عزل وتشخيص بعض أنواع البكتريا المسببة لحالات تسمم الدم مع دراسة حساسيتها لبعض المضادات الحيوية المختلفة[+]

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF SOME BACTERIA CAUSING SEPTICEMIA WITH THEIR SENSITIVITY TO ANTIBIOTICS

رنا مجاهد[*] ندى عربي[**]

المستخلص :

جمعت ٢٩٦ عينة دم لمرضى يعانون من علامات سريرية لحالة تسمم الدم وجمعت عينات للمدة من ٢٠٠٢/٩/١ لغاية ٢٠٠٣/٢/٣٠(34.79%) من عينات حاوية على نمو بكتيري لمختلف أنواع الأحياء المجهرية إذ كانت البكتريا السالبة لصبغة كرام أعلى نسبة حدوث حالة تسمم الدم إذانت بكتريا *Enterobacter sp.* (٢٠،٣٨ %) تليها بكتريا *seudomonas aeruginosa* (١١،٦٥ %) ثم جاءت بكتريا *E. coli* (٨،٧٣ %) بعدها جاءت *Klebseillia sp.* (٤،٨٥ %) ثم بكتريا *Actinobacter*(٣،٨٨ %)وكانت بكتريا *Proteus sp.* اقل نسبة في حدوث حالة تسمم الدم والتي شكلت نسبة (١،٩٤ %) أما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فكانت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* أعلى نسبة في حدوث حالة تسمم الدم إذ شكلت(٤١،٧٤ %) تليها بكتريا *Staphylococcus aureus* فكانت (٦،٧٩ %) تضمنت الدراسة فحص الحساسية لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية لهذه الأنواع المختلفة من البكتريا المسببة لحالات تسمم الدم وكانت هذه المضادات هي الامبسلين , الاموكسسلين , الكلوكساسلين , بنسلين ج و سفتازديم و السيفوتاكسيم و الترامثبرين و التتراسايكلين والارثرومايسين و الكوتريموكزازول والجنتاميسين والريفامبسين ونورفلكسين و الفانكومايسين والسبروفلوكساسين و الاميكاسين و البتوبرومايسين .

Abstract:

A total of 296 blood samples were collected from patients showing with clinical signs of septicemia . The study period was from 1-9 –2002 to 30 –2 – 2003 . Bacterial agents were isolated from (34.79%) culture Gram negative bacteria were isolated with the highest percentage. *Enterobacter sp.* was maximally isolated among the pathogenic bacteria (20.38 %) followed by *Pseudomonas aeruginosa* (11.65 %),*E. coli* (8.73 %) then *Klebsiellia sp.*(4.85 %) , *Actinobacter* (3.88 %) , low percentage of *Proteus sp.* (1.94 %) was obtained in this study . Gram postive bacteria is *Staphylococcus epidermidis* (41.74 %) and *Staphylococcus aureus* (6.79 %) only . The proportion of sensitivity of the most common microorganisms to different antibiotics were

[+] تاريخ استلام البحث : ٢٠٠٥/٥/٣٠ ، تاريخ قبول النشر : ٢٠٠٦/٧/٢٤

[*] مدرس مساعد /كلية التربية (ابن الهيثم)/قسم علوم الحياة

[**] مدرس مساعد /كلية التقنيات الطبية والصحية قسم/التحليلات المرضية

presented . These antibiotics include : Ampicillin , Amoxycillin , Cloxacillin , Pencillin G , Ceftazidime , Cefotaxime , Trimetheprin , Rifampicin , Titracycillin , Erythromycin , Co – trimoxozol , Norflexacin , Vancomycin , Gentamicin , Tobramycin , Ciprofloxacin and Amikacin .

المقدمة:-

تعد حالة تسمم الدم من الحالات المرضية التي عند زيادة نسبة انتشارها تسبب الموت الجماعي للأطفال خاصة الأطفال الرضع في الأشهر الأولى من حياتهم . إن المضادات التي تستخدم في العلاج أصبحت غير نافعة بسبب تطور مقاومة البكتريا لهذه المضادات المستخدمة وان من أهم مسببات المرض بكتريا السالبة لصبغة كرام ومنها بكتريا *Klebseillia sp.* التي تصيب الأطفال إضافة الى العاملين في المجال الصحي ولا سيما في المستشفيات و المختبرات . وجد في دراسة في الهند إن الأطفال الأكثر عرضة للإصابة بتسمم الدم وخاصة الأطفال حديثي الولادة لان اكثر هذه الولادات كانت خارج المستشفى وكان دخول هولاء الأطفال الى المستشفى بعد إصابتهم بحالة تسمم الدم لان اكثر هذه الولادات كانت في بيئة ملوثة مما سهل إصابة الأطفال بحالة تسمم الدم ويمكن علاج حالة تسمم الدم عند التشخيص المبكر ومعرفة نوع المسبب الرئيس للمرض واعطاء المضادات الحيوية المناسبة [1] .

هنالك العديد من أنواع البكتريا التي تسبب حالة تسمم الدم واهمها تلك التي تعود الى العائلة المعوية ومنها Enterobacter sp. Klebseillia وE coli pneumoniae،اضافةالىالبكتريا Pseudomonas aeruginosa والبكتريا الموجبة لصبغة كرام والتي تتضمن Staphylococciومنها Staphylococcus aureus و Streptococcus .viridans و إضافة إلى بكتريا Pneumococci و H. influenzae وبعض أنواع الفطريات مثل Candida sp وأنواع من الخمائر [2] .

المواد و طرائق العمل:

جمعت العينات من مستشفى الكاظمية التعليمي وتمت دراسة ٢٩٦ عينة دم من مختلف الأعمار(أطفال وبالغين) لغرض معرفة حالات تسمم الدم بأنواع بكتريا مختلفة وجمعت هذه العينات للمدة من٢٠٠٢/٩/١ ولغاية٢٠٠٣/٢/٣٠ . زرعت عينات الدم في وسط نقيع القلب والدماغ Brain – Heart Infusion كزرع أولي ولمدة (٥-٧ أيام) وبعدها تم زرع العينات على أوساط اغنائية و تفريقية لغرض عزل المسببات البكتيرية إذ استعمل وسط الدم Blood agar ووسط الماكونكي MacConkey agar ووسط الجيكليت Chocolate agar ووسط المانتول الملحي Mannitol salt agar وحضنت الاطباق بدرجة ٣٧ م لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة ثم أجريت الفحوصات المجهرية و البايوكيميائية لتشخيص العزلات البكتيرية التي ظهرت من الزرع المختبري كما ورد في [3]. ثم اجري فحص الحساسية لهذه العزلات للمضادات الحيوية والتي تضمنت كل من : Ampicillin (10µg), Amoxycillin (10µg), Cloxacillin (10µg), Pencillin G (10u), Ceftazidime (30µg), Cefotaxime (30µg) ,Trimetheprin (30µg) , Rifampicin (5µg) , Titracycillin (30µg) , Erythromycin (15µg) , Co – trimoxozol (10µg) , Vancomycin(30µg) , Gentamicin(10µg) , Tobramycin (25µg), Norflexacin

(10µg) , Ciprofloxacin (5µg) and Amikacin (30 µg) .وقيس قطر منطقة التثبيط بالملم وحسب ما ورد من قياسات عالمية [4] .

النتائج :-

أظهرت النتائج أن (34.79%) من عينات دم كان فيها نمو بكتيري أما بقية العينات لم تظهر أي نوع من النمو البكتيري . كانت أعلى نسبة لأنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام المسببة لحالة تسمم الدم كانت بكتريا Enterobacter فقد شكلت (21) عينة بنسبة (20.38%) وبعدها جاءت بكتريا Pseudomonas aeruginosa كانت (12) عزلة بنسبة (11.65 %) بعدها جاءت بكتريا E.coli إذ كانت (9) عزلات بنسبة (8.73 %)تليها بكتريا Klebsiella sp إذ كانت (5) عزلات % (4.85بعدها كانت بكتريا (4) .Aclinobacter sp عزلات (3.88 %)ثم بكتريا .Proteus sp عزلتين فقط (1.94 %) . أما بكتريا الموجبة لصبغة كرام فكانت أعلى نسبة من هذه البكتريا تعود الى جنس Staphylococcus epiderimidis إذ كانت (43) عزلة نسبة (41.74 %) ثم بكتريا Staphylococcus aureus إذ كانت (7) عزلات بنسبة (6.79 %) ويمثل جدول [1] عدد العزلات و النسب المئوية لحالات تسمم الدم .

أما عن حساسية العزلات للمضادات الحيوية إذ اظهرت البكتريا الموجبة لصبغة كرام مقاومة عالية لمضادات البيتالاكتام والتي تضمنتها الدراسة وهي مضاد الامبسلين و الاموكسسلين والكلوكساسلين والبنسلين ج و سفتازديم و السيفوتاكسيم إضافة الى مقاومتها لمضاد الترايمثبرين و التتراسايكلين و الارثرومايسين و الكوتريموكزازول و الجنتاميسين في حين كانت البكتريا الموجبة لصبغة كرام حساسة لبعض المضادات مثل الريفامبسين وتورفلكسين و الفانكومايسين و البروفلوكساساسين و الاميكاسين . أما البكتريا السالبة لصبغة كرام فقد اظهرت مقاومة عالية لمعظم أنواع المضادات المستخدمة وخاصة مضادات البيتالاكتام و اظهرت جميع هذه الأنواع السالبة لصبغة كرام حساسية عالية لمضاد التوبرومايسين و الاميكاسين ، ونسبة مقاومة قليلة لمضاد السبروفلوكساسين و الجنتاميسين ونورفلكسين . ويوضح الجدول [3] العدد والنسب المئوية لمقاومة البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام للمضادات الحيوية المختلفة .

جدول (١) : يمثل عدد العزلات مع النسبة المئوية للإصابة بتسمم الدم بمختلف أنواع البكتريا

اسم البكتريا	عدد العزلات	النسبة المئوية %
البكتريا السالبة لصبغة كرام		
Enterobacter sp.	21	20.38
Pseudomonas aeruginosa	12	11.65
E. coli	9	8.73
Klebseillia sp.	5	4.85

3.88	4	**Actinobacter sp.**
1.94	2	**Proteus sp.**
		البكتريا الموجبة لصبغة كرام
41.74	43	**Staphylococcus epidermidis**
6.79	7	**Staphylococcus aureus**
100	103	**المجموع الكلي**

جدول (٢): يمثل عدد العزلات والنسب المئوية لمقاومة (8) أنواع من البكتريا للمضادات الحيوية المختلفة .

اسم البكتريا / المضاد	عدد العزلات البكتيريا (النسبة المئوية للمقاومة %)							
	S. epidermidis	***S. aureus***	***E. coli***	***Pseudomonas aeruginosa***	***Enterobacter sp.***	***Klebseillia sp.***	***Proteus sp.***	***Actinobacter sp.***
Ampicillin	**40 (93)**	**5 (71.42)**	**9 (100)**	**12 (100)**	**21 (100)**	**5 (100)**	**2(100)**	**4 (100)**
Amoxycillin	**41(95)**	**7(100)**	**9(100)**	**11(91.6)**	**20(95.23)**	**4(80)**	**2(100)**	**4(100)**
Cloxacillin	**39(90.69)**	**3(42.85)**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Pencillin G	**43(100)**	**5(71.42)**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Ceftazidime	**25(58.13)**	**3(42.85)**	**9(100)**	**7(58.33)**	**13(61.90)**	**3(60)**	**2(100)**	**3(75)**
Cefotaxime	**20(46.51)**	**3(42.85)**	**6(66.77)**	**7(58.33)**	**6(28.57)**	**3(60)**	**0**	**0**
Trimetheprin	**21(48.8)**	**3(42.85)**	**7(77.77)**	**8(66.66)**	**6(28.57)**	**2(40)**	**1(50)**	**4(100)**
Rifampicin	**10(23.25)**	**2(28.57)**	**3(33.33)**	**4(33.33)**	**10(47.6)**	**0**	**1(50)**	**1(25)**
Titracycillin	**29(67.44)**	**6(85.7)**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Erythromycin	**20(46.51)**	**5(71.42)**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Co-trimoxazol	**31(72.09)**	**7(100)**	**9(100)**	**12(100)**	**10(47.6)**	**3(60)**	**2(100)**	**3(75)**
Norflexacin	**0**	**0**	**0**	**4(33.33)**	**2(9.5)**	**1(20)**	**0**	**0**
Vancomycin	**0**	**0**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**	**-**
Gentamicin	**15(34.88)**	**3(42.85)**	**1(11.11)**	**6(50)**	**10(47.6)**	**1(20)**	**1(50)**	**2(50)**
Tobramycin	**-**	**-**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**
Ciprofloxacin	**3(6.97)**	**2(28.57)**	**3(33.33)**	**1(8.33)**	**3(14.28)**	**0**	**0**	**0**
Amikacin	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**

المناقشة

أن اقل نسبة بكتريا مسببة لتسمم الدم هي *Proteus sp* إذ كانت نسبتها (1.94%) فقط وجاءت هذه النتيجة متفقة مع Mahapatra *et al* [1] الذي وجد إن أعلى نسبة بكتريا تسمم الدم كانت

Enterobacter sp. إذ كانت نسبتها (39.5 %) وكانت اكثر العزلات في إحداث المرض بقية الأنواع من البكتريا المسببة لتسمم الدم متقاربة مع النتائج التي توصلنا إليها وباختلاف بسيط جدا .

وكانت بكتريا *Proteus sp.* اقل نسبة في إحداث الإصابة وهي النتيجة نفسها التي توصلنا إليها و اختلفت نتائجنا مع Gales *et al.* [5] الذي بين إن اكثر الأنواع مسببة لتسمم الدم هي بكتريا *E.coli* بالدرجة الأولى تليها بكتريا *Enterobacter sp.* . أما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فكانت بكتريا *S . epidermidis* بالدرجة الأولى فقد كانت نسبتها (41.74 %) تليها بكتريا *S. aureus* فكانت نسبتها قليلة (6.79 %) تتفق هذه النتائج مع Sabiopaz *et al* . [6] الذي بين إن الكثير من حالات تسمم الدم تعود لبكتريا *Staphylococcus epidermidis* في الأطفال خاصة واختلفت النتائج مع Stephan *et al.* [7] الذي عزل (281) عزلة لبكتريا *S. aureus* في حين كانت بكتريا *S. epidermidis* (30) عزلة فقط .

اظهرت جميع أنواع البكتريا مقاومة للمضادات الحيوية المختلفة وقد اظهرت بكتريا السالبة لصبغة كرام مقاومة عالية لمضادات البيتالاكتام منها الامبسلين ، الاموكسسلين و السفتازديم والسيفوتاكسيم إضافة لمقاومة هذه المجموعة لمضاد الجنتاميسين و تتفق هذه النتائج مع ما ذكره Kaufhold and Klein [8] الذي بين إن بكتريا Enterococcus اظهرت مقاومة عالية لمضاد الامبسلين و مضاد الجنتاميسين أما عن بقية البكتريا السالبة لصبغة كرام فقد اظهرت حساسية عالية لمضاد التوبرومايسين و السبروفلوكساسين و الاميكاسين و النورفلكسين وهذه النتائج متفقة مع Gales [5] الذي بين فعالية مضاد السبروفلوكساسين لجميع أنواع البكتريا العائدة للعائلة المعوية المعزولة من حالات تسمم الدم وبين Mahapatra وجماعته] [1]جميع العزلات السالبة لصبغة كرام كانت حساسة للاميكاسين نسبة (100%) ماعدا بكتريا *Enterobacter* التي كانت حساسيتها لمضاد الاميكاسين بنسبة (85%) وبين Forward وجماعته [9] إن (97%) من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* كانت حساسة لمضاد السبروفلوكساسين و (97.3%) من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* كانت حساسة لمضاد التوبرومايسين .

أما البكتريا الموجبة لصبغة كرام فكانت مقاومة لمضادات البيتالاكتام وهي الامبسلين و الاموكسسلين والكلوكساسلين و بنسلين ج و سفتازديم و السيفوتاكسيم و كانت مقاومة الترامثبرين و النتراسايكلين و الارثروماسين و الكوتريموكزازول و الجنتاميسين في حين اظهرت البكتريا الموجبة لصبغة كرام حساسية لمضاد الاميكاسين و السبروفلوكساسين و النورفلكسين و الريفامبسين و اظهرت جميع العزلات أعلى نسبة حساسية لمضاد الفانكومايسين وجاءت هذه النتيجة متفقة مع Stephan وجماعته [7] الذي بين إن بكتريا *S . epidermidis* و *S. aureus* المعزولة من حالات تسمم الدم كانت حساسة بنسبة عالية لمضاد الفانكومايسين واتفقت النتائج مع Mahapatraو جماعته [1] الذين بينوا إن جميع العزلات المعزولة من حالة تسمم الدم كانت حساسة لمضاد الاميكاسين بنسبة (100 %).

<u>الاستنتاجات</u>

١. أن اكثر أنواع البكتريا المسببة لتسمم الدم السالبة لصبغة غرام كانت *Enterobacter* أما بالنسبة إلى البكتريا الموجبة لصبغة غرام فكانت *Staphylococcus epidermidis*

٢. أن اكثر أنواع المضادات الحياتية التي قاومتها البكتريا كانت مضادات البيتا لاكتام .في حين كانت اكثر الأنواع فعالية ضد هذه الاحياءالمرضية هي مضادات (Norflexacin ,Amikacin,Ciprofloxacin)لجميع أنواع البكتريا(الموجبة والسالبة لصبغة غرام)في حين ان مضاد Tabramycinفعال جدا ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام أما مضاد Viancomycinفكان ذو فعالية عالية ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام .

التوصيات

١. أجراء المزيد من الدراسات حول أنواع البكتريا التي تسبب حالة تسمم الدم وخاصة البكتريا أللاهوائية .

٢. عدم استعمال المضادات الحياتية بصورة عشوائية وذلك تحسبا لظهور عزلات مقاومة لهذه المضادات.

٣. أجراء المزيد من الدراسات الجزيئية والوراثية لمعرفة أسباب مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية.

References

1. Mahapatra , A. ; Ghosh , S. K. ; Mishra , S. ; Pattnaik , D. ; Pattnaik ,K. and Mohanty , S. K.. "*Enterobacter cloacae* : A predominant pathogen in neonatal septicemia . Indian" *Journal of Meaical Microbiology* . 20 (2) : ISSN 0255 – 0857 , 2002 .
2 .Jawetz , Melnick. & Adelberg 's ; Brooks , G. F. ; Butel , J. S. and Morse , S. A. . *Medical microbiology* 22st ed. Appelton & Lange . Coliforina . PP.608 – 609 ,2001.
3.Baron , E.J. ; Finegold , S.M. and Peterson , I.L.R.. Baily and Scotts diagnostic Microbiology 9th ed. Mosby company .1994
4. NCCLS performance standards for antimicrobial disk sucesptibility tests . Dec.. 4th ed . NCCLS Vol. 10 , No. 7, 1993.
5. Gales , A. C. ; Pignatari , A.C. Jones , R.N. ; Baretta , M. and Sader , H.S. "Evaluation of vitro activity of new fluoroquinolones , cephalosporins and carbapenems against 569 gram negative bacteria" .. Rev. Assoc. Med. Bras. 43(2) : 137-144 . 1997 .
6. Sabio Paz , D.V. , Solana , C. ; Trietsch , R. and O, Donnell , Y.A.." Influenza A : una causa poco frecuente de neumonia end periodo neonatal precoz ". Arch . Argent . Pediatr . 99 (1): 55-57 . 2001.

7. Stephan , J ; Korn und pramod , M. and Shah Frankfurt , M.” In vitro activity of linezolid against Staphylococcus spp. Compared to other antibiotics.” Chemother J. 11 : 87-9 . 2002.
8 Kaufhola , a. and Klein , R.. “ Species identification and antibiotic susceptibility of Enterococci isolated from clinical specimens of hospitalized patients “. Zentralbl. Bakteriot. 282 (4) : 507-518 . 1995 .
9. Forward , K.R. ; Franks, P.A. ; Low , D.E. ; Rennie , R. ; Simor , A.E. “ The Canadian piperacillin / tazobactam study group. Cross Canada survey of resistance of 2747 aerobic blood culture isolates 33 to piperacillin / tazobactam and other antibiotic” Journal of the Canadian infectious disease . 9 (1) : 33-44 . 1998.