الكشف والتشخيص الجزيئي للتلوث البكتيري للمياه والمحاليل المستخدمة والناتجة عن وحدات الغسيل الكلوي في بعض مستشفيات مدينة جدة

هديل شعلان صالح العبدلي

دكتورة علا إبراهيم محمود الهمشري ودكتور شريف ادريس أحمد

المستخلص

هدفت هذه الدراسة الى التحقق من الجودة الميكروبية للماء المعالج والمحاليل المستخدمة في وحدات الغسيل الكلوي بالإضافة الى المخلفات السائلة الناتجة عن عملية الغسيل الكلوي الدموي للمريض بواسطة عزل وتعريف انواع البكتيريا الموجبة والسالبة لجرام عن طريق الاختبارات الكيميائية الحيوية والوراثية وتحديد مدى مقاومة وحساسية السلالات البكتيرية المختبرة لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية المستخدمة. وبذلك تم عزل ١٤١ سلالة بكتيرية مكتشفة من ٣ مصادر مختلفة :٢١عزلة من الماء معالج (نقطة ١) , ٤٦ عزلة من الماء داخل أجهزة الغسيل الكلوي (نقطة ٢) و٧٤ عزلة من الماء الناتج من أجهزة الغسيل الكلوي (نقطة ٣) وقد تم جمع العينات من وحدتي الغسيل الكلوي الدموي التابعة لمستشفيات حكومية (أ، ب) في مدينة جدة. وقد تم تجهيز عدة تخفيفات متسلسلة لعينات (نقطة ٣) ثم زراعة جميع العينات من نقطة (١،٢و٣) على بيئة الاجار لعد المستعمرات البكتيرية ومقارنتها بالمعايير القياسية للعدد البكتيري في عينات الماء المعالجة (نقطة١و٢) وبعد ذلك تم دراسة الوصف المورفولوجية للخلايا والمستعمرات البكتيرية المعزولة عن طريق بعض الصفات الشكلية اضافة الى صبغة جرام طبقا لدليل برجي لتعريف البكتيريا ثم زراعة المستعمرات البكتيرية المعزولة على أوساط انتقائية كبيئة اجار الدم وماكونكي للتعريف البيوكيميائي بواسط جهاز الفايتك. تم اختيار ١٠ سلالات بكتيرية ممثلة وتعريفها وراثياً على المستوى النوعي عن طريق مقارنة النتائج التتابع الجيني بما هو موثق ببنك الجينات العالمي وتم تسجيل التتابع الجيني المتحصل عليه للجين 16SrRNA الخاص بكل سلالة ببنك الجينات العالمي والحصول على رقم تعريفي لكل سلالة. تم دراسة حساسية السلالات المعزولة المعرفة وراثيا تجاه ١٤ نوع من المضادات الحيوية. بالنسبة لنتائج عدد المستعمرات البكتيرية في عينات الماء المعالجة (نقطة ١) فقد كانت متفقة مع معايير العد البكتيري بنسبة ٦٢,٥% مع المعيار الاوروبي لجمعية الغسيل الكلوي ومع معيار المملكة العربية السعودية ومن المياه داخل الاجهزة (نقطة ٢) بنسبة ٦٤،٧%من كلا وحدتي الغسيل الكلوي. أوضحت الدراسة أن أعلى معدل تلوث بكتيري في عينات الماء الناتج من الأجهزة من كلا وحدتي الغسيل الكلوي الدموي (أ وب). أظهرت الدراسة أن التوزيع الكلي للتلوث البكتيري السائد من جميع العينات كانت للبكتيريا السالبة لجرام (٥١,٥٧٪)، ثم الكرويات الموجبة لجرام (٢٩٪) والعصيات الموجبة لجرام (١٩,١٤٪) وكانت العزلات البكتيرية المتكرر تواجدها في مصادر العينات هي: *Bacillusis cereus* (١٧,٧٪)، *Acinetobacter baumannii* (١٧٪)، *Staphylococcus epidermidis* (١٤,٨٩٪)، *Staphylococcus warneri* (١٤,١٨٪)، *Acinetobacter pitti* (١٣,٤٧٪)، *Escherishia coli* (٨,٥١٪)، *Stenotrophomonas maltophilia* (٧,٨٠٪)، *Klebsiella pneumonia* (٤,٩٦٪), *Arthrobacter arilaitensis* (١,٤١%) حيث مثلت مجموع نسب التلوث البكتيري (٩٩,٩٢٪) من كل العزلات البكتيرية المعزولة من كلا وحدتي الغسيل الكلوي (أ,ب) وكانت جميع السلالات البكتيرية المعرفة وراثيا مقاومة ل ٣ أو أكثر من المضادات الحيوية. كما أشارت هذه النتائج إلى أن المخلفات السائلة الناتجة بعد عملية الغسيل الكلوي كانت أهم مصدر للتلوث البكتيري مع عصيات.*Bacillus* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Escherishia* sp., *Acinetobacter* sp وبعد ذلك كانت عينات المياه داخل أجهزة الغسيل الكلوي المصدر الثاني للتلوث ب .*Staphyloccus* sp. and *Acinetobacter* sp لذلك هناك حاجة إلى برامج وقائية مختصة للقضاء على التلوث البكتيري الموجود في نظام توزيع ماء الغسيل ولمنع المخاطر الصحية بسبب هذه الأنواع الممرضة الانتهازية.

Detection and Molecular Characterization of Bacterial Contamination in Water and Dialysate of Some Hemodialysis Units of Jeddah Hospitals

Hadeel Shalan Saleh Al-Abdaly

Dr. Ola Ibrahim El-Hamshary and Dr. Sherif Edris Ahmed

ABSTRACT

The study aimed to investigate the microbiological quality of the treatment water, fluids that used in hemodialysis units and the waste water that produced from dialyzer effluent by isolation, biochemical and molecular identification of Gram positive and negative bacteria, determination the resistance and sensitive of tested bacterial strains for different kinds of used antibiotics. A total of 141 bacterial isolates were recovered from dialysis water samples. Twenty-one of them were isolated from treated water samples (RO) (point 1), 46 from water inside the hemodialysis machines (point 2) and 74 from waste water produced from dialysis machines (point 3). These samples were collected from two hemodialysis units of government hospitals (A&B), Jeddah during the period of the study. Preparation the serial dilutions for (poin3) samples and All isolated samples (point 1, 2& 3) were cultured on agar medium to count the viable bacteria, and then were compared with standards of bacterial count for (point1&2), after that, study the morphological characterization of cells and colonies and Gram stain according to Bergys. The cultures of isolates were inoculated on selective media such macConkey and blood Agar for identification by vitek 2 compact device. Ten bacterial strains were selected and genetically identified on species level by comparing the results of the gene sequence with the documented international gene bank. Gene sequencing obtained for gene 16S rRNA for each strain was recorded at the international Gene Bank (NCBI) and get accession numbers for each strain and phylogenetic analysis. Antibiotics susceptibilities patterns of identified bacteria were determined for fourteen antibiotics. The overall compliance of treated water from (points 1& 2) to (EDTA) association and National standard for viable bacterial counts of Kingdom Saudi Arabia (<100 c.f.u./ ml) was 62.5 % and 64.7 % respectively. The highest rate of total bacteria count was related to the waste water from (point 3) from both hemodialysis units (A&B). The overall distribution of isolated bacteria showed the highest dominance of Gram negative bacilli (51.57 %), following by Gram positive cocci (29 %) and Gram-positive bacilli (19.14 %). The bacterial isolates, could be arranged according to as follow: *Bacillus cereus* (17.7 %), *Acinetobacter baumannii* (17 %), *Staphylococcus epidermidis* (14.89 %), *Staphylococcus warneri* (14.18 %), *Acinetobacter pitti* (13.47 %), *Escherishia coli* (8.51 %), *Stenotrophomonas maltophilia* (7.80 %), *Klebsiella pneumonia* (4.96 %) and *Arthrobacter arilaitensis* (1.41 %), representing 99.52 % of all isolates from both haemodialysis units. All tested isolated strains showed resistance against to 3 or more antibiotics. These results indicated that the dialyzer effluents were the most important source of bacterial contamination with *Bacillus* sp., *Stenotrophomonas* sp., *Escherishia coli*, *Acinetobacter* sp. and after that, the water from dialysis machines as the source of *Staphyloccus* sp. and *Acinetobacter* sp. Therefore, a competent prevention programs is needed to eliminate bacterial contamination of dialysis water system and to prevent a health risk due to these opportunistic pathogens.