عزل وتشخيص بعض الجراثيم المسببة لانتان الدم عند الاطفال حديثي الولادة في مدينة الموصل

نجلاء عبد الله فتحي النعيمي
قسم علوم الحياة – كلية العلوم
جامعة الموصل

تاريخ الاستلام 2004/9/7 تاريخ القبول 2004/12/15

ABSTRACT

Seventy eight samples of blood have been collected from neonates infected with septicemia. Isolation and identification of some species of gram positive and gram negative bacteria have been done.

Results indicate that the *Klebsiella pneumoniae* recorded higher ratio among other gram negative bacteria which was (20.5 %) while *Staphylococcus aureus* recorded higher ratio among the gram positive bacteria which was (16.7 %). Other species of bacteria have been isolated from another ones in less ratio.

As far as the effect of weight on isolated bacteria ratio , the study noticed predominance of most Genus in the two weight groups (3499-2500) gm and (4499-3500) gm and appeared less number of Genus in the group of less weight (2499-1500) gm. The results of study also appeared that the Death ratio among neonates infected with septicemia was (30.8 %) and the Death ratio which caused by gram negative were higher than that of gram positive.

الخلاصة

جمعت (78) عينة دم من اطفال حديثي الولادة مصابين بانتان الدم إذ عزلت وشخصت العديد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وتبين أن جرثومة *Klebsiella pneumoniae* سجلت أعلى نسبة بين الجراثيم السالبة لصبغة كرام والمعزولة من الاطفال الحديثي الولادة وبلغت (20.5 %) فيما سجلت جرثومة *Staphylococcus aureus* أعلى نسبة بين الجراثيم الموجبة لصبغة كرام بلغت (16.7 %) ، اما الانواع الجرثومية الاخرى فقد عزلت بنسب اقل ، اوضحت الدراسة تأثير الوزن على نسبة الجراثيم المعزولة وسيادة

فقد عزلت بنسب اقل ، اوضحت الدراسة تأثير الوزن على نسبة الجراثيم المعزولة وسيادة أغلب الاجناس في الفئتين (3499-2500) غم و (4499-3500) غم ، وظهرت اعداد من الاجناس اقل في الفئة الوزنية الاقل (2499-1500) غم . وأظهرت نتائج الدراسة أن معدل الوفيات بين الاطفال المصابين بانتان الدم كان (30.8 %) وأن معدل الوفيات المتسبب عن الجراثيم السالبة لصبغة كرام أعلى من تلك المتسببة عن الانواع الموجبة لصبغة كرام .

المقدمة

تعد إصابات مجرى الدم Blood stream infection من الاصابات الشائعة بين الاطفال الحديثي الولادة والتي تعد من الاصابات المكتسبة من بيئة المستشفيات وتسبب الامراضية وقد تؤدي الى الموت في حالة عدم اعطاء العلاج اللازم للمريض (1 و 2) .

يمكن تعريف اصابات مجرى الدم الاولية Early-onset Blood stream infection بأنها الاصابة التي تحدث خلال 48 ساعة من الولادة وقد تكتسب من الرحم خلال عملية الولادة ، أما اصابات مجرى الدم المتاخرةLate-onset Blood stream infection فتعرف بأنها الاصابة التي تحدث بعد ذلك (3) .

يكون الدم في الحالات الطبيعية عقيم أي خالي من الاحياء المجهرية إلا أنه يوجد بعض الاستثناءات مثل تجرثم الدم العابر Transient bacteraemia والتي غالباً ما تحدث بعد عملية قلع الاسنان او أي عمليات جراحية اخرى في الاسنان او في الاغشية المخاطية وناظور القصبات وعمليات قسطرة الاحليل . يحدث هذا النوع من تجرثم الدم بوساطة البكتريا المتعايشة(4 و 5) . أما انتان الدم البكتيري Septicemia فهو متلازمة سريرية تبرز فيها علامات الاصابة الجهازية نتيجة دخول البكتريا بأعداد كبيرة الى مجرى الدم (6) وتختلف قابلية الاطفال للاصابة بانتان الدم البكتيري باختلاف اعمارهم وغالباً ماتظهر عليهم اعراض مرضية كثيرة ومتداخلة (7 و 8) .

يكون الاطفال في الشهر الاول من العمر أكثر عرضة للاصابة بانتان الدم البكتيري من أي وقت اخر ، ومن اهم الاعراض السريرية التي تظهر على المريض هي الحمى ، صداع الرأس والتوعك ، التسمم وإنخفاض الضغط والصدمة الشديدة بالاضافة الى ظهور Lymphangitis وهي انتشار الاصابة من الموقع الاصلي على طول الاوعية اللمفاوية مسببة التهاب جدران الاوعية والتي تصبح مرئية للعين المجردة حيث تظهر بشكل خطوط حمراء تحت الجلد (5 و 9) .

يمكن تشخيص إصابات مجرى الدم بوساطة العلامات السريرية للمريض والدم غير الطبيعي بالاضافة الى مزارع الدم الموجبة Blood culture (10) . ولتسليط الضوء على تاثير بعض العوامل على نسبة الاصابة بانتان الدم عند الاطفال حديثي الولادة استهدف البحث عزل وتشخيص مجموعة من الجراثيم المسببة وتحديد تأثير عامل الوزن في التأثير على نسبة الاصابة وتحديد نسبة الوفيات الناتجة عن الاصابة بانتان الدم والانواع الجرثومية المسببة لاعلى نسبة من الوفيات .

مواد وطرائق العمل

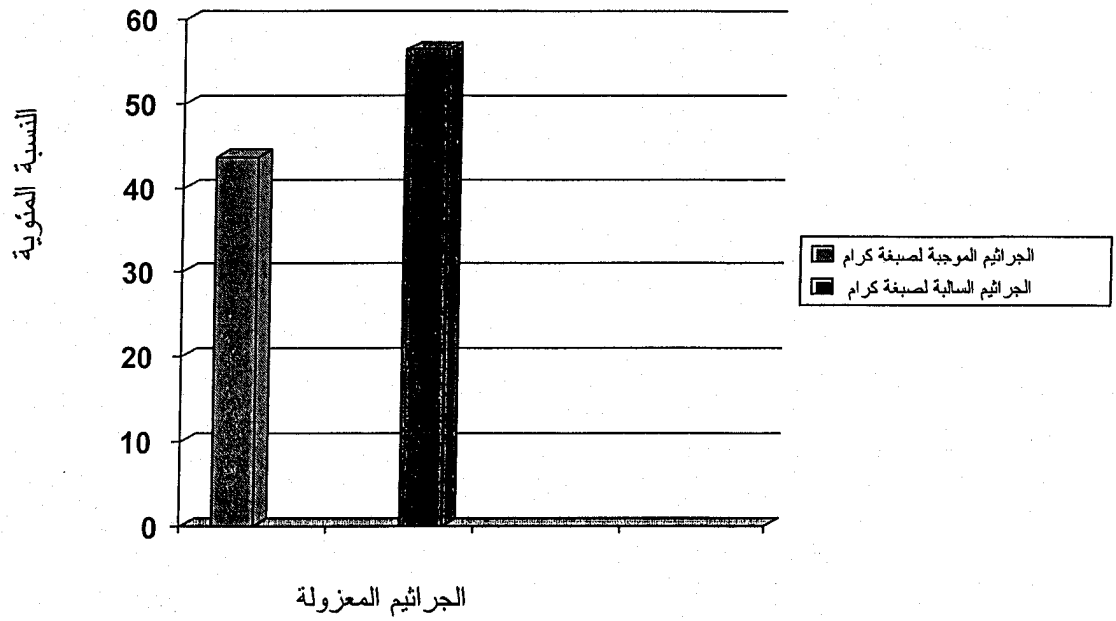
جمعت عينات الدم الوريدي من (78) طفل حديث الولادة من مستشفى السلام بالموصل . وبواقع 1-2 سم^3 بعد غسل المنطقة اولاً بالصابون والماء ثم مسحها بالايودين وتركها لتجف مدة 1-2 دقيقة . بعد ذلك أزيل الايودين بمسحه بالكحول بتركيز (70 %) ، إذ تكون هذه الخطوات أساسية في تعقيم منطقة الوريد المراد سحب العينة منه . مع مراعاة التأكد من جفاف محلول الايودين والكحول قبل ثقب الوريد (4) .

لقحت عينات الدم مباشرة في وسط الاغناء السائل Tryptic Soy Broth (TSB) شركة (Biochemie Grbh , Vienna-Austria) وذلك بخلط الدم مع عشرة اضعاف حجمه من الوسط للتقليل من تأثير العوامل القاتلة للبكتريا في المصل . استخدمت قناني خاصة لزرع الدم Blood culture tubes حاوية على وسط (TSB) مع تعقيم فوهة القنينة بصورة جيدة ، ثم حضنت القناني في درجة حرارة 37 ْم ولمدة اسبوع مع مراعاة فحصها يوميا وعند ظهور نمو واضح للعين المجردة سحبت كمية قليلة وتحت ظروف معقمة ولقحت على الاوساط الزرعية Blood Agar اكار الدم واكار الماكونكي . كما حضرت مسحات صبغت بصبغة كرام وشخصت الانواع الجرثومية باعتماد الاختبارات الكيماحيوية الخاصة لكل نوع .(5)

النتائج المناقشة

يبين الشكل (1) النسب المئوية للجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المسببة لانتان الدم حيث اظهرت نتائج الدراسة ان النسبة المئوية للجراثيم السالبة لصبغة كرام بلغت (56.4 %) وهي أعلى من نسبة الجراثيم الموجبة لصبغة كرام البالغة (43.6 %) .

إن ظهور الجراثيم السالبة لصبغة كرام بنسبة أعلى من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام في دراستنا كان متفقاً مع دراسة Cordero واخرون (3) والذين عزلوا الجراثيم السالبة لصبغة كرام بنسبة 54 % .



الشكل (1) النسب المئوية للجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المسببة لانتان الدم في الاطفال حديثي الولادة قيد الدراسة .

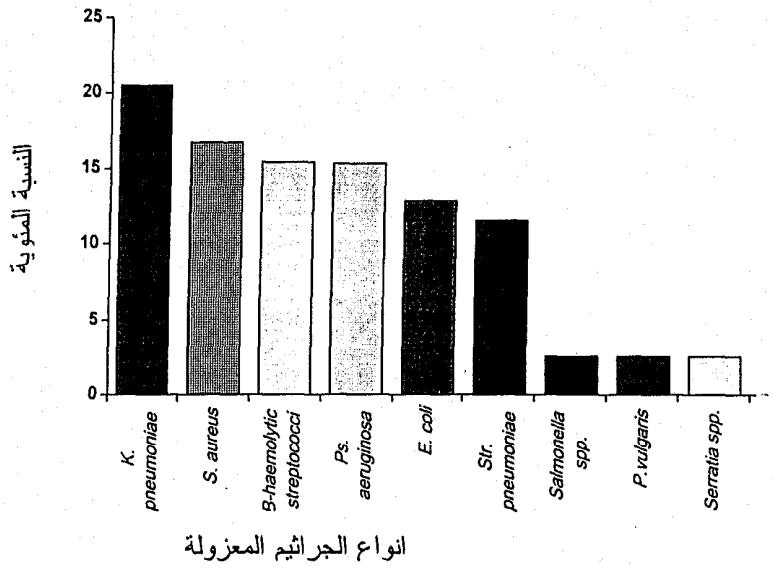
تعد البكتريا السالبة لصبغة كرام الاكثر تكرارا من بين مسببات انتان الدم على الرغم من ان انواع قليلة موجبة لصبغة كرام تسببه احيانا وتنتقل هذه الجراثيم الى الدم عن طريق القثطرة وانابيب التغذية الداخل وريدية . ان جدار الخلية للعديد من البكتريا السالبة لصبغة كرام يحتوي على Endotoxin والذي يتحرر عند تحلل الخلية ممكن ان يسبب انخفاض في ضغط الدم وهذه الحالة يطلق عليها Septic shock حيث ان وجود اقل من واحد بالمليون من المليغرام من Endotoxin تكون كافية لان تسبب ظهور العلامات . كما تسبب عملية البلعمة للبكتريا السالبة لصبغة كرام ابتلاع لافراز متعدد الببتيد والذي يسمى Tumor necrosis factor (TNF) والذي يرتبط بالعديد من انسجة الجسم ويغير من عملية الايض بعدد من الطرق منها ان التاثير الاول للـ TNF تتمثل بتحطيم الاوعية الدموية الشعرية وزيادة نفاذيتها وفقدان كميات كبيرة من السوائل نتيجة انخفاض ضغط الدم والذي يسبب الصدمة ، بالاضافة الى ذلك هناك انواع من البكتريا السالبة لصبغة كرام تسبب تحرر IL-1 و الـ TNF وهذه الحالة تسبب ضعف في الحواجز الدماغية التي تحمي الجهاز العصبي المركزي من الاصابات مما يسبب ضعف عملية البلعمة وهذا يُمكن دخول الكثير من البكتريا الى مجرى الدم (9) .

يبين الشكل (2) النسب المئوية للجراثيم المعزولة من الاطفال المصابين بانتان الدم إذ بلغت 20.5 % للـ *K. pneumoniae* وهي أعلى نسبة من بين الجراثيم المعزولة تلتها جرثومة *S. aureus* بنسبة (16.7 %) وتفاوتت بقية الجراثيم في نسبة عزلها ويتضح من الشكل ان أقل الجراثيم تكراراً هي *Salmonella spp.* و *Proteus vulgaris* و *Serratia spp.* حيث تساوت نسبة عزلها وبلغت (2.6 %) لكل جرثومة .

إن ظهور جرثومة *K. pneumoniae* بنسبة عالية بين الجراثيم المعزولة من الاطفال المصابين بانتان الدم جاء مقارباً لدراسة الباحثين (11 و 12) والذين اشاروا الى أن جرثومة *K. pneumoniae* تشغل المركز الاول بين الجراثيم المسببة لانتان الدم . يعزى وجود *K. pneumoniae* الى العديد من العوامل منها امتلاكها المحفظة المتكونة من متعدد السكريات التي تعد من اهم عوامل الضراوة التي تمتلكها وقدرتها الامراضية وكذلك قدرتها على المقاومة للعديد من المضادات الحياتية (4) . وقد وجد الباحثان Casewell و Phillips (13) ان 17% من افراد الكادر الطبي يحملون هذه الجرثومة على ايديهم بعد ملامستهم لعدد من المرضى المصابين بها كما وجدوا ان هذه الجرثومة تتمكن من البقاء على الايدي لفترة تبلغ (150) دقيقة ، وتمتلك كذلك القدرة على مقاومة الجفاف والانتشار بشكل مباشر وغير مباشر (14) .

اتفقت نتائج دراستنا مع دراسة الباحث Cordero واخرون (15) إذ بلغت نسب عزلهم لجرثومة *S. aureus* (14 %) وظهرت في نتائجنا بنسبة (16.7 %) ، يعزى وجود *S. aureus* الى قابليتها على احداث الاصابة من خلال قدرتها على التضاعف والانتشار في مختلف البيئات وامكانية اصابتها اغلب مناطق جسم الانسان وانتاج العديد من المواد الخارج خلوية مثل الانزيمات والذيفانات (16) .

اما جرثومة *Salmonella spp.* و *Serratia spp.* فكانت مسؤولة عن أقل نسبة من الاصابات وبهذا كانت النتائج متقاربة مع الباحث خميس واخرون (11) إذ عزلوا هذه الجراثيم بنسبة (2 %) لكل منهما . لقد عرفت جرثومة *Serratia spp.* بكونها جرثومة انتهازية تسبب العديد من الاصابات للانسان وخاصة عدوى المستشفيات وضراوتها تعود الى امتلاكها الاهداب ومستضدات جدار الخلية (17) .



الشكل (2) النسب المئوية لانواع الجراثيم المعزولة من الاطفال الحديثي الولادة المصابين بانتان الدم قيد الدراسة .

تأثير عامل الوزن على نسبة الاصابة :

يظهر الشكل (3) توزيع النسب المئوية للبكتريا المعزولة من الاطفال المصابين بانتان الدم حسب الوزن . ويبين الشكل انه في الفئة العمرية الاولى ذوي اوزان (1500 - 2499) غم احتلت جرثومة *K. pneumoniae* المركز الاول بين الجراثيم المعزولة إذ بلغت نسبتها (42.1 %) تلتها جرثومة *Ps. aeruginosa* بنسبة (31.6 %) وكانت أقل الجراثيم تكراراً في هذه الفئة هي جرثومة *E. coli* إذ بلغت (26.3 %) . تعد المستشفى الخازن الرئيسي للعديد من الممرضات بالرغم من الجهود التي تنجز لقتل الجراثيم فيها اذ ان هناك انواع من الجراثيم المتعايشة في جسم الانسان تكون انتهازية وتصبح عامل خطورة وفي الحقيقة فان معظم الجراثيم التي تسبب عدوى المستشفيات Nosocomial infection لاتسبب المرض في الاشخاص الطبيعيين ولكنها تكون ممرضة في الاشخاص الذين دفاعاتهم ضعيفة . تعد البكتريا السالبة لصبغة كرام العامل الرئيسي المسبب لعدوى المستشفيات مثل *Ps. aeruginosa* وخاصة السلالات المقاومة للمضادات الحياتية والانتهازية التي يصعب السيطرة عليها بسبب امتلاكها R-factor والذي يحمل الجين المسؤول عن مقاومة المضادات وهذه السلالات اصبحت جزء من مايكروبات المرضى والاشخاص العاملين في المستشفى واصبحت اكثر نجاحا في مقاومة المضادات وبهذه الطريقة اصبح الافراد جزء من الخازن وسلسلة الانتقال للسلالات المقاومة للمضادات

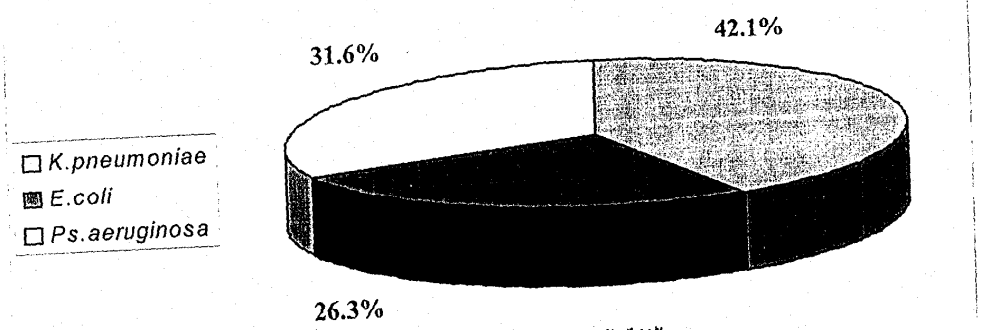
(9) . ومن الاسباب الاخرى لانتشار *Ps. aeruginosa* بنسبة عالية هو انها تحتاج الى مغذيات قليلة في نموها ومن الصعب القضاء التام عليها باستخدام المطهرات الكيميائية والمضادات الحياتية (18 و 19) .

اما فيما يخص الفئة الوزنية الثانية (2500 - 3499) غم فنلاحظ من الشكل نفسه أن أعلى نسبة للجراثيم فيها لكل من الجرثومتين *S. aureus* و *Str. pneumoniae* وقد بلغت (27.3 %) لكل منهما ، تلتها جرثومة *E. coli* بنسبة (15.2 %) وتساوت نسبة عزل كل من الجرثومتين *K. pneumoniae* و *Ps. aeruginosa* إذ بلغت (12.1 %) وكانت أقل الجراثيم تكراراً في هذه الفئة *Salmonella spp.* و *P. vulgaris* إذ بلغت (3 %) لكل نوع.

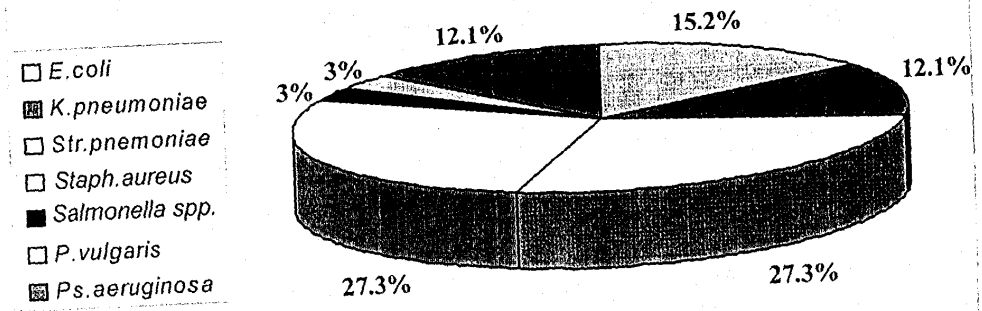
اما فيما يتعلق بالفئة الوزنية الثالثة (3500 - 4499) غم فنلاحظ أن أعلى نسبة عزل كانت تعود لجراثيم مجموعة B-haemolytic Streptococci إذ بلغت (46.2 %) تلتها جرثومتا *K. pneumoniae* و *S. aureus* حيث تساوت الجرثومتان في نسبة عزلهما وبلغت (15.4 %) لكل منهما . وتساوت كل من الجرثومتان *Ps. aeruginosa* و *Serratia sp.* في نسبة عزلهما (7,7 %) لكل جرثومة. وكانت أقل الجراثيم شيوعاً في هذه الفئة كل من جرثومة *P. vulgaris* و *Salmonella spp.* وبنسبة (3.8 %) لكل منها .

نلاحظ من النتائج المذكورة اعلاه انتشار أغلب الاجناس البكتيرية في الفئتين (2500 - 3499) غم و (3500 - 4499) غم وظهور عدد قليل من الاجناس البكتيرية في الفئة (1500 - 2499) غم والتي تمثل فئة الاطفال الخدج وقد يعود ظهور عدد قليل من العزلات البكتيرية في هذه الفئة الى أن حجم العينات التي جمعت من هذه الفئة كان قليل او قد يعود لاسباب اخرى منها ارتفاع نسبة الوفيات في هذه الفئة بسبب الخداجة . اشار الباحث Popeseu واخرون (20) الى ان معدل الوفيات كان عالياً عند الفئات الوزنية الواطئة بسبب عدم تطور اجهزة جسم الطفل الوليد بصورة عامة وذلك بسبب الولادة المبكرة .

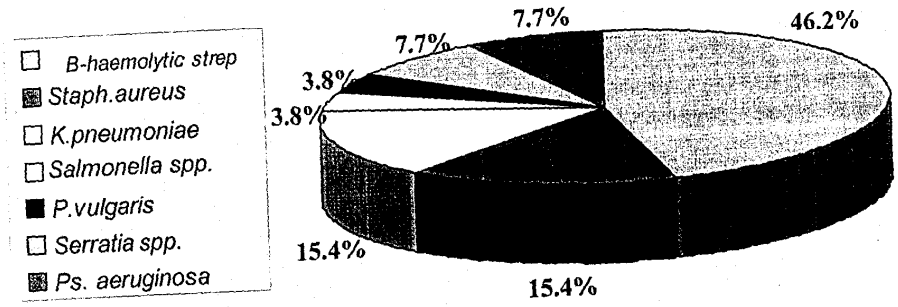
يعد انخفاض الوزن عند الطفل الحديث الولادة من عوامل الخطورة التي تؤدي الى اصابة الطفل بالامراض المختلفة حيث اشار الباحثان Lowy و Hammey (21) الى ان الاطفال الخدج او ذوي الاوزان الواطئة يكونوا اكثر عرضة للاصابة ببعض المسببات المرضية والتي توجد كمتوطنات طبيعية في القناة التناسلية او الامعاء للامهات أثناء الولادة او المتوطنة على الجلد والتي تكون أقل ضراوة نتيجة تدني مستوى كفاءة الجهاز المناعي .



الفئة الوزنية (1500-2499) غم



الفئة الوزنية (2500-3499) غم



الفئة الوزنية (3500-4499) غم

الشكل (3) توزيع النسب المئوية للبكتريا حسب فئات اوزان الاطفال حديثي الولادة قيد الدراسة.

معدل الوفيات :

اظهرت نتائج الدراسة ان معدل الوفيات بين الاطفال الحديثي الولادة المصابين بانتان الدم كان (30.8 %) وكما موضح في الجدول (1) وهذه النتيجة متقاربة مع ماجاء به الباحث Nordbring (22) . وبينت الدراسة ان معدل الوفيات بين الاطفال الحديثي الولادة المتسبب عن اصابات البكتريا السالبة لصبغة كرام اعلى من معدل الوفيات المتسبب عن اصابات البكتريا الموجبة لصبغة كرام اذ بلغت (70.8 %) وهو يشابه نتائج دراسة الباحث Eisenfeld واخرون (23) و الباحث Cordero واخرون (3)

الجدول (1) : توزيع اصابات انتان الدم حسب الشفاء والوفيات.

%	الشفاء	%	الوفاة	%	العدد	البكتريا الموجبة لصبغة كرام
77	10	23	3	16.7	13	*S. aureus*
66.7	8	33.3	4	15.4	12	*B-haemolytic streptococci*
100	9	9	Zero	11.5	9	*Str. Pneumoniae*
						البكتريا السالبة لصبغة كرام
62.5	10	37.5	6	20.5	16	*K. pneumoniae*
33.3	4	66.7	8	15.3	12	*Ps. aeruginosa*
100	10	Zero	Zero	12.8	10	*E. coli*
Zero	Zero	100	2	2.6	2	*Salmonella sp.*
75	3	25	1	5.2	4	Others
69.2	54	30.8	24	100	78	**المجموع**

اوضحت نتائج الدراسة ايضاً ان اصابات *Ps. aeruginosa* سببت نسبة عالية من الوفيات بلغت (66.7 %) تبعتها بكتريا *K. pneumoniae* بنسبة (37.5 %) وهذه النتيجة تتفق مع نتائج دراسات قام بها الباحث Mishra واخرون (24) الذين اشاروا الى ان الاصابات الناتجة عن بكتريا *Ps. aeruginosa* ادت الى اعلى نسبة من الوفيات اذ بلغت (76 %) بين الاطفال الحديثي الولادة المصابين .

المصادر

1.Moore D.L., Nosocomial infections in newborn nurseries and neonatal intensive care units . In Mayhall CG , ed. Hospital Epidemiology and infection control. Baltimore , MD. Maple press ; : 535-564 (1996).

2.Peter G. , Cashore W.J., Infections in the nursery . epidemiology and control. In Remington JS , Klein Jo , eds. Infectious Diseases of the fetus and newborn infant. 4 th ed. Philadelphia PA. W.B. Saunders Co ; 1264-1286 (1995)..

3.Cordero L. , Sananes M. and Ayers L.W. Infect Control Hosp Epidemiol . 20 (40) : 242-246 (1999).

4.Koneman E.W. , Allen S.D. , Janda W.M. , Scheck enberger P.C. and Winn W.C., Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology . 5 th ed. , Lippincott Raven publisher , philadelphia , USA pp. 1395 (1997).

5.Vandepitte J. , Engback K. , Piot P. and Heuck C.G. Basic laboratory procedures in clinical bacteriology . Word Health organization , Geneva (1991).

6.Baker S., Arch. Dis. Child., 60 : 542-546 (1981).

7.Nathoo K.J. , Mason P.R. and Chimbria T.H., Cent. Afr. J. Med., 36 : 150-156 (1990).

8.Mancilla R.J. and Sanchez L.U., Bol. Med. Hosp. Infect. Mex., 47 : 227-233 (1990).

9.Tortora G.J. , Funke B.R. , Case C.L. Microbiology an Introduction. 6th ed. The Bergamin cummings publishing company Inc.,an imprint addison wesley Longman Inc. New York (1998).

10.Garner J.S. , Jarvis W.R. , Emori T.G. , Horan T.C. , Hughes J.M. Am. J. Infect. Control , 15 : 128-140 (1988).

11.خميس ، سامية سبع ؛ عبد ، عدنان كريم ؛ القرة غولي ، محمود عبود. مجلة الكوفة ، العدد 2 :181-189 (2001).

12.Cordero L. , Ayers L.W. and Davis K., Infect. Dis. J., 16 : 18-23 (1997).

13.Casewell M. and Phillips I., Brit. J. Med., 2:1315-1317(1977).

14.Curie K. , Speller D.C.E. , Simpson R.A. , Stephens M. and Cooke D.I., J. Hyg. Camb., 80:115-123 (1978).

15.Cordero L. , Davis K. , Morehead S. and Ayers L.W. Resp. Care . 38 (12) : 1355-1363 (1993).

16.Gupte S. Short Textbook of "Medical Microbiology" 6th ed. JayPee Brothers Medical publishers (p) Ltd., India, p. 134-137(1995).

17.Leranoze S. , Orus P. , BerLanga M. , DaLet F. , and Vinas M., J. Urol., 157, 694-698 (1997).

18.Aksaray S. , Dokuzoguz B. , Guvener E. , Yocesoy M. , Yulug N. , Kocagaz S. , Unal S. , Ceti S. , Calangu S. , Gunaydm L.B.H. and Mamikoglu L., J. Antimicro. Chemother., 45:695-699 (2000).
19.Arruda E.A.G. , Marinho I.S. , Boulos M. , Sinto S.I. , Caiaffa H. , Mendes C.M. , Oplustil C.P. , Sader H. , Levy C.E. , Levin A.S. Infect. Contr. and Hosp. Epidemiol., 20 (9): 620-623 (1999).
20.Popeseu W.U. , Trepka M.J. and Heinrich, J. Pediatr. Aller . Immunol., 6 : 82-90 (1999).
21.Lowy F.D. , Hammey S.M., Ann. Intern. Med. 99 : 834-839 (1993).
22.Nordbring F., Arch. Intern. Med., 142:2010-2011(1982).
23.Eisenfeld L. , Eromocilla R. , Wirschafler D. and Cassady G., Am. J. Dis. Child., 137 : 645-649 (1993).
24.Mishra J.M. , Rat M.G. Chakrabrty S. and Prasad S . Indian. Pediatr . 22 : 175-185 (1985).