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

(علاء كامل علوي)

إلى عمادة كلية العلوم في جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في العلوم

بإشراف الدكتورة

سيوف خومان علوان

٢٠١٧ م ١٤٣٨ هـ

(وَفَوْقَ كُلِ ذِي عِلْمٍ عَلِيمٌ)

سورة يوسف (٧٦)

الإهداء

إلى من لبسوا القلوب على الدروع إلى من لبوا النداء ....

إلى من ضحوا بالغالي النفيس ....

إلى حشدنا الشعبي المقدس .... احتراماً وفخرا

إلى الجيش العراقي البطل إلى أبطال الفرقة الذهبية والشرطة الاتحادية

إلى كل صنوف قواتنا الأمنية البطلة .... امتناناً وشكرا

إلى من أنقذ العراق وصمام أمانه إلى صاحب فتوى الجهاد المقدس السيد علي الحسيني السيستاتي (دام ظله) .... قداسة وحبا

إلى من احتضن الجراحات إلى من إلية انتمي وطني الحبيب .... العراق

إلى من احتضنتني منذ الصغر....

إلى من انحنى ظهرها من اجلي ....

إلى من سهرت الليالي ولبت كل احتياجاتي إلى وطني الكبير....

.... أمي .... محبةً وعطفا

إلى من ساعدني وساندي .... ابي .... براً وإحسانا

إلى القلوب الرقيقة إلى النفوس البريئة زملائي وزميلاتي

اهدي ثمرة جهدي المتواضع هذا

قال الإمام علي (ع)

((إذا قصرت يدك عن المكافأت فليطل لسانك بالشكر لاتفي بالسطور .. ولا تعبر الكلمات .. فليس الشكر كلمات نكتبها ، إنما هو تعبير عما تفيض به النفس في مودة وعرفان وامتنان بالمعروف والجميل))

((من لم يشكر المخلوق لم يشكر الخالق))

إلى الدكتورة / سيوف خومان علوان

إلى صاحبة القلب الكبير والابتسامة الجميلة والنفس الكريمة اشكرها من كل قلبي لما ابدتة من مساعده ومشورة وتوجيه في كل خطوة من خطوات البحث فلم تبخل بأي معلومة أو نصيحة أو توجيه .

المحتويات

ت	الموضوع	رقم الصفحة
١	المقدمة	٧
٢	الجروح واخماجها • الجروح	٧
٣	اخماج الجروح	٨
٤	داء السكري	٨
٥	انواع داء السكري	٩
٦	انوع اخرى من داء السكري	١٠
٧	المواد وطرق العمل • الاجهزه والادوات المختبريه	١٤
٨	المواد المختبريه	١٥
٩	طرائق العمل وجمع العينات	١٦
١٠	زرع العينات	١٧
١١	تشخيص البكتريا المعزوله	١٨
١٢	التحري عن مقامة البكتريا للمضادات الحياتيه	١٩
١٣	النتائج والمناقشه	٢١
١٤	مقامة عزلات Staph.aureas للمضادات الحيوية	٢٥
١٥	الخاتمه	٢٩
١٦	المصادر	٣١

الفصل الأول

المقدمة

المقدمة :

الجروح واخماجها The wound and infitions

١-الجروحThe wounds

الجرح هو اي اصابة Injury في الجلد تشمل حدوث تمزق Torn , قطع Cut , قطع جراحي Inciion رض، Laceration،خدشAbrasionوثقب punctureفي الجلد(2005Torpy et al.,) .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 intreventions Planted في كل انسجة الجسم (Nester et al.,2001).

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

١-الجروح المغلقة Ciosed wounds:وهي الجروح الرضية او الكدمات Contusionالتي سببها ضربة بشئ غير حادBlunt 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 woundsوتشمل:

*الخدوشAbrasions: سببها احتكاك بشرة الجلد بسطح خشن.

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

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

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

*الجروح القلعية Tear\AvIsion 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 وذيفاناتها (Singer & webb،٢٠٠٥).او غزو الكائنات المجهرية الحية للانسجة بعد انهيار دفاعات المضيف والموضعية والعامة(Manninen et al., 1997).

ان دراسة التهابات الجروح تعود الى منتصف العام١٨٠٠م عند افتراض المبادئ الاساسية لمقاومة الجسم وطرق انتقال الجراثيم وتطهير الجروح (Lampared, 1989).وتقسم اخماج الجروح بالنسبة لمصادرها الى نوعين هما:داخلية Endogenousوخارجية Exogenous,فالداخلية يكون مصدرها الفلورا الطبيعية Normal floraللجسم,اما الخارجية فتكون مصادرها عديدة كالاشخاص المحيطين بالمريض او المرضى الاخرين او من بيئة المستشفى وتشمل :الغذاء،المياه المستخدمة في التنظيف،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 كامراض 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 Wiid et),ويتصف بايض ضعيف للكلوكوز المجهز كمصدر مهم للطاقة في الخلايا,بسبب النقص المطلق او الجزئي للانسولين المفرز من خلايا بيتا B-Cellفي غدة البنكرياس (ADA, 2009)كما تعزى الاصابة بداء السكري في بعض الاحيان الى زيادة افراز المواد المضادة لفعل الانسولين داخل 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).

٢-١-١: انواع داء السكري Types of diabetes mellitus

١-النوع الاول : داء السكري المعتمد على الانسولين Type 1: Insulin – Depedent Diaetes Mellitus (IDDM): 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) .

٢-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 خللا في عدد المستقبلات والفتها اضافة الى بعض الاليات التي تعقب المستقبلات وتمنع تأثير الانسولين (Saxena & Vikrm , ٢٠٠٤) .

٣-النوع الثالث : داء سكر الحمل Type 3: Pregnancy Dibetes melltus: (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 الاصابة به هو زيادة مستوى هرمون الحمل (البروجسترون Progesterone)الذي يؤدي الى تحفيز هرمون النمو المضاد للانسولين (Ahmed , ٢٠٠٥) .

٤- انواع 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 ، التكيس الليفي والتهاب البنكرياس) والغدد الصماء

(متلازمة كوشنك Cushing syndrom)، او تكون بسبب المعالجات الدوائية لمدة طويلة كالمعالجات بـ (Thiazideو Sulbutmol) (٢٠٠٤ , King).

٢-٢:الاجناس البكتيرية قيد الدراسة

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

تضم عائلة Micrococaceaeاربعة اجناس بكتيرية اهمها جنس المكورات العنقودية Staphylococcus,وتتميز جميع افرادها بانها موجبة لصبغة كرام غير متحركة ,لا تكون سبورات لا هوائية اختيارية,موجبة لاختبار الكتاليزCatalaseوسالبة 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 floraاذ ترتبط بالجلد والاغشية المخاطية (Todar, 2008).كما انها ذات قطر يتراوح ما بين (٠،٥ – ١،٥) مايكرومتر (٢٠٠٩ , Goldman & Green).

تتجمع بكتريا المكورات العنقودية بكل عناقيد، وان سبب هذا التجمع هو انقسامها بأكثر من مستوى وتبقى مرتبطة مع بعضها البعض، ويمكن مشاهدتها على هية مكورات منفردة او ازواج او سلاسل قصيرة لا سيما عند تنميتها على اوساط زرعية سائله (٢٠٠٤, Jawet et al.). وتظهر المستعمرات دائرية رقيقة ولماعة يصل 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 الصوديوم NaCl تصل الى ١٥% منتجة بذلك الصبغات الكاروتينية بتراكيز مختلفة وبألوان تتراوح من الاصفر الذهبي الى الابيض اعتمادا على نوع السلالة وظروف النمو (١٩٩٥ , .Nesin et al).

ويضم هذا الجنس ٣٥ نوعا على الاقل، تنتج اعراضا سريرية اهما 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. Areus، المكورات العنقودية البشروية Staph. Epidermidis والمكورات العنقودية الرمية Staph. Saprophyticus (2008، .Goering et al).

تحدث الاصابة بجرثومةStaph. aureus عن طريق قابليتها على غزو انسجة المضيف والتضاعف والانتشار خلال هذه الانسجة وانتاج العديد من المواد الخارج خلوية Extrscellulr supstnces

كالانزيمات (Coagulase, Hyaluronidaes, Proteniase, Lipase, Penicillinase, Phosphatase, Deoyribonuclease)

والذيفانات التي تشمل الذيفانات المعوية Enterotoxins، الذيفان القاتل لكريات الدم البيضاء Leucocidin، الذيفانات الحالة للدم Haemolysins والبروتين A ذي الخواص المستضدية الموجود في الجدار الخلوي(Jawetz et al. 2004). كذلك فأن لها القدرة على انتاج ذيفان متلازمة الصدمة السمية -١ (TSST – 1) Toxic shock syndrome toxin -1 والذيفان المسبب للتقشر الجلدي Exfoliative toxin (Collee et al., 1996).

اما النوع الثاني فهو العنقوديات السالبة لانزيم التجلط Coagulase – Negative Staphylococci (CoNS) ومنها Staph. epidermidis التي تعد الفلورا الطبيعية لجلد الانسان، ولكن في بعض الاحيان تسبب الخمج الذي غالبا ما يرتبط مع دخول الاجهزة والادوات داخل الجسم (القساطر) وعن طريق الخدش في الجلد او بشكل مباشر عن طريق العمليات الجراحية (Brooks et al., 2007)، وينتج هذا النوع محفظة مخاطية من متعدد السكريات Exopoly saccharide (Slime) تمنع التهام البكتريا من قبل كريات الدم البيضاء مفصصة النوى (Ruppy et al., 1994).

كما ان النوع الثالث Staph. saprophytics يعد المسبب المسؤول عن (٢٠ – ٣٠)% لخمج المسالك البوليةالحاد عند النساء البالغات (Relman, 2011). وقد يقوم بدور انتهازي فيسبب التهابات الجروح والحروق وكذلك انتان الدمSepticemia (Brooks et al., 2001).

وبصورة عامة يتمثل خمج المكورات العنقودية بـ :

- أخماج الجلد القيحية : كالدمامل، الحصف، متلازمة التقشر الجلدي، الخراجات والتهاب غدد العين الشحمية.
- عدوى المستشفيات المكتسبة : والناتجة 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).

الفصل الثاني
المواد وطرائق العمل

المواد وطراق العمل Materials and methods

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	أســـــــم الجـــــــهـــاز	الشركة المصنعة(المنشأ)
١	كابينة التعليم 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 الفايتك٢ Vitek compact	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	مسحات قطنية معقمةSterilized 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 الزرعي	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

أ- 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 الاوساطMedia sterilization

عقمت جميع الاوساط الزراعية الجاهزة والتركيبية واغلب المحاليل المستخدمة التي لا تتاثر بالحرارة بجهاز الموصدة عند درجة حرارة ١٢١م وضغط ١٥باوند. انج-٢لمدة 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(٢٠١٧/١/٢م) ولغاية (٢٠١٧/٤/٢م) وبواقع٥٠عينة شملت ٢٥عينة من الاشخاص المصابين بداء السكري و٢٥عينة 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 مباشرتا 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 ٢٤ساعة. 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 المجهري Microscopic diagnosis :صبغت جميع العزلات بصيغة كرام,وثبتت الصفات المجهرية لها من حيث شكلها واصطباغها بصبغة كرام وتجمع الخلايا.

التشخيص الزرعي Cultural diagnosis:حددت الصفات الزراعية للمستعمرات النامية

على الاوساط الزراعية التالية:

*وسط اكار الدم:حددت بواسطته الصفات الشكلية للمستعمرات النامية والوانها,كما تم التحري بوساطته 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 الفايتك Vitek compact system diagnosis:يعد نظام الفايتك من الانظمة التشخيصية الحديثة والسريعة في التشخيص البكتيري,اذ يعطي نتائج دقيقة تصل دقتها الى ٩٩%.ولغرض التاكد من العزلات البكتيرية استخدم النظام اعلاه وحسب تعليمات الشركة المجهزة وفقا لماجاء في (Fritsche et al,.2011)

١_زرعت العزلات البكتيرية على وسطي اكار الدم والماكونكي وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ساعة.

٢_حضر من المزروع البكتيري عالق بكتيري؛وذلك بنقل مستعمرة واحدة من كل طبق الى انابيب اختبار حاوية على ٣مل من المحلول الملحي الفسلجي بتركيز٠,٨٥% ثم خففت عكورة النمو للحصول على عالق كثافته تتراوح بين (٠,٥٠ - ٠,٦٣)ملغم. مل-١ والذي يكافئ ١,٥ * ١٠٨ باستخدام جهاز المطياف الضوئي بطول موجي ٢٣٠نانومتر.

٣_وضع الCard cassette الخاص بتشخيص الانواع البكتيرية في كل انبوبة من انابيب الاختبار الحاوية على العالق البكتيري المخفف ومن ثم وضعت الانابيب في جهاز الفايتك 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 وبأتجاهات مختلفة لغرض التأكد من نشر البكتريا المراد أختبار 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 ١٠٠ملم، و١٢ قرصا في طبق قياسه ١٥٠ملم، والمسافة بين كل قرص واخر ٢٤ملم، (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).

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

4- النتائج والمناقشة

٤-١: العزل والتشخيص

تم في هذه الدراسة عزل وتشخيص البكتريا المسببة لاخماج الجروح في مستشفى الديوانية التعليمي من (٥٠) شخصا شملت (٢٥) شخصا مصابين بداء السكري و(٢٥) شخصا غير مصابين بداء السكري ،وذلك بعد زراعتها وتنقيتها واجراء الفحوصات الكيموحيوية لها وكما مبين في جدول (٤-١) الذي يظهر الانواع البكترية الموجبة والسالبة لصبغة كرام وطرق تشخيصها وفقا للاختبارات الكيموحيوية التي اجريت عليها .

اظهرت النتائج الواردة في الجدول (٤ – ٢) ان بكتريا Staph. aureusسجلت اعلى نسبة اصابة في جميع انواع الاصابات الواردة لجروح المصابين بداء السكري وغير المصابين به , اذ بلغت في الاصابة المفردة ٢٣% و٢٧% على التوالي من مجموع الاصابات لكلا المجموعتين , محققة بذلك المرتبة الاولى في الاصابة .

فيما جائت بكتريا E. Coliفي 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. aerginosaاحتلت 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. cloacaeبنسبة ٣% و E.aergenes بنسبة ٢% من جروح المصابين بالسكري في حين لم تعزل من جروح غير المصابين بالسكري . واظهرت بكتريا P. mirabilisنسبة اصابة ٢% لجروح السكري مقابل ٥% لغير المصابين بالسكري .

كما تساوت نسبة الاصابة ببكتريا K. pnemoniaeفي 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 sppلم 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 الاصابة الجرثومية ونسبتها المئوية في جروح المصابين وغير المصابين بداء السكري .

نوع الاصابة	الانواع البكتيرية المعزولة من جروح مرضى مصابين بداء السكري	%		الانواع البكتيرية المعزولة من جروح مرضى غير مصابين بداء السكري	%	
مفردة	Staph.aureus	٢٣	٦٣	Staph.aureus	٢٧	٧٣
	E. coli	١٧		E. coli	٢٤	
	Ps. aeruginosa	١٠		Ps. aeruginosa	٧	
	E. cloacae	٣		-------	٠	
	E. aerogenes	٢		-------	٠	
	P. mirabilis	٢		P. mirabilis	٥	
	K. pneumonia	٢		K. pneumonia	٢	
	A . ursingii	٢		-------	٠	
	S. pyogens	٢		--------	٠	
	-------	٠		Staph. Epdermids	٤	
	-------	٠		Streptococcus spp.	٢	
	-------	٠		Enterococcus spp.	٢	

ان نسبة الاصابة التي تم الحول عليها من جروح مرضى السكري جاءت مقاربة لما حصل عليه Pappu وجماعته (٢٠١١) التي بلغت ٢١% و Umadevi وجماعته (٢٠١١) ١٧% و Rajalakshmi & Amsaveni (٢٠١٢) ٢٧,٥%. في حين كانت نتائج العزل من جروح غير المصابين بالسكري اقل مما حصل عليه كل من زيدان (٢٠٠٧) ٣٣,٣% والخضيري (٢٠٠٨) ٣٧,٥%. كما ان نتائج البديري (٢٠١٠) جاءت مرتفعا قليلا عن نتائجنا اذ بلغت نسبة العزل من جروح مرضى السكري ٢٩,٦% ولغير السكري ٣٢,٩% في حين كانت نتائج Alsaimary (٢٠١٠) 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 Fibronectinوالفايبرينوجين Fibrinogen وعبر ملتصقات بروتينية سطحية تدعى بالمكونات الاحيائية المميزة والملتصقة بجزيئات الارضية (Grundmeier el al., ٢٠٠٤).ويعمل عامل التكتل Clumping (C.F) factorللبكتريا على الارتباط مع الفايبرينوجين ومن ثم تحصل عملية الالتصاق والاستعمار من خلال انتاج مركبات سطحية تسمح لها بالاستعمار مثل الملتصقات البروتينية Protein adhesionsوالملتصقات 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 بقائه في المستشفى فيحصلون بذلك على بكتريا Staph.aureusمتوطنة 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 منشا 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,وهذة النواتج تسمح للبكتريا بالالتصاق باغشية الخلايا حقيقية النواة وبذالك 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 رئيسي 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 ثقوب في الخلية عن طريق الانغراس بالغشاء الابلازمي للخلية مما يؤدي الى تحرير السايتوبلازم 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% واعلى مما حل عليه Pappuوجماعته (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) والبالغة 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 ألـ (Clavulanic acid – Amoxicillin, PenicillinG, Ampicillin, Amoxicillin) حيث قاومتها بشكل تام (١٠٠%) اضافة الى مقاومتها لمضاد Carbencillin بنسبة ٩٥,٢٣% و Methicillinبنسبة ٦٦,٦٦%. في حين كانت مقاومتها لمضادي Erythromycin و Azithromycin متقاربة بلغت ٥٧,٥٠%

و ٥٤,٧٦% لكل منهما على التوالي وابدت المقاومة عينها لمضادي Cephalthin 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 ألــ (Ceftreiaxone, Trimethoprim, Gentamicin, Vancomycin, Tetracycline و Chloramphenicol) فأن حساسية العزلات لها كانت اعلى من مقاومتها، أذ بلغت نسبتها (٤٥,٢٣ ، ٤٠,٤٧ ، ٢٨,٥٧ ، ٢١,٤٢ ، ١٦,٦٦، ٧,١٤)% على التوالي. مما يدل على ان نسبة مقاومة عزلات Staph. aureus لمجموع المضادات المستخدمة في الدراسة أعلى من حساسيتها لها من حيث مقاومتها لاكثر من ٦٠% من هذه المضادات.

أظهرت العزلات البكتيرية تباينا ملحوظا في مقاومتها لمضادات البيتالاكتاموالسبب في ذلك قد يعود الى التنوع في أليات المقاومة لعزلات Staph. aureus لمضادات البيتالاكتام من خلال انتاج انزيمات البيتالاكتام 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 المضادات ذات التأثير التعاضدي والمتميز بمقاومته العالية لانزيمات البيتالاكتام، اذ بينت الخضيري (٢٠٠٨) في دراستها ان استعمال ألـ Amoxicillin وحده جوبه بمقاومة عالية من قبل معظم سلالات Staph. aureus لكن عند اضافة حامض الكلافيولانك له زادت كفاءته وهذا عكس ما لوحظ في الدراسة اذ اعطيا كلاهما مقاومة تامة (١٠٠%) من قبل عزلات Staph. aureus حيث ان ألية مقاومتها لا تختلف عن الية مقاومة المضادات الاخرى من خلال تغيير موقع الهدف لمضاد البيتالاكتام 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% فأن نتائج Al-Hamdani & Hamad (2012) جائت مطابقة لنتائجنا اذ حصلا على نسبة مقاومة لعزلات Staph. aureu اتجاه هذا المضاد بلغت ٩٥,٨٣%، اذ ان هذه العزلات اخذت من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى في مستشفى مدينة البصرة.

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

كما ان المقاومة المتوسطة لعزلات Staph. aureus اتجاه مضادي ألـ 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 الخضيري (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 للارثرومايسين بلغت ٤٦,٥% و ٢٠% و ٣١% وعلى التوالي اضافة الى الدراسات الاخرى التي بينت ان غالبية عزلات Staph. aureus اظهرت مقاومة ضعيفة للارثرومايسين (Onche & Adedeji, 2004).

وان من الشائع مقاومة Staph.aureus لمركبات الماكروليدات Masrolides التي من ضمنها الارثرمايسين ؛ اذ تنشا المقاومة من خلال انتاج انزيم RNA methylaseالمشفر

بوساطة مورثة erm(Jorgensen et al.,2004), وادرج الارثرومايسين ضمن قائمة المضادات الحيوية التي تجابه بمقاومة عالية من قبل بكتريا staph.aureusحيث وصلت نسبة المقاومة في بعض السلالات الى ١٠٠%(Leclercq,2002) وهي اعلى من نسبة المقاومة لمركبات الماكروليدات .

اما مقاومة العزلات المدروسة لمضادي الCephalothin و Cefotaxime بنسبة٥٢,٣٨ % لكل منهما على التوالي فكانت مقاربة لما حصل عليه البديري (٢٠١٠) من مقاومة للمضادين بلغت ٧٨,٧% و٥٧,٥% على التوالي ولم تتفق مع Rajalakshmi & Amsaveni(٢٠١٢) اللذين حصلا على مقاومة تامة (١٠٠%) ابدتها عزلات Staph.aureus اتجاه هذين المضادين .

الخاتمة

الخاتمه

حسب الدراسة التي اجريت في مستشفى الديوانية التعليمي والتي شملت (٥٠) شخص (٢٥) شخصاً مصاب بداء السحري و (٢٥) شخصا غير مصاب بداء السكري وجد ان بكتريا Staph. aureus تعد المسبب الاكثر شيوعا في هذه الدراسة وربما يعود ذلك الى تواجدها كنبيت طبيعي في الجسم (Novak, 2000) باعتبار ان الجلد يعد موطنا 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 Nosocomail infection فتكون بذلك نسب حدوث الاصابات والاخماج الجلدية في مناطق الجسم المختلفة متأثرة بشكل او بأخر بنسب الاستيطان والاستعمار وبمقدار ما تمتلكه البكتريا من عوامل الضراوة ومستوى الحالة المناعية للاشخاص الاصحاء 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 التراكيز 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'Riodan & Lee) كذلك قدرتها على تحمل درجات الحرارة الواطئة التي قد تصل الى ١٠م (MacFaddin, 2000).

وكلما ارتفعت نسبة الاستعمار البكتيري للمرضى ازدادت لديهم نسبة الخطورة للاصابة بالاخماج العنقودية ولا سيما مرضى السكري (Cespedes et al., 2005). ويمكن عد النسسبة في دراستنا ضمن نطاق النسب المتعارف عليها؛ لكون بكتريا Staph. aureus غالبا ما تستوطن المستشفيات استيطانا 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).

المصادر

المصادر References

١- المصادر العربية :

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

٢- المصادر الاجنبية :

- Abbott،C.J. (2003)
- Abdel-Haleem،A.M. (2003)
- Ahmed،R.G. (2005)
- Al-Hamdni.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)
- Barun. 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 (Diabtese Blue Circule Symbol) (2006)
- Franklin . T . J . And Snow . J . A . (2005)
- Garritty . G . M . (2007)
- 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)
- Nester et al . (2001)
- Novak . (2000)
- Onche and Adedeji. (2004)
- Zasshi . (2004)