

وبانيات التهابات السحايا الناجم عن النيسيريات السحائية (*Neisseria meningitidis*) والعقديات
الرئوية (*Streptococcus pneumoniae*) والمستدمية النزلية (*Haemophilus influenzae*)

د. فؤاد بازل

ماجستير في الاحياء الدقيقة - المركز الوطني لمختبرات الصحة العامة

التهاب السحايا الجرثومي Bacterial meningitis هو عدوى تصيب الاغشية السحائية والسائل النخاعي الذي يحيط بالدماغ والنخاع, وهومن الاسباب الكبيره ذات الاهمية في احداث الوفاة والعجز او الاعاقه في جميع انحاء العالم فاذا تجاوزنا الفتره المحيطة بالولاده فسنجد ان هناك ثلاثة جراثيم رئيسيه مسؤوله عن التهاب السحايا الجرثومي وهي النيسيرية السحائية *Neisseria meningitidis* والعقدية الرئوية *Streptococcus pneumoniae* والمستدمية النزلية *Haemophilus influenzae*.

وتختلف مسببات التهاب السحايا الجرثومي وفقا للفئة العمرية وللمناطق. ففي جميع انحاء العالم يقدر ان 925000 حاله التهاب سحايا تحدث سنويا بمعدل 11.7 لكل 100000 نسمة وتختلف معدلات وفيات الحالات باختلاف العمر وقت حدوث المرض وباختلاف نمط الجرثوم المسبب للعدوى, الا انها تتراوح ما بين 3% - 19% في البلدان المتقدمه , اما في البلدان النامية تتراوح 37%- 60% ويعاني 54% من الذين يبقون على قيد الحياه من العجز والاعاقه الناجمه عن التهاب السحايا مثل الصمم و التخلف العقلي وعيره من المشاكل العصبية.

وتؤدي العدوى بالنيسيريات السحائية الى متلازمتين متداخلتين من الوجهة السريرية هما التهاب السحايا meningitis والعدوى في مجرى الدم (انتان الدم بالمكورات السحائية)

وتصنف النيسيريات السحايا الى زمر مصليه serogroups وفقا لتفاعلها المناعي , وهي (A,B,C) وتسبب الزمر السابقه مايقرب من 90% من المرض السحائي.

وتنتقل من شخص لآخر عبر المفرزات التنفسية. ومرض التهاب السحايا الجرثومي من الاوبئة الواسعه الانتشار, ويطلق على المنطقة التي تمتد تحت الصحراء الافريقيه من السودان شرقا وحتى غامبيا غربا وتضم 15 بلدا , ويقطن فيها مايزيد على 260 مليون نسمة اسم حزام التهاب السحايا لانها تعاني من معدل توطن مرتفع.

ونجد ان النمط المصلي A وبدرجه اقل عن النمط المصلي C واثاء الاوبئة يكون الاطفال هم الاكثر اصابة بمعدل 1000 لكل 100000 من السكان.

اما الاوبئه في البلدان المتقدمه فتنتج عن الزمر المصليه C ورغم ان الزمره المصليه B يمكن ان تحت ايضا الاوبئه ولكن بشكل اقل.

وتنتج التهابات السحايا في الاعمار المتطرفة (الرضع او صغار الاطفال والشيوخ) بسبب العقديات الرئوية. وتكتسب العدوى بالعقديات الرئوية عبر السبيل التنفسي فبعد استقرار الاستعمار الجرثومي في البلعوم الانفي , يظهر المرض اثر غزو الجراثيم للغشاء المخاطي وتجاوزه لدفاعاته ووصوله الى مجرى الدم ثم الى السحايا والسائل النخاعي. وكما هو الحال في (النمط b من المستدمية النزلية Hib) علما بان العدد الاكبر من الوفيات ينجم عن الالتهاب الرئوي بالمكورات الرئوية, رغم ان التهاب السحايا بالمكورات الرئوية هو اشد مظاهر المرض بالمكورات الرئوية.

ويكاد يقتصر حدوث التهاب السحايا الناجم عن المستدميات النزلية على صغار الاطفال ممن تقل اعمارهم عن 5 سنوات, ومعظم حالات المرض تنجم عن جراثيم ذات محفظة مكونة من عديدات السكاريد من النمط b, ورغم ان لدى معظم الاطفال مستدميات نزلية من الانماط غير القابلة للتعين او مستدميات نظيرة النزلية H.parainfluenzae فان 2-15% فقط لديهم المستدميات النزلية من النمط b. وتكتسب هذه الجراثيم عبر الطريق التنفسي وتخرق الاغشية المخاطية وتدخل مجرى الدم وبالتالي تتمكن من الوصول الى السائل النخاعي حيث تنوّد العدوى ويحث الالتهاب. والمحفظة العديده السكاريد التي تغلف المستدمية النزلية من النمط b هي عامل اساسي في Virulence وقدره الجراثيم على الغزو والاغاره.

ان خطر حدوث حالات ثانوية من المرض بين المخالطين للمصاب خطر مرتفع لذا يعطى لهم وقاية كيميائية بالمضادات الحيوية.

وتلعب اللقاحات دورا هاما في مكافحة التهاب السحايا الجرثومي وفي الوقاية منه فاللقاحات المضادة للنييسيريات السحائية والمستدميات النزلية والمكورات الرئوية متوفرة في الوقت الحاضر الا ان الوقاية التي يقدمها كل لقاح هي مخصوصة ببعض الانماط المصلية لكل جرثومه. فعلى سبيل المثال تتوافر في الوقت الحاضر لقاحات للوقاية من العدوى بالمستدميات النزلية من النمط b ولا تؤثر على حالات العدوى الناجمة عن الانماط المصلية الاخرى, ومن هنا فان الدور الهام الذي يتوجب على المختبرات القيام به هو تحديد الجراثيم المسببة لالتهاب السحايا في المجتمع والتعرف على الزمر المصلية او الانماط المصلية serotype/serogroup.

وفي البلدان الصناعية , كان الاستخدام الروتيني للقاحات التي تضم بروتين وعديد سكاريد المستدمية النزلية b معا تأثير قوي لدى الاطفال الرضع في الوقاية من التهاب السحايا الناجم عن المستدميات النزلية b وكذلك سائر الاشكال المرضية الشديدة الناجمة عن هذا الجرثوم. وتجرى دراسات عديده في البلدان النامية للتحقق من هذه النتائج.

ويعمل الان فريق علمي على جيل جديد من اللقاحات المضاده لهذا النوع من الجراثيم وهو الان قيد التطوير والانتاج وسيقدم هذه اللقاحات الجديده في اخر الامر درجة عالية من الحماية وتغطية واسعه لجميع الفئات العمرية.

وريثما تتوافر هذه اللقاحات بشكل واسع الانتشار فانه لا بد من استخدام اللقاحات المتوفره حاليا بشكل ملائم وفعال.

علما بان استخدام أي لقاح من هذه اللقاحات يستلزم استعرافا مختبريا للعوامل المسببة للمرض الى جانب معلومات وبائية حول الاعداد والمجموعات المعرضة للخطر والتي لحقت بها اكثر الاصابات.

وستناول في العدد القادم التشخيص المختبري لهذه الجراثيم.

بعد أن عرفنا في العدد السابق وبإثبات إلتهاب السحايا الناجم عن النيسيريات السحائية والعقديات الرئوية والمستدميا النزلية ومعدل انتشاره.

في هذا العدد نتناول الجزء الثاني وهو (التشخيص المختبري لمسببات التهاب السحايا)

الزرع الأولى والثانوي للتعرف على المسببات:

أولا عينة السائل النخاعي CSF

ما إن تصل عينة CSF الى قسم البكتريا ترسب في أنبوبة معقمة لمدة 20 دقيقة بسرعة 2000 دوره في الدقيقة. وتسحب الطفارة supernatant بمصاصة ويمكن يعمل على هذه الطفارة تحري المستضدات بتراص اللاتكس. ويعمل من الراسب الزراعة على الوسط الدموي Blood agar أفضل وسط للعقديات الرئوية.

أما المستدميات النزلية فان أفضل وسط لها هو طيف الشوكولات Chocolate agar الذي سبق اغناؤه بالهيموجلوبين مع مكملات النمو مثل Iso vitale X أو المكملات B أو Votox . و النيسيريات تنمو بشكل جيد على الوسطين وتحضن الأوساط المزروعة مع 5-10% CO2 في Candle-Jar مع شمعه لمدة 24-38 ساعة في درجة 37م.

ويحقن من الراسب 50 ميكرو لتر في مستنبت غني سائل مثل مرق نقيع القلب والدماغ أو غيره ويحضن أيضا في 37م ثم يعمل منه الزرع الثانوي على Blood agar و Chocolate agar ويحضن بنفس الطريقة السابقة.

ويعمل أيضا من راسب عينة ال CSF شريحة وتجفف وتثبت ب 95% ميثانول ثم تجفف وتصبغ بصبغة الجرام.

ملاحظة: أن نتيجة ايجابية أي من الاختبارين شريحة الجرام أو الكشف عن المستضدات في الطفارة أو ايجابيتها معا تعد دليلا على العدوى ولو كان الزرع سلبيا.

ثانياً عينة الدم لمرضى إلتهاب السحايا

يتم زرع الدم في قوارير زجاجية بها مستنبتات دموية مباشرة وينبغي تهويتها قبل حضنها بدرجة حرارة 35-37م.

وتتم التهوية بغرز إبره معقمة للسداة البلاستيكية لزجاجة المستنبت الدموي مثل مرق نقيع القلب والدماغ أو غيره من المستنبتات الدموية وتفحص هذه الأوساط في الساعة 14 أو الساعة 17 من الزرع ثم كل يوم طيلة الأيام السبعة التالية.

ويمكن اعتبار أي عكر turbidity أو انحلال للدم في هذا المستنبت مؤثرا على نمو الجراثيم مما يستوجب القيام بزرع ثانوي subculture مباشرة.

- الفحص العياني للمستعمرات في المستنبتات الصلبة المذكورة سابقا:

تنمو النيسيريات السحائية في طبق Blood agar بينما لا تتمكن المستدميات النزلية من النمو فيه. ولكل من المستدميات النزلية والنيسيريات السحائية مظهر مشابه عند نمو أي منهما على مستنبت الشوكولاتي ولكن يمكن التمييز بينهما بان المستدميات النزلية تبعث رائحة اندولية , والى جانب ذلك تبدو مستعمرات المستدميات النزلية معتمة , رمادية, مسطحة وكبيرة, ولا يظهر أي انحلال بالدم أو تغير في لون المستنبت. وفي طبق أل Blood agar تكون المستعمرات الفتية للنيسيريات السحائية مدورة, ملساء , رطبة , لامعة ومحدبة , وذات حواف كاملة. وتبدو بعض المستعمرات متلاصقة مع جيرانها, وتكون حواصل النمو رمادية وغير مصبوغة, أما المستعمرات الأقدم فتبدو أكثر عتامة ورمادية , وقد تسبب في بعض الأحيان تلون الاجار الذي يقع تحتها بلون قاتم, ويكون حجمها ما بين 1-4 ميلي متر بعد حضن 18-24 ساعة مع حواف متموجة. وتبدو العقديات الرئوية بشكل مستعمرات مخاطية (مائية) رمادية صغيرة مع منطقة مائلة للخضرة بسبب انحلال جزئي للدم في الطبق α-H حول المستعمرات, وتبدو المستعمرات مرتفعة إلا أن تلك المستعمرات ما إن تبلغ من العمر 24-48 ساعة حتى تصبح مسطحة وحتى يصبح الجزء المركزي منها منخفضا على الحواف.

قراءة نتائج صبغة الجرام والنمو على الأطباق:

التعرف على الجرثوم	صبغه الجرام	
	Blood agar	Chocolate agar

N. meningitidis	مكورات مزدوجة سالبة الجرام	+	+
Strept. pneumoniae	مكورات مزدوجة ايجابية الجرام	+	+
H. influenzae	عصيات مكورة سالبة الجرام متعددة الأشكال	+	-

- التعرف على النيسيريات السحائية :

1. وصف المستعمرات كما ذكرنا سابقا (colony description)
2. اختبار oxidase test ايجابي ظهور اللون البنفسجي خلال ثواني.
3. التعرف على النمط أو الزمرة المصلية serogroup للنيسيرية السحائية. لقد تم التعرف على 12 زمرة مصلية للنيسيرية السحائية في الوقت الحاضر وذلك تبعا لعديدات السكريد Polysaccharides الموجودة في محافظها وهذه الزمر هي A,B,C,H,I,K,L,W135,X,Y,Z,Ž(ZqE):.
4. التعرف على النيسيريات بأكسدة السكاكر من قبل أنواع النيسيريات والبرانهاميلات:

إنتاج الحمض من				أنواع الجراثيم
السكروروز	اللاكتوز	المالتوز	الفلوكوز	
-	-	+	+	النيسيرية السحائية
-	-	-	+	النيسيرية البنية
+	-	+	+	النيسيرية الجافة
-	+	+	+	النيسيرية اللاكتامية
-	-	-	-	البرانهاميلة النزلية

- التعرف على المكورات الرئوية:

1. وصف المستعمرات كما ذكرنا سابقا
 2. اختبار المكورات مع قرص Optochin بتركيز 5 Ug, 6mm وتكون المكورات الرئوية حساسة لهذا القرص بمقدار $\geq 14mm$.
 3. ايجابي لاختبار bile solubility (يتحول المحلول إلى اللون الصافي بدل أن كان معكر سابقا).
 4. ايجابي لاختبار التراص للكشف على الأجسام المضادة slide agglutination.
- التعرف على المستدمية النزلية (H.influenzae)
1. وصف المستعمرات في طبق الشوكولاتي كما ذكر سابقا.
 2. نتيجة صبغة الجرام G-ve coccobacilli.
 3. تحديد الأنماط أو الزمر المصلية للمستدميات السحائية وتحديد الأنماط المصلية هل هو النمط Hib أو الأنماط المصلية المتبقية الأخرى (a, c, d, e, f).
 4. استعراف أنواع المستدميات (satalitism test) بمستلزمات نموها للعوامل :

انحلال الدم B على أجار دم الأرنب	احتياجها للعاملين X , V		الأنواع
	V	X	
-	+	+	المستدميات النزلية H. influenzae
-	+	-	المستدميات نظيرة النزلية H. parainfluenzae
+	+	+	المستدميات الحالة للدم
+	+	-	المستدميات نظيرة الحالة للدم
-	-	+	المستدميات الجميلة
-	+	-	المستدميات نظيرة الجميلة

- إن المستدميات نظيرة الجميلة سلبية بالنسبة للاورنثين, أما المستدميات نظيرة النزلية فهي ايجابية بالنسبة للاورنثين.

د.فؤاد بازل ماجستير في الأحياء الدقيقة – المركز الوطني لمختبرات الصحة العامة.