيمات مسؤولة عن نقل الأسيتيل في الأمينوكلايكوسيدات ، وفي هذه الدراسة فان 42\11 (26%) تعزى إلى أنزيم AAC(3´)II الذي يسبب المقاومة للجنتامايسين بصورة أكبر من مقاومتها للتوبرامايسين والنتلميسين، وكذلك وجد أن نسبة المقاومة في 42\5 (11,9%) تعزى إلى أنزيم AAC(6´)-I الذي يسبب المقاومة للأميكيسين والتوبرامايسين والنتلميسين والكنامايسين.

أما نمط المقاومة بأنزيم ANT(2´) فقد كان بنسبة 42\8 (19%) أشار [25] إلى أن هذا الأنزيم واسع الانتشار في البكتريا لكن تكراره يختلف من بلد الى آخر ويمنح هذا الأنزيم المقاومة للجنتامايسين والتوبرامايسين. وكذا بالنسبة الى انزيم APH(3) وجد في 42\6 (14%) من العزلات الذي يسبب عادة المقاومة الكانامايسين اكبر من تلك الملاحظة لمضاد نيوميسين.

إن كثرة استعمال الجنتامايسين في مستشفى الرمادي العام يمارس ضغطا انتخابيا تجاه الأنزيمات المقاومة للجنتامايسين للأمينوكلاكوسيدات الأخرى التي تتحطم بهذه الأنزيمات . وتشير الدراسات الحديثة إلى أن المقاومة للأمينوكلاكوسيدات الواسعة الطيف المستعملة سريرياً ، مثل الجنتامايسين ، والتوبرامايسين ، والأميكيسين ، والنتلميسين تكون شائعة في المستشفيات التي تمتاز بكثرة استعمالها لهذه المضادات ففي بلغاريا وفرنسا واليونان التي تمتاز بكثرة استعمال الأميكيسين تكون نسبة تكرار المقاومة الناشئة عن الأنزيم AAC(6´)-I عالية مقارنة ببلدان أوربا الأخرى مثل ألمانيا التي تصل نسبة استعمالها للجنتامايسين إلى (80%) لذلك فان المقاومة بصورة رئيسة تعزى إلى الأنزيمين ANT(2´´)-I وAAC(6´)-I اللذين يسببان المقاومة للجنتامايسين [26].

المصادر

1. Podschun, R and Ullmann, U.(1998). *Klebsiella* spp. as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and Pathogenicity Factors . Clinical Microbiology Reviews (CMR) ; 11(4): 589-603

2. Fiett, J; Andrzej P; Beata, M; Stankiewicz, M; Przondo-Mordarska, H; Hryniewicz, W and Gniadkowski M.(2000). A Novel Complex Mutant β- Lactamase, TEM-68, Identified in a *Klebsiella pneumoniae* Isolate from an Outbreak of Extended-Spectrum β- Lactamase-Producing *Klebsiellae* .J. Antimicrob. Agents and Chemother.44 (6):1499-1505.

3. Poyart, C; Mugnier, P; Quesne, G; Berche, P and Trieu-Cuot P.(1998). A novel extended-spectrum TEM-type β-lactamase (TEM-52) associated with decreased susceptibility to moxalactam in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 42:108-113.
4. Livermore, DM; Winstanley, TG and Shannon, KP. (2001). Interpretative reading : Recognizing the unusual & inferring resistance mechanism from resistance phenotypes. J of antimicrobial agent & chemother.48 : 87-102 .
5. Livermore, D.M.(1995). β-lactamase in laboratory & clinical resistance . clin. Microbial Rev. 8: 557-584.
6. Livermore, DM and Yuan M .(1996). Antibiotic resistance and production of extended spectrum β- lactamase amongst *Klebsiella* spp from intensive care units in Europe. J Antimicrob Chemother..38:409-24.
7. Livermore, DM. (1998). Determination of the activity of β- lactamase inhibitor combination .J. of antimicrobial agent & chemother . 31 : 9-12 .
8. Livermore, DM and Yuan M.(1996). Antibiotic resistance and production of extended spectrum β-lactamases amongst *Klebsiella* spp from intensive care units in Europe. J Antimicrob Chemother.38:409-24.
9. Koneman, EW; Allen, SD; Junda, WM; Schreckenberger, PC and Winn WC.(1997).Color atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia.
10. Vandepitte, J; Engbaek, K; Poit, P and Heuck CC.(1991). Basic laboratory producers in clinical Bacteriology World Health Organization Geneva.
11. Chaibi, EB; Sedigheh, F; Peduzzi, J and Labia, R.(1996). An additional ionic bond suggested by molecular modeling of TEM-2 might indyce a slight discrepancy between catalytic properties of TEM-1 and TEM –2 …-Lactamases .FEMS. Microbiol. Lett. 143;121-125.
12. Thomson, K. S. ,Moland, E. s. ,and Sanders,C. C.(1999).Use of microdilution panels with and without β- lactamase inhibitors as aphenotypic test for β- lactamase production among *E. coli , Klebsiella* spp,*Enterobacter* spp, *Citrobacter freundii,*and *Serratia marcescens*. . J antimicrobial agent & chemother; 43:1393-1400.
13. Moland, ES; Sanders, CC and Thomson KS.(1998). Can results obtained with commercially available microscan panels serve as an indicator of beta-lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with hidden resistance to extended-spectrum cephalosporins and aztreoman? J Clin Microbiol . 36:2575-2579.
14. Jones,R N; Biedebach, D T and Gales, A C.(2003).Sustained activity and spectrum of selected extended-spectrum β- lactamase (carbapenem and cefepime) against *Enterobacter* spp.and ESBL- producing *Kiebsiella* spp.:report from the centry antimicrobial surveillance program (USA, 1997-2000). J. antimicrobial agent . 21 (1):1-7.
15. Dancer SJ.(2001).The problem with cephalosporins. J. antimicrobial agent & chemother. 48:463-478 .
16. Chan, W C;Li, R. C,Ling, J M; Cheng,A. F and Schentag J J.(1999). Markedly different rates and resistance profiles exhibited by seven commonly used and newer β- lactamase on the selection of resistant variants of *Enterobacter cloacae* .J. Antimicrob. and Chemother. 43:55-60.
17. Fiett, J; Andrzej, P; Beata, M; Stankiewicz, M; Przondo-Mordarska, H; Hryniewicz, W and Gniadkowski M.(2000). A novel complex mutant …-Lactamase, TEM-68, identified in a *Klebsiella pneumoniae* Isolate from an outbreak of extended-spectrum β-Lactamase-Producing *Klebsiellae* .J. Antimicrob. agents and Chemother. 44 (6):1499-1505.
18. Price, KE; Kresel, PA; Farchione, LA; Siskin, SB and Karpow SA.(2003). Epidemiology studies of aminoglycoside resistance in USA J. antimicrosb. agent & chemother. 8:89-105 .

19. Daikos, GL; Lolans, VL and Jackson GG.(1991). First exposure adaptive resistance to aminoglycoside antibiotic in vivo with meaning for optimal clinical use . J antimicrob. agent & chemother. .35:117-123.
20. Siu, L. K.;Lu, P. L.;Hsueh, P. R.;Lin, F.M.; Chang, S. C.; Luk, K. T.; Ho, M., and Lee, C. Y. .(1999). Bacteremia due to extended- spectrum β- lactamase - producing *Kiebsiella pneumoniae* in apediatric oncology ward:Clinical features and Identification of different plasmides carrying both SHV-5 and TEM-1 genes. J. Clin. Microbiol.37(12):4020-4027.
21. Schiappa, DA; Hayden, MK and Matushek MG, *et al*.(1996). Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: A case-control and molecular epidemiologic investigation. J Infect Dis . 174:529-36.
22. Martinez-Martinez, L; Hernandez-Alles, S; Alberti, S; Tomas, JM; Benedi, V. J. and Jacoby, G.A.(1996).In vivo selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded-spectrum cephalosporins. Antimicrob. agents & Chemother,. 40: 342–348
23. Brun-Buisson, C; Legrand, P; Philippon, A et al.(1997).Transferable enzymatic resistance to third-generation cephalosporins during a nosocomial outbreak of multiresistant *Klebsiella pneumoniae*. Lancet. ii. : 302-306.
24. Miller, GH; Sabatelli, FJ; Hare, RS; Glupczynski, Y; Makey, P; Shlaes, D; Shimizn, K; Shaw, KJ. (1997).The most frequent aminoglycoside resistance mechanisms changes with time & geographic area: A reflection of aminoglycoside usage patterns ? aminoglycoside resistance study group . Clin. Infect. Dis . 24(1):46-62 . [Medline]
25. Carattoli, A; Tonsini, F; Giles, WP; Rupp, MF; Hiniichs, SH and Angulo, FJ. (2002). Characterization of plasmids carrying CMY-2 from extended spectrum cephalosporin resistant *Salmonella* strains isolated in United States between 1995-1998 . J. antimicrob. agent & chemother.46:1269-1272 .
26. Over, V; Gur, D; Unal, S and Miller GH.(2007). The changing nature of aminoglycoside resistance mechanisms & prevalence of newly recognized resistance mechanism in Turkey . Clin. Microbiol . Infect; 7:470-478.

جدول (1): حساسية وآليات المقاومة لعزلات *K. pneumoniae* تجاه مضادات البيتالاكتام المستعملة في الدراسة.

Isolate	قطر منطقة التثبيط (ملم)												Inferred ß-lactamase Type	%
	AMP	AUG	PIP	CEF	*FOX*	CXM	*CAZ*	CTX	CRO	FEP	ATM	IPM		
K. pneumoniae	8	25	23	22	25	20	22	24	28	24	32	30	Classical low SHV-1	*16,6*
K. pneumoniae	5	22	25	26	27	22	22	22	26	29	26	35		
K. pneumoniae	7	23	7	26	27	22	23	29	30	30	29	30		
K. pneumoniae	8	26	30	27	26	23	25	29	33	30	27	34		
K. pneumoniae	6	21	27	25	22	22	21	28	32	29	29	36		
K. pneumoniae	8	25	27	29	29	23	23	28	31	28	30	32		
K. pneumoniae	6	22	22	21	25	25	22	29	27	27	30	32		
K. pneumoniae	4	6	14	6	22	25	22	28	29	25	28	30	Penicillinase-high level	14،2
K. pneumoniae	5	5	13	12	25	20	25	28	28	24	27	31		
K. pneumoniae	6	6	9	8	26	23	24	26	28	24	24	30		
K. pneumoniae	6	8	5	8	29	24	21	25	28	22	26	32		
K. pneumoniae	5	7	5	7	24	23	20	22	25	25	26	30		
K. pneumoniae	5	8	9	7	23	22	25	25	29	23	23	28		
K. pneumoniae	8	6	11	6	22	18	8	18	19	20	6	29	ESBL-Ceftazidimase	16,6
K. pneumoniae	7	5	7	6	21	11	8	14	17	16	7	30		
K. pneumoniae	8	6	9	8	24	14	9	13	22	21	7	31		
K. pneumoniae	8	4	10	7	26	11	8	12	13	16	7	32		
K. pneumoniae	5	7	6	7	25	16	8	13	18	20	5	33		
K. pneumoniae	6	6	7	7	21	17	7	14	12	14	6	33		
K. pneumoniae	5	6	8	6	20	15	7	17	18	12	6	29		
K. pneumoniae	5	8	8	6	29	5	8	8	6	8	6	30	ESBL-Broad	52,3
K. pneumoniae	8	5	6	7	27	7	8	6	8	7	7	31		

K. pneumoniae	7	7	5	7	29	8	7	8	8	7	7	32		
K. pneumoniae	7	8	6	7	30	6	7	5	7	11	7	33		
K. pneumoniae	6	6	4	5	30	8	6	5	7	11	6	27		
K. pneumoniae	8	8	7	6	28	6	6	5	6	7	6	29		
K. pneumoniae	7	6	6	6	27	8	8	5	6	7	6	30		
K. pneumoniae	8	8	6	5	24	5	7	8	8	7	6	30		
K. pneumoniae	8	5	8	5	26	5	7	8	7	6	7	28		
K. pneumoniae	8	5	6	6	26	5	7	7	7	6	6	30		
K. pneumoniae	8	5	5	7	23	5	8	7	7	8	6	31		
K. pneumoniae	6	5	6	7	21	6	8	6	8	7	7	32		
K. pneumoniae	7	6	4	7	29	7	7	6	8	7	7	31		
K. pneumoniae	5	7	7	5	30	7	7	8	8	7	7	32		
K. pneumoniae	5	7	6	6	31	7	6	7	6	8	5	33		
K. pneumoniae	9	7	6	6	32	5	6	7	8	8	5	33		
K. pneumoniae	6	5	8	4	33	5	8	7	5	8	7	29		
K. pneumoniae	6	6	6	8	27	7	7	8	5	7	8	30		
K. pneumoniae	6	6	5	6	29	8	7	8	5	7	6	31		
K. pneumoniae	8	6	6	7	30	6	7	7	5	7	8	32		
K. pneumoniae	8	7	4	7	30	8	8	7	6	6	6	31		
K. pneumoniae	6	6	7	7	28	6	8	6	7	6	7	32		
	42	**35**	**36**	**35**	**0**	**31**	**30**	**29**	**29**	**29**	**29**	**O**	**عدد العزلات المقاومة**	
	100	**83.3**	**85.7**	**83.3**	**0**	**73.8**	**71.4**	**69**	**69**	**69**	**69**	**0**	**%المقاومة**	

AMP: Ampicillin , AUG: Augmentin (Amoxicillin\ clavulanic), PIP: Pipracillin , CEF : Cephalothin, FOX : Cefoxitin, CXM: Cefuroxim,CAZ: Ceftazidime , CTX: Cefotaxime, CRO: Ceftriaxon, FEP: Cefepime , ATM: Aztreonam , IMP : Imipenem

تفسير آليات المقاومة بالاعتماد على الطريقة التفسيرية (Livermore , 1998; Livermore *et al.*, 2001)

جدول (2) : حساسية وآليات المقاومة لعزلات *K. pneumoniae* تجاه مضادات الامينوكلايكوسايدات المستعملة في الدراسة.

isolates	قطر منطقة التثبيط (ملم)						Interpretation	%
	GEN	NET	TOB	AMK	KAN	NEO		
K. pneumoniae	18	22	28	30	20	21	Classical	% 9،5
K. pneumoniae	17	25	25	31	22	21		
K. pneumoniae	20	22	24	25	19	22		
K. pneumoniae	17	23	24	25	18	22		
K. pneumoniae	14	22	22	29	26	29	AAC(3′) I	%19
K. pneumoniae	12	25	22	29	27	27		
K. pneumoniae	11	25	29	30	23	28		
K. pneumoniae	14	20	30	22	19	25		
K. pneumoniae	11	25	29	23	23	28		
K. pneumoniae	11	25	29	23	23	28		
K. pneumoniae	11	20	30	22	19	25		
K. pneumoniae	14	22	25	26	23	25		
K. pneumoniae	13	6	11	24	22	25	AAC(3′) I I	% 26
K. pneumoniae	11	6	7	22	22	22		
K. pneumoniae	6	5	9	25	20	21		
K. pneumoniae	6	5	10	22	19	25		
K. pneumoniae	9	6	6	21	19	26		
K. pneumoniae	9	6	7	17	22	22		
K. pneumoniae	11	6	8	20	25	21		
K. pneumoniae	12	6	8	25	27	22		
K. pneumoniae	5	6	6	23	26	21		
K. pneumoniae	11	7	5	25	28	26		
K.	6	7	12	22	24	24		

pneumoniae								
K. pneumoniae	**19**	**25**	**21**	**20**	**6**	**6**	**AAC(6)**	**% 14**
K. pneumoniae	**22**	**27**	**22**	**22**	**6**	**6**		
K. pneumoniae	**22**	**28**	**26**	**22**	**7**	**6**		
K. pneumoniae	**23**	**24**	**24**	**25**	**7**	**11**		
K. pneumoniae	**6**	**18**	**22**	**17**	**6**	**18**	**ANT(2′)**	**% 11،9**
K. pneumoniae	**7**	**20**	**19**	**21**	**8**	**18**		
K. pneumoniae	**9**	**23**	**18**	**24**	**7**	**20**		
K. pneumoniae	**11**	**28**	**22**	**20**	**8**	**18**		
K. pneumoniae	**8**	**22**	**25**	**21**	**8**	**22**		
K. pneumoniae	**7**	**23**	**27**	**22**	**6**	**23**		
K. pneumoniae	**8**	**20**	**26**	**21**	**12**	**20**		
K. pneumoniae	**8**	**22**	**28**	**26**	**14**	**22**		
K. pneumoniae	**8**	**23**	**24**	**24**	**26**	**25**		
K. pneumoniae	**20**	**22**	**25**	**19**	**6**	**6**	**APH(3′)**	**% 19**
K. pneumoniae	**22**	**22**	**22**	**19**	**6**	**6**		
K. pneumoniae	**19**	**20**	**21**	**25**	**5**	**6**		
K. pneumoniae	**22**	**19**	**25**	**20**	**5**	**6**		
K. pneumoniae	**20**	**19**	**26**	**22**	**6**	**6**		
K. pneumoniae	**19**	**22**	**22**	**23**	**6**	**6**		
	30	**11**	**16**	**0**	**19**	**13**	**عدد العزلات المقاومة**	
	71,4	**26,1**	**38**	**0**	**45,2**	30,9	**% للمقاومة**	

GEN:Gentamicin , NET : Netilmicin , TOB : Tobramycin , AMK : Amikacin , KAN : Kanamycin , NEO: Neomgcin .

تم تفسير آليات المقاومة بالاعتماد على الطريقة التفسيرية (Livermore , 1998; Livermore *et al.*, 2001)

ملحق (1) :أقراص المضادات الحيوية المستعملة في الدراسة ومناشئها و رموزها والمواصفات القياسية للعائلة المعوية

المضاد الحيوي	الشركة المجهزة ومنشأها	الرمز	التركيز (مايكروغرام/ قرص)	قطر التثبيط (ملم)	
				حساسة (S)	مقاومة(R)
Ampicillin	Bioanalyse ®	AMP	10	≥19	<14
Augmentin (Amoxicillin\ clavulanic)	Liofichem (Italy)	AUG	20\10	≥21	<14
Piperacillin	Bioanalyse ®	PIP	75	≥20	<14
Cephalothin	Bioanalyse ®	CEF	30	≥18	<12
Cefoxitin	Bioanalyse ®	FOX	30	≥18	<14
Cefuroxim	Bioanalyse ®	CXM	30	≥22	<15
Ceftazidime	Bioanalyse ®	CAZ	30	≥21	<15
Cefotaxime	Bioanalyse ®	CTX	30	≥21	<15
Ceftriaxon	Bioanalyse ®	CRO	30	≥21	<15
Cefepime	Bioanalyse ®	FEP	30	≥21	<15
Aztreonam	Bioanalyse ®	ATM	30	≥23	<17
Imipenem	Bioanalyse ®	IMP	10	≥22	<17
Gentamicin	Bioanalyse ®	GEN	15	≥18	<14
Netilmicin	Bioanalyse ®	NET	30	≥19	<17
Tobramycin	Bioanalyse ®	TOB	10	≥22	<14
Amikacin	Bioanalyse ® (Turky)	AMK	30	≥17	<15
Kanamycin	Bioanalyse ®	KAN	25	≥16	<10
Neomycin	Bioanalyse ®	NEO	30	≥19	<17

ملحق (2): قائمة المختصرات

الرمز	اسم المختصر
AmpC	Ambler class C .
ATCC	American Type Culture Collection .
ESBLs	Extended Spectrum Beta-Lactamases.
MIC	Minimal Inhibitory Concentration
PBPs	Penicillin Binding Protiens .
SHV-1,5	Sullphadryl Variable- 1,5.
TEM 1,2 - 42	Temoniera 1,2 - 42 .

Using Of Interpretative Reading To Explain Resistance Mechanisms Of *Klebsiella pneumoniae* Isolated From U. T. I. Patients

Jamal Ab-R. Ibrahim
Ali A. Sharad
Dept. of Biology / College of Education for Pure Science / University of Al-Anbar

Received in : 6 July 2011 , Accepted in: 8 March 2012

Abstract

The aim of this study was the isolation and characterization of *Klebsiella pneumonia* from 160 urine samples of patients hospitalized in children hospital in AL-Ramadi Proveng during October 2006 to May 2008. Also determination of the susceptibility of *K. pneumoniae* against a number of antibiotics to explain resistance mechanism for these antibiotics by using interpretative reading to avoid using it in treatment.

Forty two isolates were detected as *K. pneumoniae* with resistance to a number of antibiotics . These isolates were tested to determine their sensitivities to a wide number of antibiotics which included β-lactum group and aminoglicosides using disk diffusion method and the strain *E. coli* ATCC 25922, using as standard strain.

The interpretative reading of the sensitivity data to β-lactamas inferred the following: Classical type of *K. pneumoniae* 7\42 (16,6%), penicillinase-high level producing 6\42(14.2), 29\42(68.9%)ESBLs enzyme producing isolates. Then 7\42(16.6) producing ESBLs-Ceftazidimase enzyme and 22\42 (52.3%)) producing ESBLs- Broad enzyme. As for aminoglicosides the interpretative reading inferred the following : Classical type of *K. pneumoniae* 4\42 (9.5%) and 8\42 (19%) producing enzymes AAC(3´)-I,11\42(26%) producing enzymes AAC(3´)-I I,6\42(14%) APH(3) enzymes and 5\42 (11,9%) AAC(6´)-II enzyme further, the enzymes ANT(3) were 8\42 (19%).

The results of the present study indicated that *K. pneumoniae* strains had unusual resistance protocols and this high percentage of strains that produce β-lactamas enzymes in *K. pneumoniae* referred to wide unusual uses of antibiotics and poor control on infection in hospital.

Keyword : Bacterid Resistance , *Klebsiella pneumonia* ,intwrpretative reading