



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص العنقوديات الذهبية من المرضى المصابين بداء السكري

بحث تقدم به الطالب (**خالد كريم احمد**) الى عمادة كلية العلوم في جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات
نيل شهادة البكالوريوس في العلوم

بأشراف الدكتورة

سيوف خومان علوان

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَقُلْ يَا عِبَادِيَ الَّذِينَ آمَنُوا قَسُوا أَيْتَانِي وَاسْتَمِعُوا لِلْحُكْمِ وَإِذْعَبُوا صَبْرًا وَأَقِمْ وَجْهَكَ لِلدِّينِ حَنِيفًا فِطْرَةَ اللَّهِ الَّتِي فَطَرَ النَّاسَ لَا تَمِيلُونَ

وَاسْتَمِعُوا وَأَقِمْ وَجْهَكَ لِلدِّينِ حَنِيفًا فِطْرَةَ اللَّهِ الَّتِي فَطَرَ النَّاسَ لَا تَمِيلُونَ

يَا عِبَادِيَ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

التوبة (١٠٥)



الى حفظة سر الله ومهبط وحية الرسول الكريم (ص) واهل بيته الطيبين الطاهرين

الى من كان سر نجاحي وحنانه بلسم جراحي والدي العزيز ٠٠٠ محبة ووفاء

الى ملاكي في حياتي الى حزن الحب والدتي الغالية ٠٠٠ برا واحسانا

الى من تحلو ايامي بوجودهم اخوتي ٠٠٠٠

الى من علمني حرفا ومهد للعلم طريقا اساتذتي الافاضل ٠٠٠

الى القلوب الرقيقة الى النفوس البريئة

زملائي وزميلاتي

الى من احتضن الجراحات

الى من اليه انتمي وطني الحبيب --- العراق

اهدي ثمرة جهدي هذا

قال الامام علي (ع)

اذا قصرت يدك عن المكافآت فليطل لسانك بالشكر لاتقي بالسطور .. ولا تعبر
الكلمات .. فليس الشكر كلمات نكتبها ، انما هو تعبير عما تفيض به النفس في
مودة و عرفان و امتنان بالمعروف والجميل

الى الدكتورة / **سيوف خموشة علوان**

اشرافا وتعلما

لما ابدته من مساعدة وتعاون فلم تبخل علي بمعلومة تملكها او
نصيحة تبديها

١- الجروح واخماجها The wound and infitions

١-الجروح The wounds

الجرح هو اي اصابة Injury في الجلد تشمل حدوث تمزق Torn , قطع Cut , قطع جراحي Incision رض، Laceration، خدش Abrasion وثقب puncture في الجلد (Torpy et al.,2005). او بتعبير اخر هو انقطاع في استمرارية النسيج الطبيعي المؤدي الى عواقب خلوية وجزئية متنوعة والتي قد تكون عارضة Accidental او نتيجة لتدخلات جراحية مخططة surgical interventions Planted في كل انسجة الجسم (Nester et al.,2001).

قسمت الجروح وفقا لما ذكره السيد (٢٠٠٩) حسب شدة الاصابة الى :

١-**الجروح المغلقة Closed wounds** : وهي الجروح الرضية او الكدمات Contusion التي سببها ضربة بشئ غير حاد Biunt ينتج عنها تمزق في الاوعية الدموية ويرافقها تغيرات لونية معروفة تكون في البداية زرقاء اللون بسبب تسرب الدم ، واذا حدث تكسر لكريات الدم الحمراء فانها تصبح سوداء مائلة الى اللون البني او الاخضر .

٢-**الجروح المفتوحة Open wounds** وتشمل :

***الخدوش Abrasions** : سببها احتكاك بشرة الجلد بسطح خشن.

***جروح العمليات الجراحية Incision wounds** : سببها قطع جراحي نظيف يتضمن الجلد والانسجة الرخوة وكذلك العضلات, ويمكن ان تكون خطيرة.

***الجروح المثقوبة Punctured wounds** : سببها اختراق الجلد بشئ صغير ومدبب كالابرة والمسمار او تكون ناتجة عن الاصابة باطلاقات نارية, وهذه النوع من الجروح يكون ذا فتحتين الاولى:فتحة الدخول(صغيرة) والثانية : فتحة الخروج(كبيرة).

***الجروح الطعنبة Stabbing wounds**: سببها غرس الة حادة داخل الجسم.

***الجروح القلعية Tear\Avlsion wounds**: سببها حدوث تمزق جزئي او كلي للجلد والانسجة الرخوة,وقد تصل في بعض الاحيان الى البتر الجزئي او الكلي للنسيج او العضو المتضرر

٢- اخماج الجروح Wounds infections

يعرف الخمج بانه غزو الجراثيم لانسجة المضيف ورد فعل انسجته اتجاه هذه الاحياء وذيقاتها (Singer & webb, ٢٠٠٥). او غزو الكائنات المجهرية الحية للانسجة بعد انهيار دفاعات المضيف والموضعية والعامية (Manninen et al., 1997).

ان دراسة التهابات الجروح تعود الى منتصف العام ١٨٠٠م عند افتراض المبادئ الاساسية لمقاومة الجسم وطرق انتقال الجراثيم وتطهير الجروح (Lampared, 1989). وتقسم اخماج الجروح بالنسبة لمصادرها الى نوعين هما: داخلية Endogenous وخارجية Exogenous, فالداخلية يكون مصدرها الفلورا الطبيعية Normal flora للجسم, اما الخارجية فتكون مصادرها عديدة كالأشخاص المحيطين بالمريض او المرضى الاخرين او من بيئة المستشفى وتشمل: الغذاء, المياه المستخدمة في التنضيف, معدات التنفس, الاسرة والسوائل او حتى من خلال طريقة اعطاء العلاج الطبي من العاملين في المستشفى (Collee et al., ١٩٩٦), ويسمى هذا بعدوى المستشفيات التي تعرف عموما بانها عدوى تكتسب داخل المستشفى ومعظمها تبدو واضحة اثناء تواجد المريض داخل المستشفى, لكن بعضها بنسبة لا تقل عن ٥٠% من خمج ما بعد العمليات الجراحية لا تلاحظ الا بعد صرف المريض من المستشفى (Maalej et al., 2012). وان من اكثر الاخماج المكتسبة شيوعا في المستشفيات هي :

* خمج العمليات الجراحية.

* خمج المسالك التنفسية.

* خمج المسالك البولية.

٢-١ : داء السكري Diabetes mellitus

يعتبر داء السكري من اكثر التحديات الصحية في العالم للقرن الواحد والعشرين؛ حيث انه اصبح وباء يهدد الدول النامية والمتطورة على حد سواء, فالمضاعفات الناتجة عنه كأمراض القلب, الاوعية الدموية, الاعتلال العصبي السكري, بتر الاعضاء, الفشل الكلوي والعمى كلها تادي الى العجز وانخفاض متوسط العمر المتوقع للانسان وبالتالي زيادة العبء الاقتصادي على الفرد والمجتمع ككل (Britannica, 2002).

ويعرف داء السكري بانه حالة مرضية مزمنة ناتجة عن عوامل وراثية وبيئية (al., 2004) , ويتصف بايض ضعيف للكوكوز المجهز كمصدر مهم للطاقة في الخلايا, بسبب النقص المطلق او الجزئي للانسولين المفرز من خلايا بيتا B-Cell في غدة

البنكرياس (ADA, 2009) كما تعزى الإصابة بداء السكري في بعض الاحيان الى زيادة افراز المواد المضادة لفعل الانسولين داخل خلايا الجسم ,مما يادي الى حدوث خلايا الجسم, مما يؤدي الى حدوث خلل في عملية ايض الكربوهيدرات ولا سيما السكر؛نتيجة لعدم انتظام التمثيل الغذائي فترتفع نسبة السكر في الدم والادرار على السواء ويضطرب ايض المواد الدهنية والبروتينية مما يزيد من كمية الاجسام الكيتونية في الدم والمؤدية الى تحمض الدم(Peters et al.,1996).

1-2-1: انواع داء السكري Types of diabetes mellitus

1-النوع الاول : داء السكري المعتمد على الانسولين **Type 1: Insulin – Dependent** (IDDM) Diaetes Mellitus : وهو داء سكري المعتمد في علاجه على الانسولين , ويتميز بعدم قدرة البنكرياس على افراز الانسولين ؛ بسبب خسارة خلايا بيتا المنتجة للانسولين في جزر لانكرهانز بالبنكرياس مما يؤدي الى نقص الانسولين، وان السبب الرئيسي لهذه الخسارة هو مناعة ذاتية تتميز بهجوم خلايا T-Cell المناعية على خلايا بيتا المنتجة للانسولين (DBCS , ٢٠٠٦) .

2-النوع الثاني : داء السكري غير المعتمد على الانسولين **Type 2: Non Insulin** Dependent Diabetes mellitus (NIDDM) : وهو داء السكري غير المعتمد على الانسولين في علاجه ، ويعد النوع الاكثر شيوعا ؛ اذ يؤلف حوالي ٩٠% من حالات داء السكري الذي يظهر في الغالب بعد سن الاربعين ، ويتميز هذا النوع من السكري عن النوع الاول بوجود مقاومة لمفعول الانسولين Insulin resistance بالرغم من كون مستوى الانسولين ضمن الحدود الطبيعية وانه ذو قابلية على الارتباط بالمستقبلات المتخصصة في الخلايا المستهدفة في الكبد والعضلات والانسجة الدهنية، كما ان هنالك خلايا في عدد المستقبلات والفتها اضافة الى بعض الاليات التي تعقب المستقبلات وتمنع تأثير الانسولين (Saxena & Vikrm , ٢٠٠٤) .

3-النوع الثالث : داء سكر الحمل **Type 3: Pregnancy Dabetes mellitus (PDM)** يصيب هذا النوع من السكري النساء فقط ويحدث خلال فترة الحمل في الثلث الاخير منه ، ويتشابه من حيث العلاج والاعراض النوع الثاني؛ اذ ان سبب الإصابة به هو زيادة مستوى هرمون الحمل (البروجسترون Progesterone)الذي يؤدي الى تحفيز هرمون النمو المضاد للانسولين (Ahmed , ٢٠٠٥) .

٤- أنواع اخرى من داء السكري : Ohter types of dibetes mellitus

هنالك انواع اخرى من داء السكري تعد ثانوية وتنتج عن امراض مختلفة كأمراض البنكرياس (سرطان البنكرياس ، التكريس الليفي والتهاب البنكرياس) والغدد الصماء (متلازمة كوشنك Cushing syndrom)، او تكون بسبب المعالجات الدوائية لمدة طويلة كالمعالجات بـ (Thiazide و Sulbutmol) (King , ٢٠٠٤).

٢-٢: الاجناس البكتيرية قيد الدراسة :

١-٢-٢: جنس المكورات العنقودية Staph.aureus

تضم عائلة Micrococaceae اربعة اجناس بكتيرية اهمها جنس المكورات العنقودية Staphylococcus, وتتميز جميع افرادها بانها موجبة لصبغة كرام غير متحركة, لا تكون سبورات لا هوائية اختيارية, موجبة لاختبار الكتاليز Catalase وسالبة للاوكسيديز Oxidase (Cassate et al., 2006). وان مستعمراتها تكون ذات لون ابيض او كريمي واحيانا اصفر او برتقالي وهي غالبا ما تعد الفلورا الطبيعية للجسم؛ Normal flora اذ ترتبط بالجلد والاغشية المخاطية (Todar, 2008). كما انها ذات قطر يتراوح ما بين (٠,٥ – ١,٥) مايكرومتر (Goldman & Green , ٢٠٠٩).

تتجمع بكتريا المكورات العنقودية بكل عناقيد، وان سبب هذا التجمع هو انقمامها بأكثر من مستوى وتبقى مرتبطة مع بعضها البعض، ويمكن مشاهدتها على هيئة مكورات منفردة او ازواج او سلاسل قصيرة لا سيما عند تنميتها على اوساط زرعية سالنة (Jawet , ٢٠٠٤, et al.). وتظهر المستعمرات دائرية رقيقة ولماعة يل قطر الواحدة منها الى (٢-٣) ملم حيث تنمو في مدى حراري يتراوح بين (١٥ – ٤٣)م، كما انها قادرة على تحمل تراكيز عالية من ملح كلوريد الوديوم NaCl تصل الى ١٥% منتجة بذلك الصبغات الكاروتينية بتراكيز مختلفة وبألوان تتراوح من الاصفر الذهبي الى الابيض اعتمادا على نوع السلالة وظروف النمو (Nesin et al. , ١٩٩٥).

ويضم هذا الجنس ٣٥ نوعا على الاقل، تنتج اعراضا سريرية اهمها الالتهابات كالتهاب الجلد والانسجة الرخوة، العضلات، التهاب الاكياس المبطنة للمفاصل، متلازمة الصدمة السمية، بطانة القلب، ذات الرئة، التسمم الغذائي، والتهاب المجاري البولية (٢٠٠٥, Kayser et al.). وان من اهم هذه الانواع من الناحية الطبية هي المكورات العنقودية الذهبية Staph. Aureus، المكورات العنقودية البشرية Staph. Epidermidis والمكورات العنقودية الرمية Staph. Saprophyticus (Goering et al. , 2008).

تحدث الإصابة بجرثومة *Staph. aureus* عن طريق قابليتها على غزو أنسجة المضيف والتضاعف والانتشار خلال هذه الأنسجة وإنتاج العديد من المواد الخارج خلوية Extracellular substances

كالإنزيمات (Coagulase, Hyaluronidase, Proteinase, Lipase,)
(Penicillinase, Phosphatase, Deoxyribonuclease

والذيغانات التي تشمل الذيغانات المعوية Enterotoxins، الذيغان القاتل لكريات الدم البيضاء Leucocidin، الذيغانلت الحالة للدم Haemolysins والبروتين A ذي الخواص المستضدية الموجود في الجدار الخلوي (Jawetz et al. 2004). كذلك فإن لها القدرة على إنتاج ذيغان متلازمة الصدمة السمية -1 (TSST – 1) Toxic shock syndrome toxin -1 والذيغان المسبب للتقشر الجلدي (Exfoliative toxin) (Collee et al., 1996).

أما النوع الثاني فهو العنقوديات السالبة لانزيم التجلط Coagulase – Negative Staphylococci (CoNS) ومنها *Staph. epidermidis* التي تعد الفلورا الطبيعية لجلد الإنسان، ولكن في بعض الأحيان تسبب الخمج الذي غالبا ما يرتبط مع دخول الأجهزة والأدوات داخل الجسم (القطاير) وعن طريق الخدش في الجلد أو بشكل مباشر عن طريق العمليات الجراحية (Brooks et al., 2007)، وينتج هذا النوع محفظة مخاطية من متعدد السكريات Exopolysaccharide (Slime) تمنع التهام البكتيريا من قبل كريات الدم البيضاء مفصصة النوى (Ruppy et al., 1994).

كما أن النوع الثالث *Staph. saprophyticus* يعد المسبب المسؤول عن (٢٠ – ٣٠)% لخمج المسالك البولية الحاد عند النساء البالغات (Relman, 2011). وقد يقوم بدور انتهازي فيسبب التهابات الجروح والحروق وكذلك إلتان الدم (Septicemia) (Brooks et al., 2001).

وبصورة عامة يتمثل خمج المكورات العنقودية ب :

- أخماج الجلد القيحية : كالدامل، الحصف، متلازمة التقشر الجلدي، الخراجات والتهاب غدد العين الشحمية.
- عدوى المستشفيات المكتسبة : والناجمة عن جروح العمليات الجراحية او العلاج بالخطوط الوريدية.
- التسمم الغذائي : عند انتاج الذيفانات في الطعام.
- أخماج جهازية : كذات الرئة، التهاب نقي العظم، التهاب شغاف القلب والتهاب المسالك البولية.
- متلازمة الدمة السمية Toxic shock syndrome : عند تحرير الذيفانات في مجرى الدم (Goering et al., 2008).

Materials and methods

المواد وطراق العمل

١: الاجهزة والادوات والمواد المختبرية Apparatus, equipments and laboratory materials

١- الاجهزة والادوات المختبرية :

جدول : الاجهزة والادوات المختبرية المستخدمة في الدراسة والشركات المصنعة لها .

ت	أسم الجهاز	الشركة المصنعة(المنشأ)
١	كابينة التعقيم Hood	Marubeni(Japan)
٢	حاضنة Incbator	
٣	موصدة Autoclave	
٤	ميزان الكتروني حساس Sensitive electronic balnce	
٥	مجهر ضوئي مركب Compound light microscope	Olympus(Japan)
٦	جهاز الفايترك Vitek compact ٢	BioMerieux (USA)
٧	مرشحات غشائية دقيقة Millipore filter paper (0.22um)	Difco(USA)
٨	جهاز قياس الحموضة Ph_meter	Martini(USA)
٩	ثلاجة Refrigerator	Concord(Lebanon)
١٠	الناقل الزرعي القياسي Standard wire loop(1u)	HIMEDIA(India)
١١	اطباق بتري بلاستيكية Disposble petri dishes	Sun (China)
١٢	مسجات قطنية معقمة Sterilized swabs cotton	Sterellin Ltd.(England)

٢- المواد المختبرية :

أ- الاوساط الزرعية الجاهزة Ready prepared media

جدول : الاوساط الزرعية الجاهزة المستخدمة في الدراسة والشركات المصنعة لها .

ت	أسم الوسط الزراعي	الشركة المصنعة(المنشأ)
١	وسط اكار الدم Blood agar	HIMEDIA(India)
٢	وسط اكار الماكونكي Macconkey agar	
٣	وسط المانيتول الملحي الصلب Mannitol salt agar	
٤	وسط كليكر_ايرون الصلب Kliglers_Iron agar	

ب- المضادات الحيوية Antibiotics

١- اقراص المضادات الحيوية Antibiotic discs .

ت	أسم العدة	الغرض	الشركة المصنعة(المنشأ)
١	VITEK 2G+&G-	تشخيص البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام Gram_positive and Negative Identification	BioMerieux(France)

٣-٢: طرائق العمل

٣-٢-١: تحضير الاوساط الزراعية Culture medi preparation

١- تحضير الاوساط

حضرت الاوساط الزراعية المستخدمة بحسب تعليمات الشركة المصنعة لها وضبط الاس الهيدروجيني لها بحسب الحاجة له ما عدا الاوساط التركيبية التي شملت وسطي اكار الدم واليوريا , والاوساط المستخدمة هي:

١- وسط اكار الدم Blood Agar

٢- وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar

٣- وسط المانيتول الملحي الصلب Mannitol Salt Agar

ب- تعقيم الاوساط Media sterilization

عقمت جميع الاوساط الزراعية الجاهزة والتركيبية واغلب المحاليل المستخدمة التي لا تتاثر بالحرارة بجهاز الموصدة عند درجة حرارة ١٢١م وضغط ١٥ باوند. انج-٢ لمدة ١٥ دقيقة.

٣-٢-٢: جمع العينات Collection of samples

جمعت العينات من مستشفى الديوانية التعليمي ومن ردهات الجراحة العامة والعمليات الصغرى ولفترة امتدت من (١/١٢/٢٠١٥م) ولغاية (١/٤/٢٠١٦م) وبواقع ١٠٠ عينة شملت ٥٠ عينة من الاشخاص المصابين بداء السكري و ٥٠ عينة اخرى من الاشخاص غير المصابين بداء السكري. اخذت المسحات من اصابات جلدية لاماكن مختلفة من الجروح وباعمار مختلفة لكلا الجنسين. استخدمت المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزل .

٣-٢-٣: زرع العينات Culture of samples

بعد اخذ المسحات من الاصابة الجلدية باستخدام المسحات الحاوية على وسط ناقل. نقلت الى المختبر مباشرة خلال (٢٠ - ٣٠) دقيقة؛ حيث زرعت العينات بطريقة التخطيط على اطباق كل من :

• وسط أكار الدم Blood agar

• وسط اكار الماكونكي MacConkey

حضنت الاطباق بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة. كما تم حضن الاطباق التي لم يظهر فيها نمو خلال ٢٤ ساعة لمدة ٢٤ ساعة اخرى قبل اعتبارها نتيجة سالبة.

٣-٢-٤: تشخيص البكتريا المعزولة Identification of isolated Bacteria

١- التشخيص المجهرى Microscopic diagnosis: صبغت جميع العزلات بصيغة كرام, وثبتت الصفات المجهرية لها من حيث شكلها واصطبغاها بصيغة كرام وتجمع الخلايا.

2- التشخيص الزراعي Cultural diagnosis: حددت الصفات الزراعية للمستعمرات النامية على الاوساط الزراعية التالية:

* وسط اكار الدم: حددت بواسطته الصفات الشكلية للمستعمرات النامية والوانها, كما تم التحري بواسطته عن انتاج البكتريا لانزيم الهيمولايسين.

* وسط اكار الماكونكي: يعتبر هذا الوسط وسطا تفريقيا تنمو عليه مستعمرات البكتريا السالبة لصبغة كرام حيث استعمل لدراسة الصفات الشكلية لمستعمراتها ولتفريق المستعمرات المخمرة لسكر اللاكتوز عن غيرها, اذ تظهر المستعمرات المخمرة لسكر اللاكتوز بالوان حمراء او وردية على سطح الوسط, اما اذا كانت غير مخمرة له فتظهر مستعمراتها شفافة مثل بكتريا *Ps.aeruginosa* (Winn et al.,2006).

* وسط اكار الكروم Chrom agar: يعتبر هذا الوسط تشخيصيا لنمو البكتريا بالاعتماد على لون المستعمرة النامية عليه, اذ يكون لكل بكتريا لون معين تظهر به عليه

٣- التشخيص بنظام الفايترك Vitek compact system diagnosis: يعد نظام الفايترك من الانظمة التشخيصية الحديثة والسريعة في التشخيص البكتيري, اذ يعطي نتائج دقيقة تصل

دقتها الى ٩٩%. ولغرض التأكد من العزلات البكتيرية استخدم النظام اعلاه وحسب تعليمات الشركة المجهزة وفقا لما جاء في (Fritsche et al.,2011)

- ١- زرعت العزلات البكتيرية على وسطي اكار الدم والماكونكي وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة.
- ٢- حضر من المزروع البكتيري عالق بكتيري؛ وذلك بنقل مستعمرة واحدة من كل طبق الى انابيب اختبار حاوية على ٣مل من المحلول الملحي الفسلجي بتركيز ٠,٨٥% ثم خففت عكورة النمو للحصول على عالق كثافته تتراوح بين (٠,٥٠ - ٠,٦٣) ملغم. مل-١ والذي يكافئ ١,٥ * ١٠^٨ باستخدام جهاز المطياف الضوئي بطول موجي ٢٣٠ نانومتر.
- ٣- وضع الـ Card cassette الخاص بتشخيص الانواع البكتيرية في كل انبوبة من انابيب الاختبار الحاوية على العالق البكتيري المخفف ومن ثم وضعت الانابيب في جهاز الفايتهك الذي يقوم بقراءة النتائج تلقائيا وتحديد نوع البكتريا الموجودة في العالق.

٣-٢-٧: التحري عن مقاومة بكتريا Staph. Aureus للمضادات الحيوية (طريقة اقراص فحص الحساسية)

أجري اختبار الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الاقراص بالاعتماد على طريقة NCCLS (٢٠٠٣) ، وتضمن الاختبار الخطوات التالية :

- ١- غمست المسحة القطنية في مرق تربتون الصويا المزروع وازيل الفائض منها بضغطها على الجوانب الداخلية للأنبوبة.
- ٢- نشرت البكتريا على وسط مولر – هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرتين وبأجاهات مختلفة لغرض التأكد من نشر البكتريا المراد اختبار حساسيتها بالتساوي، وتركت الاطباق لمدة ١٥ دقيقة في درجة حرارة الغرفة لضمان امتصاص الرطوبة.
- ٣- وضعت اقراص المضادات الحيوية بواقع خمسة اقراص في طبق قياسه ١٠٠ ملم، و ١٢ قرصا في طبق قياسه ١٥٠ ملم، والمسافة بين كل قرص واخر ٢٤ ملم، (من مركز القرص الاول الى مركز القرص الاخر).
- ٤- حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٥م لمدة (١٦ – ١٨) ساعة لجميع أنواع المضادات الحيوية، ثم قيست اقطار التثبيط وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في (CLSI, 2011).

4- النتائج والمناقشة

٤-١: العزل والتشخيص

تم في هذه الدراسة عزل وتشخيص البكتريا المسببة لآخماج الجروح في مستشفى الديوانية التعليمي من (٢٠٠) شخصا شملت (١٠٠) شخصا مصابين بداء السكري و(١٠٠) شخصا غير مصابين بداء السكري، وذلك بعد زراعتها وتنقيتها واجراء الفحوصات الكيموحيوية لها وكما مبين في جدول (٤-١) الذي يظهر الانواع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وطرق تشخيصها وفقا للاختبارات الكيموحيوية التي اجريت عليها .

اظهرت النتائج الواردة في الجدول (٤ - ٢) ان بكتريا *Staph. aureus* سجلت اعلى نسبة اصابة في جميع انواع الاصابات الواردة لجروح المصابين بداء السكري وغير المصابين به , اذ بلغت في الاصابة المفردة ٢٣% و ٢٧% على التوالي من مجموع الاصابات لكلا المجموعتين , محققة بذلك المرتبة الاولى في الاصابة .

فيما جاءت بكتريا *E. Coli* في المرتبة الثانية كمسبب للاصابة بعد بكتريا *Staph. aureus* لكلا المجموعتين على التوالي , اذ حققت نسبة اصابة بلغت ١٧% لجروح المصابين بالسكري و ٢٤% لجروح غير المصابين بالسكري .

كما ان بكتريا *Ps. aeruginosa* احتلت المرتبة الثالثة في اصابتها لجروح المصابين بالسكري بنسبة ١٠% وغير المصابين به بنسبة ٧% .

بالاضافة الى ان البكتريا سالفة الذكر والتي تم عزلها والتعرف عليها كمسبب للخمج بنسبة عالية في هذه الدراسة , فقد عزلت ايضا كل من *E. cloacae* بنسبة ٣% و *E.aerogenes* بنسبة ٢% من جروح المصابين بالسكري في حين لم تعزل من جروح غير المصابين بالسكري . و اظهرت بكتريا *P. mirabilis* نسبة اصابة ٢% لجروح السكري مقابل ٥% لغير المصابين بالسكري .

كما تساوت نسبة الاصابة ببكتريا *K. pnemoniae* في كلا المجموعتين (٢%) على التوالي . واعطت كل من *A. ursingii* و *S. pyogens* نسبة اصابة لجروح المصابين بالسكري بلغت ٢% لكل منهما على التوالي , بينما لم يتم عزلهما من جروح غير المصابين بالسكري .

اضافة الى ان بكتريا *Staph. epidermids* ، *Streptococcus spp.* و *Enterococcus spp.* لم يتم عزلها من جروح المصابين بالسكري وانما عزلت من جروح غير المصابين بالسكري بنسبة اصابة بلغت (٤ , ٢ و ٢)% لكل منها على التوالي .

جدول (٤ - ٢) : نوع الإصابة الجرثومية ونسبتها المئوية في جروح المصابين وغير المصابين بداء السكري .

%		الانواع البكتيرية المعزولة من جروح مرضى غير مصابين بداء السكري	%	الانواع البكتيرية المعزولة من جروح مرضى مصابين بداء السكري	نوع الإصابة	
٧ ٢	٢٧	<i>Staph.aureus</i>	٦٣	٢٣	<i>Staph.aureus</i>	مفردة
	٢٤	<i>E. coli</i>		١٧	<i>E. coli</i>	
	٧	<i>Ps. aeruginosa</i>		١٠	<i>Ps. aeruginosa</i>	
	٠	-----		٣	<i>E. cloacae</i>	
	٠	-----		٢	<i>E. aerogenes</i>	
	٥	<i>P. mirabilis</i>		٢	<i>P. mirabilis</i>	
	٢	<i>K. pneumonia</i>		٢	<i>K. pneumonia</i>	
	٠	-----		٢	<i>A. ursingii</i>	
	٠	-----		٢	<i>S. pyogens</i>	
	٤	<i>Staph. Epdermids</i>		٠	-----	
	٢	<i>Streptococcus spp.</i>		٠	-----	
	٢	<i>Enterococcus spp.</i>		٠	-----	

ان بكتريا Staph. aureus تعد المسبب الاكثر شيوعا في هذه الدراسة وربما يعود ذلك الى تواجدها كنببت طبيعي في الجسم (Novak, 2000) باعتبار ان الجلد يعد موطننا طبيعيا للبكتريا التعايشية، الا ان ارتفاع نسب الاستيطان والاستعمار يزيد من احتمالية تواجد السلالات ذات الطبيعة الانتهازية التي يظهر اثرها الواضح عند انخفاض القدرة المناعية للمريض فضلا عن كونها من المسببات الرئيسة لعدوى المستشفيات Nosocomial infection فتكون بذلك نسب حدوث الاصابات والاحماج الجلدية في مناطق الجسم المختلفة متأثرة بشكل او بأخر بنسب الاستيطان والاستعمار وبمقدار ما تمتلكه البكتريا من عوامل الضراوة ومستوى الحالة المناعية للأشخاص الاصحا والمخمجين (Zasshi, 2004). ويرجع ذلك الى عدة اسباب منها امتلاكها للعديد من العوامل التي تزيد من ضراوتها وتمكنها من التواجد في بيئات مختلفة كأنتاج الانزيمات التي تعمل على تحطيم المركبات العضوية المعقدة التركيب وتحويلها الى مواد اولية مثل انتاج انزيمات اليوريز والجيلاتينيز والكتاليز (Baron & Finegold)، وامتلاكها القابلية على العيش والبقاء في الظروف الرطبة والجافة على حد سواء وقدرتها على مقاومة التراكيذ العالية من الاملاح (MacFaddin, 2000)، فضلا عن امتلاكها وسائل الحماية الاوزموزية المتمثلة بجدار الخلية البكتيرية الصلب، واحتواء بعض سلالاتها على المحفظة التي تعد من اهم وسائل الحماية ضد الاذى الكيميائي والميكانيكي (O'Riordan & Lee) كذلك قدرتها على تحمل درجات الحرارة الواطئة التي قد تل الى 10م (MacFaddin, 2000).

وكلما ارتفعت نسبة الاستعمار البكتيري للمرضى ازدادت لديهم نسبة الخطورة للاصابة بالاحماج العنقودية ولا سيما مرضى السكري (Cespedes et al., 2005). ويمكن عد النسبة في دراستنا ضمن نطاق النسب المتعارف عليها؛ لكون بكتريا Staph. aureus غالبا ما تستوطن المستشفيات استيطاننا واسعا، وقد تؤدي الى مشاكل صحية كامنة تظهر اهمية دور المرضى الراقدين في المستشفى على انهم بؤرة استيطانية للبكتريا المرضية، ولا يمكن عزل او فك الارتباط والعلاقة الشديدة بين المريض وبيئته المادية مما يجعل المريض الراقد من اهم واكثر مصادر انتشار البكتريا في المستشفى (Rajalakshmi & Amsaveni, 2012). وان نسبة الاصابة التي تم الحول عليها من جروح مرضى السكري جاءت مقاربة لما حصل عليه Pappu وجماعته (2011) التي بلغت 21% و Umadevi وجماعته (2011) 17% و Rajalakshmi & Amsaveni (2012) 27,5%. في حين كانت نتائج العزل من جروح غير المصابين بالسكري اقل مما حصل عليه كل من زيدان (2007) 33,3% والخضيرى (2008) 37,5%. كما ان نتائج البديري (2010) جاءت مرتفعا قليلا عن نتائجنا اذ بلغت نسبة العزل من جروح مرضى السكري 29,6% ولغير السكري 32,9% في حين كانت نتائج Alsaimary (2010) منخفضة كثيرا عن نتائجنا

اذ بلغت لجروح مرضى السكري ٤,٥٩% ولغير المصابين بالسكري ٧,٥٢%. وهذه الاخماج العنقودية تحدث عندماتخترق الحواجز المناعية مثل الجلد والحواجز المخاطية او عند دخول أجسام غريبة، وقد يكون الشخص المخمج يعاني اصلا من ضعف في انظمة الجسم المناعية (CDCP, 2001).

تحصل عملية استيطان بكتريا Staph.aureus بوساطة مركبات خارج خلوية مثل الكولاجين Collagen والفايبرونكتين Fibronectin والفايبرينوجين Fibrinogen وعبر ملتصقات بروتينية سطحية تدعى بالمكونات الاحيائية المميزة والملتصقة بجزئيات الارضية (Grundmeier et al., ٢٠٠٤). ويعمل عامل التكتل Clumping (C.F) factor للبكتريا على الارتباط مع الفايبرينوجين ومن ثم تحصل عملية الالتصاق والاستعمار من خلال انتاج مركبات سطحية تسمح لها بالاستعمار مثل الملتصقات البروتينية Protein adhesions والملتصقات متعددة السكريات Polysaccharide intercellular adhesions وتكون الاغشية الحيوية Biofilm formation (Becker et al., 2006). كما اثبتت الدراسات التي قام بها Kowalski وجماعته (٢٠٠٥) و Gormley (٢٠٠٧) ان الاخماج الجلدية تكون ناتجة في معظمها عن بكتريا Staph. aureus التعايشية التي تنتهز فرص الضعف المناعي وتتسبب في احداث المرض، بينما البعض الاخر يصاب بالعدوى خلال بقاءه في المستشفى فيحصلون بذلك على بكتريا Staph.aureus متوطنة وذات قدرة عالية على مقاومة المضادات الحيوية، وهذه المقاومة تكون بصورة كامنة (صامتة). اما طريقة الانتقال فيفترض انها تنتقل عن طريق الاشخاص المشرفين على رعاية المريض، وتعد النسبة في دراستنا ادنى من النسبة التي حصل Kowalski وجماعته (٢٠٠٥) والبالغة ٥٣%، واعلى من نسبة Priya (٢٠٠٧) البالغة ٢٠%، اذ اكد بان الخطورة لا تكمن في ارتفاع النسبة او انخفاضها بل بمقدار المحتوى الوراثي المرتبط بالعوامل ذات الضراوة الكامنة لبعض عزلات Staph. Aureus فقد وجد ان البعض منها ذات خطورة عالية اكثر من غيرها واقترح ايضا ان حدوث الاصابة لبعض الاشخاص تتم عادة بوساطة سلالات ذات منشأ داخلي Endogenous strains.

ان عملية الاستيطان للبكتريا وارتفاع نسبتها في مناطق الجلد المختلفة تتحكم بها عدة عوامل كعوامل الالتصاق المصاحبة للسطح مثل التركيب المحفظي والانزيمات الخارج خلوية والذيفاناتا الخارجية، وهذه النواتج تسمح للبكتريا بالالتصاق باغشية الخلايا حقيقية النواة وبذلك تقاوم عملية البلعمة (Chambers & Neu, 1995). وبسبب وجود الطبيعة المتعددة العوامل للاخماج العنقودية وتكرار عملية الالتصاق لبكتريا Staph. Aureus وتكرار انتاج البروتينات الخارجية مما يجعل من الصعوبة معرفة العامل الفردي الذي يلعب دورا في تحديد عملية الاستيطان او العامل المساهم بشكل رئيس في احداث المرض

(Murphy et al., 2001). كما ان لهذه البكتريا القدرة على افراز العديد من السموم والانزيمات التي تلعب دورا مهما في مقاومة عملية البلعمة ومساعدتها في اختراق انسجة الجسم (Goldman & Green, 2009).

وفيما يخص بكتريا E. Coli التي جاءت في المرتبة الثانية كمسبب لخمج الجروح في كلا المجموعتين يعود الى انها تعيش بصورة طبيعية في الامعاء او ربما تكون جروح المرضى ملوثة بها نتيجة لعدم وجود النظافة التامة للمريض عند دخول الحمام او استعمال ادوات الاخرين كالمناشف والادوات الاخرى؛ اذ تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على انتاج ذيفانات عديدة منها (ST , LT و a-haemolysin) وتكمن في ان الاخير له القدرة على تكوين ثقب في الخلية عن طريق الانغراس بالغشاء الابلازمي للخلية مما يؤدي الى تحرير السايوتوبلازم وموت الخلية (Ryan & Ray, 2007) وجاءت نتائجنا المتعلقة بنسبة العزل لهذه البكتريا من جروح المصابين بالسكري اقل مما حل عليه Anandi وجماعته (٢٠٠٤) بنسبة ٢٧,٧% و اعلى مما حل عليه Pappu وجماعته (٢٠١١) بنسبة ١٢% وكذلك ما حصل عليه Umadevi وجماعته (٢٠١١) بنسبة ١٤,٦% من تقرحات قدم السكري. في حين كانت نسبة العزل من جروح غير المصابين بالسكري اعلى مما حصل عليه (Onche & Adedeji , 2004) وبالغلة ١١% و (Yishak & Biruk , 2009) ١٠,٥% و Pappu وجماعته (٢٠١١) البالغة ٢٠%. كما حصل Alsamary (٢٠١٠) على نسبة عزل لبكتريا E. Coli من جروح المصابين بالسكري ٣,٤٤% ولغير السكري ٨,٦% وتعد هذه النسبة اقل مما حصل عليه في الدراسة الحالية.

١- مقاومة عزلات *Staph. Aureus* للمضادات الحيوية

اجري اختبار فحص الحساسية لجميع عزلات *Staph. aureus* الواردة في الدراسة والمسبب لخمج الجروح للمصابين بداء السكري (كونها المسبب الاول والاكثر ترددا وشيوعا لخمج الجروح في جميع انواع الاصابات المدروسة) اتجاه مجموعة من المضادات الحيوية ومقاومتها لها من خلال قياس قطر منطقة تثبيط النمو حول اقراص المضادات المستخدمة ومقارنتها فيما ورد في (CLSI, 2011).

أن جميع عزلات *Staph. aureus* المسببة لخمج جروح السكري لم تظهر اي تحسس اتجاه مضادات ألد (Clavulanic acid – Amoxicillin, PenicillinG, Ampicillin,) حيث قاومتها بشكل تام (١٠٠%) اضافة الى مقاومتها لمضاد Carbencillin بنسبة ٩٥,٢٣% و Methicillin بنسبة ٦٦,٦٦%. في حين كانت مقاومتها لمضادي Erythromycin و Azithromycin متقاربة بلغت ٥٧,٥٠% و

٥٤,٢٦% لكل منهما على التوالي وابدت المقاومة عينها لمضادي Cephalthine و Cefotaxime بنسبة ٥٢,٣٨% لكل منهما.

كما ان عزلات *Staph. aureus* اظهرت مقاومة وحساسية متساوية لمضادي Oxacillin و Clindamycin بنسبة مئوية بلغت ٥٠% لكل منهما.

اما مضادات ألـ (Ceftriaxone, Trimethoprim, Gentamicin, Vancomycin,) Tetracycline و Chloramphenicol) فان حساسية العزلات لها كانت اعلى من مقاومتها، إذ بلغت نسبتها (٧,١٤ ، ١٦,٦٦ ، ٢١,٤٢ ، ٢٨,٥٧ ، ٤٠,٤٧ ، ٤٥,٢٣)% على التوالي. مما يدل على ان نسبة مقاومة عزلات *Staph. aureus* لمجموع المضادات المستخدمة في الدراسة اعلى من حساسيتها لها من حيث مقاومتها لاكثر من ٦٠% من هذه المضادات.

أظهرت العزلات البكتيرية تباينا ملحوظا في مقاومتها لمضادات البييتالاكتاموالسبب في ذلك قد يعود الى التنوع في آليات المقاومة لعزلات *Staph. aureus* لمضادات البييتالاكتام من خلال انتاج انزيمات البييتالاكتام المثبطة لهذه المضادات او من خلال تغير مواقع ارتباط البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs) (Hiramatsu et al., 2001). والسبب الاخر يعتمد على عوامل الضراوة للبكتريا ذاتها؛ اذ تظهر بعض العزلات مقدارا من المقاومة اكثر من غيرها وان الاختلاف في ظروف الاختبارات ونوع التقنيات المستخدمة في الدراسة كل ذلك مجتمعا يوجد اختلافا في مستويات المقاومة (Brown et al., 2005).

كما ان المقاومة التامة لمضاد Amoxicillin – Clavulanic acid الذي هو من الضادات ذات التأثير التعاضدي والمتميز بمقاومته العالية لانزيمات البييتالاكتام، اذ بينت الخضيرى (٢٠٠٨) في دراستها ان استعمال ألـ Amoxicillin وحده جوبه بمقاومة عالية من قبل معظم سلالات *Staph. aureus* لكن عند اضافة حامض الكلافولانك له زادت كفاءته وهذا عكس ما لوحظ في الدراسة اذ اعطيا كلاهما مقاومة تامة (١٠٠%) من قبل عزلات *Staph. aureus* حيث ان آلية مقاومتها لا تختلف عن اليا مقاومة المضادات الاخرى من خلال تغيير موقع الهدف لمضاد البييتالاكتام او من خلال خفض نفاذية المضاد الحيوي عبر غشاء الخلية البكتيرية (Ryan & Ray, 2004). وفيما يتعلق بمقاومة عزلاتنا المحلية

لمضاد ألـ Carbencillin بنسبة ٩٥,٢٣% فان نتائج Al-Hamdani & Hamad (2012) جاءت مطابقة لنتائجنا اذ حلا على نسبة مقاومة لعزلات *Staph. aureu* اتجاه هذا المضاد بلغت ٩٥,٨٣%، اذ انهذه العزلات اخذت من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى في مستشفى مدينة البصرة.

ان مقاومة عزلات *Staph. aureus* لـ Methicillin بنسبة ٦٦,٦٦% اتفقت مع ما حصل عليه Klein وجماعته (٢٠٠٧) حيث بلغت نسبة المقاومة للمضاد ٦٢% في حين كان العكس مع الخضيرى (٢٠٠٨) التي سجلت عزلاتها نسبة مقاومة للمثيسيلين بلغت ١٨,٥% وهذا المضاد يعود الى مضادات البييتالاكتام وتحت صنف البنسلينات المقاومة لانزيمات البييتالاكتام حيث تعمل البكتريا على مقاومتها من خلال مورثة *mesA* التي تعمل على تشفير البروتينات الرابطة للمثيسيلين التي تتأثر بالكميات المفرطة من انزيمات البييتالاكتام (Johnson et al., 2007).

كما ان المقاومة المتوسطة لعزلات *Staph. aureus* اتجاه مضادي الـ Erythromycin و Azithromycin بنسبة بلغت (٥٧,٥٠% و ٥٤,٧٦%) لكل منهما على التوالي كانت متفقة مع زيدان (٢٠٠٧) التي حصلت على نسبة مقاومة للأرثرومايسين بلغت ٥٥% في حين لم تتفق مع الخضيرى (٢٠٠٨) التي حصلت على نسبة مقاومة للمضاد ٨١,٥%، بينما حصل كل من البديري (٢٠١٠) و Pappu وجماعته (٢٠١١) و Umadevi وجماعته (٢٠١١) على مقاومة ضعيفة للأرثرومايسين بلغت ٤٦,٥% و ٢٠% و ٣١% وعلى التوالي اضافة الى الدراسات الاخرى التي بينت ان غالبية عزلات *Staph. aureus* اظهرت مقاومة ضعيفة للأرثرومايسين (Onche & Adedeji, 2004).

وان من الشائع مقاومة *Staph. aureus* لمركبات الماكروليدات Masrolides التي من ضمنها الارثرومايسين ؛ اذ تنشأ المقاومة من خلال انتاج انزيم methylase RNA المشفر بواسطة مورثة *erm* (Jorgensen et al., 2004), وادرج الارثرومايسين ضمن قائمة المضادات الحيوية التي تجابه بمقاومة عالية من قبل بكتريا *staph. aureus* حيث وصلت نسبة المقاومة في بعض السلالات الى ١٠٠% (Leclercq, 2002) وهي اعلى من نسبة المقاومة لمركبات الماكروليدات في الحالية.

اما مقاومة العزلات المدروسة لمضادي الـ Cefalothin و Cefotaxime بنسبة ٥٢,٣٨% لكل منهما على التوالي فكانت مقاربة لما حصل عليه البديري (٢٠١٠) من مقاومة للمضادين بلغت ٧٨,٧% و ٥٧,٥% على التوالي ولم تتفق مع Rajalakshmi & Amsaveni (٢٠١٢) اللذين حصلا على مقاومة تامة (١٠٠%) ابدتها عزلات *Staph. aureus* اتجاه هذين المضادين .

١- المصادر العربية :

- البديري ، ثائر عبد دعيشيش (٢٠١٠).
- الخضيرى ، ميعاد كاظم علي (٢٠٠٨).
- السيد ، عبد الباسط محمد (٢٠٠٩).
- الموسوي ، أزهار نوري حسين (٢٠٠٦).
- زيدان ، أسراء علي (٢٠٠٧).

٢- المصادر الاجنبية :

- Abbott, J.C. (2003)
- Abdel – Haleem, A. M. (2003)
- Ahmed, R. G. (2005)
- Al-Hamdani, M. A. And Hamad, I. G. (2012)
- Alsaimary, I. E. A. (2010)
- Ascroft, F. M. And Ascroft S. H. (1992)
- Baron, E. J. And Finegold, S. M. (1995)
- Braun, G. And Vidotto, M. (2004)
- Brooks, G. F.: Butel, J. S.: Carrol, K. C. And Morse S. A. (2007)
- Carter, G. R. And Wise, D. J. (2004)
- CDCP (Centers for Disease Control and Prevention) (2001)
- CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2011)
- DBCS (Diabetes Blue Circle Symbol) (2006)
- Franklin, T. J. And Snow, J. A. (2005)
- Garritty, G. M. (2005)
- Goldman, E. And Green, L. H. (2009)
- Gormley, M. (2007)
- Heidari, M.; Momtaz, H. And Madani, M. (2011)
- Hogg, S. (2005)
- Hiramatsu *et al.*, (2001)
- Leclercq, (2002)

- Johnson, M. S. (2000) •
- Murphy *et al.*,(2001) •
- (Murphy *et al.*,(2001) •
- .(Nester *et al.*,2001) •
- (Novak, 2000) •
- Onche & Adedeji , (2004) •
- .(Zasshi, 2004) •