

التحري عن بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في تلوث المستشفيات

امنہ نعمہ 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 والفترة من 2003/6/1 إلى 2004/9/30 شخصت عزلات البكتريا اعتماداً على صفاتها المجهرية 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) مسحة جمعت من صالات العمليات الجراحية ودهات المستشفيات ومن أماكن مختلفة كالارضيه والجدران والاسرة ومصادر الإضاءة والأدوات الجراحية واختبرت حساسية البكتريا لبعض أنواع مضادات الحيويه وظهرت جميع العزلات حساسيه مطلقه للمضادات سبروفلوكساسين ، سفترياكزون ، تيرومايسين ، والجنتاميسين . بينما كانت جميع العزلات مقاومه للمضادات الاموكسلين ، تتراسايكلين ، نتروفيوارنيتون ، كلنداميسين ، سيفوتوكسيم والمثيريم .

المقدمة :

يعد التلوث الجرثومي واحداً من أكبر المشاكل الصحية في المستشفيات لما يسببه من العدوى (infection) للمرضى الراقدين في المستشفى وقد ازدادت في الآونة الأخيرة الإصابات الناجمة عن التلوث الجرثومي للجروح والحروق وعلى الرغم من استخدام التقنيات الحديثة لإجراء العمليات الجراحية في المستشفيات إلا أنه 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 ولم 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 والأدوات والأجهزة الطبية الملوثة بأنواع بكتيرية مختلفة من الوسائل المهمة في ظهور سلالات تمتلك مقاومة متعددة لمضادات الحيويه 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 التنظيف الصحي للعاملين في هذا المجال من مرضين أو أشخاص مسؤولين عن تنظيف الردهات دوراً في ذلك مما يعزز من انتشار الملوثة وصعوبة الحد منها (3) إن الكائنات المهجرية المسببة لعدوى المستشفيات قد تكون بكتريا أو روائح أو فطريات وربما طفيليات إلا إن الأكثر شيوعاً هي المسببات البكتيرية ، وإن أهم المسببات الشائعة التي تحدث إصابات بين المرضى داخل المستشفيات بعض أنواع البكتريا الموجبة لصبغة كرام

Salmonella spp. و *Escherichia coli* و *Citrobacter spp.* و *Shigella 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 البكتريا بامتلاكه مقاومه طبيعياً للعديد من المضادات الحيويه و المطهرات وفي دراسة أجراها (4) وجد إن نسبة انتشار *P. aeruginosa* في الحروق كان 48% وفي الجروح بعد العمليات 24% والمجاري البولية 6% وأن النسبة الأكثر للوفيات من الحروق والجروح تحدث نتيجة تعفن الدم (septicemia) بسبب وجود هذا النوع البكتيري المهم وقد ذكر (5) أن أنواع البكتريا الأقل تكراراً تمثلت في كل من *Serratia* , *Acinetobacter* , *Providencia* , 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 الحيويه المستخدمة في العلاج.

المواد وطرائق العمل :

جمع النماذج:

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

Gram positive cocci هي *Staphylococcus aureus* و *Streptococcus faecalis* و لصبغة كرام *Gram negative cocci* وتشمل *Pseudomonas aeruginosa* و

*معيد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية، جامعة بغداد
**مستشفى الكاظمية التعليمي، وزارة الصحة

النتائج والمناقشة :

تم تشخيص *P.aeruginosa* من الفحص المجهرى بعد صبغها بصبغة كرام والذي اظهر انها عسوية سالبة كرام ومن ثم اعتمادا على الصفات الزرعية والكيموحيوية (جدول 3) إذ زرعت النماذج على أوساط زرعية مختلفة منها الاغاثية والتفريقية وأخرى انتخايبية وتم تأكيد التشخيص بإجراء فحص Api 20 وظهرت نتائج دراستنا ان هناك نسبة عالية من التلوث ببكتريا *P.aeruginosa* عند المرضى الراقدين والمراجعين للمستشفيات المشمولة بالدراسة إذ كانت النتائج الموجهة لعزل هذه البكتريا هي 37 عينه موجهه من مجموع 70 عينه أخذت من حالات تلوث الجروح والحروق وبنسبة 52.8 % وتعد هذه النسبة عالية جدا وهي مؤشر خطير للتلوث بهذه البكتريا وقد أجريت دراسات أخرى في القطر وكانت فيها نسب العزل عالية أيضا فقد سجل (8) نسبة تلوث وصلت إلى 49% من مسحات للمرضى الراقدين في إحدى المستشفيات حينما ارتفعت نسبة العزل إلى 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 نسبة عالية 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 معا كي تخترقها وتغزو هذه المناطق (7).

ويشير ظهور التلوث في جروح العمليات الجراحية والحروق بهذه البكتريا إلى قلة النظافة العامة 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 معينة من مضادات الحيوية دون سواها والإكثار من الأخذ العشوائي لمضادات الحيوية وبدون استشارة طبيب مما يسبب ظهور سلالات بكترية مقاومة لهذه المضادات. كذلك تم تشخيص (25) عزله من هذه البكتريا من أصل (200) مسحة من صالات العمليات الجراحية وردهات المستشفيات وصلات الولادة والخدج بنسبة 12.5% وهذا يدل على أن *P.aeruginosa* من الجراثيم الانتهازية فضلا عن كونها مقاومة للعديد من المعقمات والمطهرات التي تستخدم في التعقيم والتنظيف داخل المستشفيات (13) حيث تعد بيئة المستشفى من العوامل المؤهبة للإصابة 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

جدول (1) المسحات المأخوذة من صالات وردهات المستشفى

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

العزل والتشخيص :

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

الفحص المجهرى :

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

زُرْع النماذج :

زرعت العينات والمسحات على الأوساط الزراعية Muller ، Blood agar ,Mac Conky agar Hinton agar و Nutrient agar وحضنت بدرجة حرارة 37 م° و 42 م° .

-الفحوصات الكيموحيوية:-

تم إجراء الفحوصات التالية:

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

فحص 20 Api:

تم إجراء فحص 20 Api لتشخيص البكتريا وهو عبارة عن نظام بايوكيميائي لتشخيص العصيات السالبة لصبغة كرام والذي يعتمد على 20 فحص اختبار 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:-

المضاد الحيوي	التركيز	أعمار مطلق الضغط العاصية		نوع	المضاد الحيوي
		متوسط	عظمى		
Ciprofloxacilin	30	15-20	15 or less	CF	
Tetracycline	30	15-18	14 or less	TE	
Nitrofurantoin	300	15-16	14 or less	F	
Amoxicillin	25	16-20	15 or less	AX	
Gentamicin	10	13-14	12 or less	GN	
Clindamycin	2	15-20	14 or less	CD	
Tolomycin	10	15-18	14 or less	TM	
Amelacin	30	14-18	13 or less	AM	
Cefotaxim	30	15-17	14 or less	CE	
Ceftazoxime	30	14-20	13 or less	CRO	
Methoprim	25	10-13	9 or less	CO	

جدول (2) نوع المضادات الحيوية المستخدمة بالدراسة وتركيزها

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 وأخيراً 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 ، نتروفورانيبتون ، كلنداماسين ، 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 للسرولفوكساسين حيث بلغ قطر منطقة التثبيط 30 ملليمتر بينما كان فعالية السفترياكزون اقل فقد بلغ قطر منطقة التثبيط 24 ملليمتر والتبرومايسين 20 ملليمتر بينما كانت فعالية الجنتاماسين اقل فقد بلغ قطر منطقة التثبيط 17 ملليمتر ويرجع سبب حساسية البكتريا بهذه المضادات كونها حديثه أو قليله الاستخدام وهذا لم يعطي وقت كافي لبكتريا لتكوين مقاومه ضد هذه المضادات (16).

واعتمادا 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 طباق واحد لأن 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 "Ied.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).

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* بنسبة 24.28% بينما تواجدت بكتريا *Proteus* أسفل القائمة (جدول4) أما بالنسبة لموئات ردهات المستشفيات فقد تواجدت بكتريا *E.coli* بنسبة 45% وتلتها بكتريا *Salmonella spp* بنسبة 20% في حين وجدت بكتريا *P.aeruginosa* بنسبة 12.5% (جدول5).

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

الاختبار	النتيجة
إنتاج البايوسيتين	+/-
النمو بدرجة (24) م	+
فحص الحركة	+
فحص الأوكسيديز	+
فحص الكاتاليز	+
فحص إنتاج الزيم الهيوليسين B-hemolysin	+/-
فحص الأندول (I)	-
فحص المشيل الأحمر (MR)	+
فحص فوكس بروسكور vp	-
فحص استهلاك المترات (C)	+
فحص استهلاك السكرات الثلاثة وإنتاج H2S على وسط كلنكر	-
تخمر سكر اللاكتوز	-

+النتيجة موجبه

-النتيجة سالبيه

+/-النتيجة موجبه ضعيفة

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

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

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

ت	العزلات البكتيرية	العدد	النسبة %
1	<i>Esherichia coli</i>	90	45
2	<i>Salmonella spp</i>	40	20
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	12.5
4	<i>Staphylococcus spp</i>	20	10
5	<i>Streptococcus spp</i>	15	7.5
6	<i>Klebsiella spp</i>	7	3.5
7	<i>Proteus</i>	2	1
8	<i>Serratia</i>	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 لأن بيئة المستشفى تعد المصدر الرئيسي لتلوث مثل هكذا إصابات. يجري فحص الحساسية من

- 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 Livingstone New York.
- 13-Cruse, P. T. and Foord, R. (1980) A five year prospective study of (23,649) surgical wounds. *Arch. Surg.* 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. F. and Horel, B. G. (1986). *Basic Medical Microbiology* 3rd edition. Brown and Company, Toronto.
- 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" 20th ed. vol. 2. (Bennett, J. C. & Plum, F.) W B Siunders CO., Philadelphia P:1605-1608
- 5-Rastegar, L. A.; Bahrami, H. H. and Alaghehbandan, R. (1998). *Pseudomonas* infection in tohid burn center, burns. 24 (7):637-641.
- 6-Jawetz, E. Melnick, J. L. and Adelberg, E. A. (1987). *Review of Medical Microbiology* 17th ed.; Appleton and Lange, California.
- 7-Cruick Shank, R.; Dugend, J. P.; B. P.; Marmion, B. P. and Swain, R. H. (1975). *Medical Microbiology* Vol; 22. Churchill Living Stone.
- 4-حننا ، صفاء توما . (1990) دراسة على الجراثيم الهوائية الملوثة لرداهات إحدى المستشفيات ومقاومتها لمضادات الحيوية والمطهرات رسالة ماجستير / كلية العلوم - جامعة بغداد .
- 5- الكعبي ، أزهار جاسم محسن . (2001) مدى انتشار إصابات *Pseudomonas aeruginosa* في قسم الجراحه 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 burn ward. *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.