التحري عن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في تلوث المستشفيات

امنه نعمه ثويني ، بشرى جاسم محمد* ، مها أحمد نايف***

تاريخ قبول النشر 2006/9/6

الخلاصة

تضمنت الدراسة الحالية عزل وتشخيص بكتريا *P.aeruginosa* من حالات تلوث المستشفيات وللفترة من 2003/6/1 إلى2004/9/30 شخصت عزلات البكتريا أعتماداً على صفاتها ألمجهريه والمز رعيه والكيموحيويه , بلغ عدد عزلات بكتريا *P.aeruginosa* (37) عينه من مجموع(70) عينه من حالات تلوث الجروح والحروق كما تم تشخيص (25) عزله للبكتريا من أصل (200) مسحه جمعت من صالات العمليات الجراحية وردهات المستشفيات ومن أماكن مختلفة كالارضيه والجدران والاسرة ومصادر الإضاءة والأدوات الجراحية واختبرت حساسية البكتريا لبعض أنواع مضادات الحيويه واظهرت جميع العزلات حساسيه مطلقه للمضادات سبروفلوكساسين ، سفترياكزون ، تبرومايسين ،والجنتامايسين , بينما كانت جميع العزلات مقاومه للمضادات الاموكسلين ، تتراسايكلين ، نتروفيورانيتون ، كلندامايسين ،سيفوتوكسيم والمثبريم .

ألمقدمة :

يعد التلوث الجرثومي واحداً من اكبر المشاكل الصحية في المستشفيات لما يسببه من العدوى(infection) للمرضى الراقدين في المستشفى وقد ازدادت في الاونه الأخيرة الإصابات الناجمة عن التلوث الجرثومي للجروح والحروق.وعلى الرغم من استخدام التقنيات الحديثة لإجراء العمليات الجراحية في المستشفيات إلا انه مازال هناك حالات تلوث خطيرة تنجم عن أصابه جرثوميه عرضيه أثناء فترة الرقود ويطلق على هذا النوع من الإصابات بعدوى المستشفيات Hospital cross infection, يشير مصطلح عدوى المستشفيات إلى الإصابة التي تنشأ بعد دخول المريض إلى المستشفى و لم تكن موجودة من قبل والتي تظهر بعد 48–72 ساعة كما إن قسم من الإصابات قد تظهر بعد مغادرة المريض المستشفى (1) ، وتعد بيئة المستشفى و الأدوات والأجهزة الطبية الملوثة بأنواع بكتيرية مختلفة من الوسائل المهمة في ظهور سلالات تمتلك مقاومة متعددة لمضادات الحيوية ومن ثم انتقالها بصورة مباشرة أو غير مباشرة للمرضى الراقدين مما يؤدي إلى حدوث الإصابة (2)وربما يكون للظروف الصحية السيئة للراقدين في المستشفيات وسوء التثقيف الصحي للعاملين في هذا المجال من ممرضين أو أشخاص مسؤولين عن تنظيف الردهات دوراً في ذلك مما يعزز من انتشار الملوثات وصعوبة الحد منها (3).إن الكائنات المهجرية المسببة لعدوى المستشفيات قد تكون بكتريا أو رواشح أو فطريات وربما طفيليات إلا إن الأكثر شيوعاً هي المسببات البكتيرية ,وان أهم المسببات الشائعة التي تحدث إصابات بين المرضى داخل المستشفيات بعض أنواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام *Gram positive* cocci هي *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus faecalis* والعصيات ألسالبه لصبغة كرام *Gram negative cocci* وتشمل *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و *Salmonella spp.* و *Shigella spp.* و *Citrobacter spp.* و *Klebsiella spp.* و *Serratia* و *Enterobacter spp.* و *Providencia spp.* و Proteus و *Acinetobacter spp.* (1,4). وقد أثبتت البحوث والدراسات أن *Pseudomonas aeruginosa* من أكثر العزلات شيوعاً في أصبات المستشفى وبضمنها إصابات الحروق ويتميز هذا النوع من البكتيريا بامتلاكه مقاومه طبيعية للعديد من المضادات الحيوية و المطهرات وفي دراسة أجراها (4) وجد إن نسبة انتشار *P.aeruginosa* في الحروق كان 48٪و في الجروح بعد العمليات 24٪ والمجاري البوليه 6 ٪ وأن ألنسبه الأكثر للوفيات من الحروق والجروح تحدث نتيجة تعفن الدم (septiceamia) بسب وجود هذا النوع البكتيري المهم وقد ذكر (5) أن أنواع البكتريا الأقل تكراراً تمثلت في كل من Serratia , Providecia, Acinetobacter,

تهدف الدراسة الحالية إلى عزل وتشخيص بكتريا p. aeruginosa من الحروق والجروح من ردهات المستشفيات وصالات العمليات والولادة و الخدج لمعرفة نسبة الإصابة ودراسة حساسيتها لعدد من مضادات الحيوية المستخدمة في العلاج.

المواد وطرائق العمل :

جمع النماذج:

تم جمع 70عينه من المرضى الراقدين والمراجعين والمصابين بالتهابات الجروح والحروق وكذلك تم جمع 200 مسحه من ردهات المستشفيات وصالات العمليات الجراحية والولادة والخدج للفترة من 2003/6/1 إلى 2004/09/3 للتقصي عن حالات التلوث المختلفة ، تم أخذ المسحات من الأماكن المختلفة وحسب ما مبين بالجدول رقم (1) .

*معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية/ جامعة بغداد
**مستشفى الكاظمية التعليمي/ وزارة الصحة

جدول (1) المسحات المأخوذة من صالات وردهات المستشفى

الردهة	نوع المسحة
صالة العمليات	قناع تخدير جهاز سحب سوائل كبار ، سرير عمليات ، صونده قناع ، ميزان طفل ، إنعاش طفل عمليات
صالة الولادة	جهاز سحب سوائل ، سرير غرفة ولادة ، سرير إنعاش طفل ولادة
الخدج	جهاز إنعاش طفل خدج ، حاضنة جهاز سحب سوائل
طوارئ نسائية	سرير كرتاج، أرضيه وجدران ، قطن ، أدوات جراحيه
طوارئ أطفال	قناع أطفال طوارئ ، سرير غرفة عمليات سرير عزل طفل طوارئ

العزل والتشخيص :

تم أجراء الخطوات الآتية بالاعتماد على (Cruick Shank,*et al.*,1975) و (Jawetz ,*et al* .,1987)

الفحص ألمجهري :

تم عمل مسحات من النماذج التي جمعت وتم فحصها مجهرياً بعد صبغها بصبغة كرام.

-زرع النماذج :

زرعت العينات والمسحات على الأوساط الزراعية Mac Conky agar ,Blood agar ، Muller Hinton agar و Nutrient agar وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ و42 مْ .

-الفحوصات الكيموحيوية:

تم أجراء الفحوصات التالية:

1 ـ فحص إنتاج أنزيم اليوريز.
2 ـ فحص إنتاج أنزيم الكاتاليز.
3 ـ فحص أنتاج الاندول.
4 ـ فحص أنتاج أنزيم الاوكسيديز.
5 ـ فحص أنتاج أنزيم الجيلاتينيز.
6 ـ فحص استهلاك السترات.
7 ـ فحص أنتاج H2S.
8 ـفحص الحركة.
9 ـ فحص استهلاك السكروز.

فحص Api 20:

تم أجراء فحص Api 20 لتشخيص البكتريا وهو عبارة عن نظام بايوكيميائي لتشخيص العصيات ألسالبه لصبة كرام والذي يعتمد على 20 فحص.أختبار حساسية البكتريا لمضادات الحيوية:تم استخدام (11) نوع من مضادات الحيوية مجهزة من شركة (الرازي) العراقية لغرض اختبار حساسية البكتريا *P.aeruginosa* ويوضح الجدول (2) نوع المضادات وتركيزها:ـ

المضاد الحيوي	الرمز العالمي	التركيز بالمايكرو غرام	أقطار مناطق التثبيط القياسية		
			مقاومه	متوسطه	حساسة
Ciproflo xacin	CF	30	15 or less	16-20	21or more
Teracycli n	TE	30	14 or less	15-18	19or more
Nitrofura ntoin	F	300	14 or less	15-16	17or more
Amoxicil lin	AX	25	15 or less	16-20	20or more
Gentami cin	GN	10	12 or less	13-14	20or more
Clindam ycin	CD	2	14 or less	15-20	21or more
Tobromy cin	TM	10	14 or less	15-18	19 or more
Amekaci n	AM	30	13 or less	14-18	19 or more
Cefotoxa m	CE	30	14 or less	15-17	18 or more
Ceftraiax om	CRO	30	13 or less	14-20	21 or more
Methopri m	CO	25	9 or less	10-13	14 or more

جدول (2)نوع المضادات الحيوية المستخدمة بالدراسة وتركيزها

النتائج والمناقشة :

تم تشخيص *P.aeruginosa* من الفحص المجهري بعد صبغها بصبغة كرام والذي اظهر أنها عصويه سالبه كرام ومن ثم اعتماداً على الصفات الزرعيه والكيموحيويه (جدول 3) إذ زرعت النماذج على أوساط زراعيه مختلفة منها الاغنائيه والتفريقية وأخرى انتخابيه وتم تأكيد التشخيص بإجراء فحص Api 20 واظهرت نتائج دراستنا أن هناك نسبه عاليه من التلوث ببكتريا *P.aeruginosa* عند المرضى الراقدين والمراجعين للمستشفيات المشمولة بالدراسة إذ كانت النتائج ألموجبه لعزل هذه البكتريا هي37 عينه موجبه من مجموع 70 عينه أخذت من حالات تلوث الجروح والحروق وبنسبة 52.8 % وتعد هذه ألنسبه عاليه جداً وهي مؤشر خطير للتلوث بهذه البكتريا وقد أجريت دراسات أخرى في القطر وكانت فيها نسب العزل عاليه أيضا فقد سجل (8) نسبة تلوث وصلت إلى 49% من مسحات للمرضى الراقدين في احدى المستشفيات حينما ارتفعت نسبة العزل الى 50.81% في دراسة (9) وعلى مستوى الوطن العربي هناك دراسات كثيرة تناولت التلوث ببكتريا *P.aeruginosa* مثل الدراسة التي اجراها(10)في ليبيا إذ كانت نسبة التلوث 41.78% أما على مستوى العالم فقد أشارت دراسة الباحث (11) الى وجود نسبه عاليه من التلوث .

ويأتي خمج الجروح والحروق ببكتريا *P.aeruginosa* بالدرجة الأولى في حالات التلوث بالمستشفيات وقد يعود السبب إلى أن هذه البكتريا من الممرضات الانتهازية الملوثة إذ أنها تنتهز فرصة حدوث اختلال عام أو موضعي في احد دفاعات الجسم المتخصصة أو غير المتخصصة أو كليهما معاً كي تخترقها وتغزو هذه المناطق (7).

ويشير ظهور التلوث في جروح العمليات الجراحية والحروق بهذه البكتريا إلى قلة النظافة ألعامه للمريض وملابسه والكادر الطبي العامل في المستشفيات وتلوث أجواء المستشفيات والأدوات والأسرة بهذه البكتريا (12) وقد تعزى النسبة العالية من التلوث بهذه البكتريا وغيرها إلى سببين هما اعتماد الأطباء المعالجين على أنواع معينه من مضادات الحيوية دون سواها والإكثار من الأخذ العشوائي لمضادات الحيوية وبدون استشارة طبيب مما يسبب ظهور سلالات بكترية مقاومه لهذه المضادات. كذلك تم تشخيص (25) عزله من هذه البكتريا من أصل (200) مسحه من صالات العمليات الجراحية وردهات المستشفيات وصالات الولادة والخدج بنسبة12.5% وهذا يدل على أن *P.aeruginosa* من الجراثيم الانتهازية فضلاً عن كونها مقاومه للعديد من المعقمات والمطهرات التي تستخدم في التعقيم والتنظيف داخل المستشفيات (13) حيث تعد بيئة المستشفى من العوامل المؤهبه للاصابه بهذه البكتريا كما إن المرضى الراقدين لهم دور كبير في تلوثها إذ أن بكتريا *P.aeruginosa* تتواجد على فراش المرضى الذين يعانون من التهاب الجروح والحروق ومن الممكن تلوث أيدي العاملين بها ,كما أنها من الممكن أن تنتقل عن طريق الهواء إلى باقي ردهات المستشفى وقد تكتسب البكتريا من مصادرها الطبيعية وهي المياه والمطهرات

والمحلات الدافئة والأجسام الملوثة (الأجسام الخازنة) مثل الأدوات الجراحية الملوثة (14) وعند إجراء مقارنه للبكتريا المسببة لتلوث الجروح والحروق أظهرت النتائج إن بكتريا *P.aeruginosa* تواجدت بنسبة 52.85% تلتها بكتريا E.coli وبنسبة 24.28% بينما تواجدت بكتريا Proteus أسفل ألقائمه (جدول4) أما بالنسبة لملوثات ردهات المستشفيات فقد تواجدت بكتريا E.coli بنسبة 45% وتلتها بكتريا *Salmonella spp* وبنسبة 20% في حين وجدت بكتريا *P.aeruginosa* بنسبة 12.5% (جدول5).

جدول رقم (3)نتائج الاختبارات الكيموحيويه المميزة لبكتريا *P.aeruginosa*

الاختبار	النتيجة
إنتاج البايوسيانين	-/+
النمو بدرجة (24) مْ	+
فحص الحركة	+
فحص الاوكسيديز	+
فحص الكاتاليز	+
فحص انتاج انزيم الهيمولايسين B-hemolycin	-/+
فحص الاندول (I)	-
فحص المثيل الأحمر (MR)	+
فحص فوكس بروسكور vp	-
فحص استهلاك السترات(C)	+
فحص استهلاك السكريات الثلاثة وإنتاج H2S على وسط كلكلر	-
تخمر سكر اللاكتوز	-

+النتيجة موجبه
-النتيجة سالبه
-/+ النتيجة موجبه ضعيفة

جدول رقم (4)عدد عزلات البكتريا المسببة لتلوث الجروح والحروق ونسبتها المئوية

ت	العزلات البكتيرية	العدد	النسبة %
1	Pseudomonas aeruginosa	37	52.85
2	Esherichia coli	17	24.28
3	Staphylococcus spp	10	14.28
4	Salmonella spp	4	5.71
5	Klebsiella spp	1	1.42
6	Proteus	1	1.42
	المجموع	70	100

جدول رقم (5)عدد عزلات البكتريا المسببة لتلوث ردهات المستشفيات ونسبتها المئوية

ت	العزلات البكتيرية	العدد	النسبة %
1	Esherichia coli	90	45
2	Salmonella spp	40	20
3	Pseudomonas aeruginosa	25	12.5
4	Staphylococcus spp	20	10
5	Streptococcus spp	15	7.5
6	Klebsiella spp	7	3.5
7	Proteus	2	1
8	Serratia	1	0.5
	المجموع	200	100

ومن المعروف إن بكتريا *P.aeruginosa* مقاومه لأغلب أنواع المعقمات التقليدية لذا وجودها بهذه النسبة أو بأقل منها يثير القلق ويعد مؤشر خطر لتلوث بيئة المستشفى وما يترتب عليه من تلوث الحروق والجروح لان بيئة المستشفى تعد المصدر الرئيسي لتلوث مثل هكذا إصابات. يجري فحص الحساسية من اجل معرفة العلاج المناسب للاصابه توخياً للحصول على النتيجة المرجوة من استخدامه والتي من شأنها التقليل من شدة الاصابه بالمرض قدر الإمكان وتوفير الأموال التي تذهب عبثاً في شراء العلاجات الموصوفة بشكل عشوائي وأخيرا لتجنب حدوث المقاومة لدى البكتريا وفي دراسة حول حساسية بكتريا *P.aeruginosa* لمضادات الحيوية والمعزولة من الجروح والحروق أبدت العزلات المشخصة مقاومه عاليه لمضادات الاموكسلين ، والتتراسايكلين ، نتروفيورانيتون ، كلندامايسين ، سيفوتوكسيم ، والمثبريم وقد يعود سبب مقاومة *P.aeruginosa* لهذه المضادات إلى استخدامها الواسع والعشوائي مما يتسبب في ظهور سلالات مقاومه (15) بينما أبدت العزلات المشخصة حساسية عاليه للسبروفلوكساسين حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 30 مليمتر بينما كان فعالية السفترياكزون اقل فقد بلغ قطر منطقة التثبيط 24 مليمتر والتبرومايسين 20 مليمتر بينما كانت فعالية الجنتاماسين اقل فقد بلغ قطر منطقة التثبيط 17 مليمتر ويرجع سبب حساسية البكتريا بهذه المضادات كونها حديثه أو قليله الاستخدام وهذا لم يعطي وقت كافي لبكتريا لتكوين مقاومه ضد هذه المضادات (16) .

واعتماداً على النتائج التي حصلنا عليها في هذه الدراسة يستوجب أن نسترعي انتباه الكادر الفني والإداري في المستشفيات إلى ضرورة عدم دمج مرضى الحروق والجروح في طابق واحد لان ذلك يساعد على زيادة نسبة التلوث لحالات الحروق والتي تؤدي لخطورة أكثر على حياة المريض مما هو الحال في تلوث الجروح كذلك تعقيم وتطهير المواد غير الحية في المستشفى باستعمال معقمات غير تقليديه لتلافي انتقال البكتريا من هذه المصادر إلى المرضى الراقدين بصورة مباشرة أو غير مباشرة

المصادر

1-Chakraborty,P(1996)."Urinary tract infection.In:"Text book of Microbiology "1ed.New Central book,Agency,Calcutta , India.P:577-581.

2-Stuelens,M.J.(1998).Tracking the epidemiology of antimicrobial drug resistance in hospitals:Time to deploy molecular typing.J.Med.Microbial.45: 1035-1036.

3-Sabri,S.(1982).Infection control activities in Kuwait.In:"Hospital infection and its control",1st published,(Sabri,S.; Tittensor,J.R)BarkerpublicationLtd.UK

4-Puri,J.;Revathi,G.;Kundra,P.and Talwar,V.(1996).Activity of third generation cephalosporins against pseudomonas aeruginosa in high Risk hospital units(abs.)Indian J.Med .Sei.,50(70:239-243).

5-Rastegar,L.A.;Bahrami,H.H.and Alaghehbandan,R(1998).Pseudomonas inf-

ology patients.Ostomy Wound Manage .44(3):40-46.
12-Pollack,M.(1995).P.aeruginosa in principles and practice of infection diseases by Mandell.G.L.:Bennett.J. E. Churchill Livingston New York.
13-Cruse,P.T.and Foord,R.(1980) A five year prospective study of(23.649) surgical wounds.Arsh.curg.107:206-210.
14-Moore,R.A;Bates,N.c.and Hancock,R.E .W(1986).Interaction of polycationic antibiotic with Pseudomonas aeruginosa lipopolysaccharid and libed astudied by using dansyl. polynyxin Antimicrobial agents chemother.,29(3):496-500
15-Boyd,R.Fand Horel,B.G.(1986).Basic Medical Microbiology 3rdedition.Brown and Company ,Tornoto.
16-Jacoby,G.A.and Sutton ,L.(1991).properties of plasmids responsible production of extend spectrum B-lactams Antimicrobial agents for chemother.35:146-169
17-Archer,G.L.(1996).Staphylococcal infection in:"ceil text book of medicine"20 thed.vol.2.(Bennett.J.C.&Plum,F.)W B .Siunders CO.,Philadelphia P:1605-1608
ection in tohid burn center,burns.24 (7):637-641.
6-Jawetz,E.Melnick,J.L.and Adelbergy, E.A.(1987).Review of Medical Micro-Biology17thed.;Appleton and Lange, Cali fornia.
7-Cruick Shank,R.;Dugend,J.P.;B.P.; Ma rmion ,B.P. and Swain ,R.H.(1975). Medical Microbiology Vol;22.Churchill Living Stone.
4-حنا ، صفاء توما . (1990) دراسة على الجراثيم الهوائية الملوثة لردهات إحدى المستشفيات ومقاومتها لمضادات الحيوية والمطهرات رسالة ماجستير / كلية العلوم ـ جامعة بغداد .
5- ألكعبي ، أزهار جاسم محسن . (2001) مدى انتشار إصابات *Pseudomonas aeruginosa* في قسم ألجراحه التابع لمستشفى التعليمي في النجف . رسالة ماجستير ، كلية التربية للبنات / جامعة الكوفة .
10-Husain,M.T.;Karim,Q.N.and Tajuri, S.(1989).Analysis of infection in burnw ard .Burns , 15:299-302.
11-Closky,A.;Kirsner,R.and Kerdel,F. (1998).Microbiology evaluation of cutaneous wound in hospital dermat-

Detection of *Pseudomonas aeruginosa* in Hospital Contamination

Amina.N.Thwani* , Bushra. J. Mohammed*, Maha Ahmad**

*Genetic Engineering And Biotechnology Institute,
**Al-Khadimya Hospital

Abstract:

The Present investigation includes the isolation and identification of *Pseudomonas aeruginosa* for different cases of hospital contamination from 1/ 6/2003 to 30/9/2004, the identification of bacteria depended on morphological , cultural and biochemical characters, 37 of isolates were diagnosed from 70 smears from wounds and burns beside 25 isolates were identified from 200 smears taken from operation theater and hospital wards including the floors , walls , sources of light and operation equipment the sensitivity of all isolates to antibiotic were done , which exhibited complete sensitivity to Ciprofloxacin , Ceftraixon, Tobromycin and Gentamysin ,while they were complete resist to Amoxcillin , Tetracyclin , Nitrofurantion , Clindamycin Cefotoxam and Methoprim.