

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم

قسم علوم الحياة

دور Staphylococcus.aureus في احداث التقيحات

في الجروح والحروق

بحث مقدم الى كلية العلوم – جامعة القادسية وهي الجزء من متطلبات نيل

شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالبة

هدى محمد عباس

باشراف الاستاذ

ديار خليف فليفل

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

((قل رب اشرح لي صدري * ويسر لي امري *

واحلل عقده من لساني * يفقهوا قولي))

صدق الله العظيم
طه/الاية (٢٥)

الاهداء

الى.....

الزهرة التي لا تذبلالتي ساندتني و وقفت الى جانبي حتى وصلت الى هذه المرحلة من
التقدم والنجاح ...الى من تعجز الكلمات عن وصفها وتسكت امواج البحر لسماع اسمها
.....الى امي

ملائكة الارضشقائق النعمان.....الذي احتضنوني وزرعوا الورد في
طريقي..... الى اشقائي

الى الذين رفعوا رايات العلم والتعليم واخمدوا الجهل والتجهيل الى اساتذتي الافاضل واخص
بالذكر (م.ديار خليف فليفل)

اهدي ثمرة جهدي المتواضع

شكر وتقدير

بسم الله الرحمن الرحيم

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين خير خلق الله ابي القاسم (محمد)
وعلى اله الطيبين الطاهرين

لا يسعني وانا انهي بحثي الا ان اشكر الله واحمده على ما امدني به من قوة وعون لكي انهي
هذا البحث ويسعدني ويشرفني ان اتقدم بجزيل الشكر وعظيم الامتنان الى استاذي المشرف
(م.ديار) لما قدمه لي من مساعدة ودعم لاكمال بحثي فجزاه الله عني كل خير

ومن دواعي العرفان بالجميل ان اتقدم بالشكر والامتنان الى جميع زميلاتي وزملائي واتمنى
لهم الموفقية والنجاح الدائم

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة في مركز الحروق التخصصي في الديوانية للكشف عن دور S.aureus في احداث التقيحات في الجروح والحروق .

حيث جمعت العينات من مناطق مختلفة من الجسم وزرعت المسحات على اوساط زرعية ملائمة للعزل والتشخيص.

اخرت قابلية العزلات المشخصة S.aureus على الاختبارات الكيموحيوية , مثل اختبار الكتاليز واختبار الانزيم المخثر للبلازما .

حيث اظهرت نتائج الفحوصات الزرعية نتائج ايجابية في سبعة عينات من اصل ٢٥ عينة في حين كانت البقية سالبة للفحوصات.

حيث اظهرت البكتريا المكورة العنقودية الذهبية قدرتها على النمو واختراق اجهزة الجسم بسبب امتلاكها للعديد من الانزيمات والذيفانات .

وتسبب الاخماج الاولية مثل الدامل واخماج المستشفيات.

الفصل الاول

المقدمة

تضم المكورات العنقودية الكثير من الانواع الممرضة للانسان والحيوان على حد سواء ,وتعد S.aureus من اهم الانواع الممرضة للانسان واكثرها شيوعا وهي مسؤولة عن مدى واسع من الامراض مثل الدمامل والخراجات المختلفه وخراجات الجروح الناتجة من العمليات الجراحية والتهاب الجلد والانسجة الرخوة والاصابات الناتجة من الذيفانات مثل متلازمة الصدمة الذيفانية ومتلازمة الجلد الحرشفي والتسمم الغذائي (omoe et al .,2002) تعود امراضية هذه البكتريا وقدرتها على غزو نسيج المضيف وانتشارها فيه الى امتلاكها الكثير من عوامل الضراوة مثل انتاجها الذيفانات والانزيمات التي تساعد البكتريا على احداث الاصابة (Brooks at al .,1998) اذ تملك البكتريا القابلية على انتاج الانزيمات خارج الخلية مثل الانزيم المخثر لبلازما الدم الذي يملك القدرة على تثبيط عملية البلعمة . وايضا تعمل على انتاج ذيفانات محللة للدم الى جانب انتاجها ذيفانات معوية مسببة تسمما غذائيا (Ryan and Ray ,2004), كما انها تملك محفظة تساعد في مقاومة البلعمة (oRyan and Lee,2004) بالاضافة الى امتلاكها جدار الخلية الذي يعد تركيبا انتيجيا لاحتوائه على التراكيب الانتيجينية (الببتايدوكلايكان ,حامض التايكويك ,بروتين A) ويعمل جدار الخلية على مقاومة الجهاز المناعي للمضيف ويشكل حماية اوزموزية للخلية البكتيرية (Mckinney at al .,2004).

وتكون المكورات العنقودية تحت المجهر مرتبة بشكل عناقيد العنب غير منتظمة تنمو في العديد من الاوساط الزرعية منتجة مستعمرات بصبغات مختلفة تتدرج بين اللون الابيض والاصفر الداكن والذهبي (Ryan and Ray ,2004)وتعد موجبة للكثاليز كصفه تفرقية عن جنس Streptococcus (Macfaddin ,2000).

ان معظم انواع المكورات العنقودية تتواجد بشكل تعايشي في الانسان على الجلد وفي الاغشية المخاطية وبعض السلالات الاخرى تسبب خراجات سطحية واصابات داخلية ,تعد المكورات العنقودية الذهبية S.aureus من اوسع انواع المكورات العنقودية امراضية للانسان وتتميز عن بقية انواع المكورات بكونها موجبة لانزيم مخثر بلازما الدم (Coagulause).....(Collee at all.,1996) .

تعد بكتريا S.aureus من اوسع انواع المكورات العنقودية امراضية للانسان وتتميز عن بقية انواع المكورات بكونها موجبة لانزيم مخثر بلازما الدم , وتعرف المكورات الكورات العنقودية على انها خلايا كروية الشكل قطرها 1مايكروميتر تقريبا موجبة لصبغة غرام غير متحركة , غير مكونة للسبورات وعادة مكونة للمحفظة (Kenneth ,2002 ,Humpherys ,1997) وذات مستعمرات كبيرة صفراء على الاوساط الغنية حيث تظهر مستعمراتها دائرية رقيقة ذات سطوح

لماعه يصل قطر المستعمرة الواحدة (2-3) ملليمتر وتصطبغ بلون ذهبي مصفر ولها القابليه على تحلل الدم في وسط اكار الدم Blood agar . ومعيشة هذه البكتريا هوائية او لا هوائية اختياريه او بواسطة التخمر منتجة حامض اللاكتيك (Kenneth , 2005) ولكنها تنمو بشكل افضل في الظروف الهوائية وتنمو بسهولة في العديد من الاوساط الزرعية بدرجات حرارية مثلى (30-37)م (Ryan and Ray ,2004) .

تعطي البكتريا المكورة العنقودية نتائج موجبة لاختبار انزيم مخثر البلازما الحر ,وانزيم محلل
الدنا ,والفوسفاتيز والجيلاتينيز وسالبة لفحص الاوكسيديز (Macffaddin, 2000)

تستطيع S.aureus العيش في الظروف الرطبة الرطبة والجافة مثل التسخين في درجة حرارة
60 م مدة ٣٠ دقيقة كما تقتل بوساطة الفينولك والهايوكلورات والهيكساكلوروفين و (Collee
1992 , at al .) كما تستطيع النمو في اس هيدروجيني واسع (8,4-9,4) ويعد PH هو الامثل
للنمو ان هذه الصفات وغيرها جعلت لها القدرة على البقاء في عينات القيح الجاف واللعاب
لمدة اسابيع

(Brooks et al .,2001 ; Brooks et at .,1998)

تتعايش بكتريا S.aureus بصورة طبيعية على الجلد والممرات التنفسية والاعشية المخاطية
,ومعظم سلالاتها ممرضة للانسان
(Irind 2005 ; Kenneth ,2002 Irind et al , 2005 ;Kenneth,2002) .

Virulence factors عوامل الضراوة

تكمّن الأهمية السريرية لبكتريا S.aureus في كونها تمتلك العديد من عوامل الضراوة والتي تعطيها القدرة على النمو والتكاثر وغزو أنسجة المضيف وبذلك فهي تسهم بصورة كبيرة في امراضيتها وفيما يلي أهم تلك العوامل.....

١_ المحفظة Capsule

٢_ الببتيدوكلايكان وحامض التيكويك Peptidoglycan and Teichoic acid

٣_ بروتين A Protein A

٤_ الأنزيم المخثر للبلازما Coagulase

٥_ عوامل التكتل Clumpinkg factor

٦_ أنزيمات البيتا لاكتيميز

٧_ البروتينات الرابطة للفايبرونكتين

٨_ الذيفان القاتل لكريات الدم البيض

(Zadik et al ., 2001 ; Rochon –Edouard et al., 2000)

امراضية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

Pathogenesis of S.aureus

تعد جرثومة S.aureus من اشد وانواع المكورات العنقودية في امراضيتها على الرغم من كونها جزءا من النبيت الطبيعي للجلد والانف والبلعوم والقناة الهضمية والتناسلية للانسان (todar ,2000) وتمتلك ايضا القدرة على احداث اخماج انتهازية تتفاوت بين اخماج الجلد البسيطة نسبييا الى الامراض الجهازية المهددة للحياة (Levinson and Jawetz , 2000).

وبسبب امتلاكها العديد من المستضدات السطحية والانزيمات والذيفانات تستطيع اختراق
انسجة الجسم بقوة (Zadik et al .,2001)

.....

وتعد S.aureus من اهم مسببات اخماج المستشفيات ومن المسببات الرئيسية لآخماج الجروح والحروق ,تكتسب اخماج المجتمع تلقائيا بوساطة السلالات المحمولة في فتحتي الانف او على سطح الجلد او كليهما ,اما اخماج المستشفيات يمكن ان تحدث من خلال اكتساب خلية مفردة من سلالات S.aureus الشائعة الوجود الوجود لدى المرضى الذين خضعوا لعمليات جراحية او المرضى المصابين بتلك البكتريا (Bratu et al ., 2003)

ومن اهم مصادر انتشار الاخماج هم المرضى المصابين بالتقرحات المخمجية التي قد تنتقل مباشرة الى المرضى الاخرين عن طريق ايادي الاشخاص العاملين في المستشفى , وتعد المستشفيات مصدرا رئيسيا للاصابات الشديدة التي تتحول بعد حصول عملية الشفاء الى حالات
كامنة

الفصل الثاني المواد وطرق العمل

الاجهزة والمعدات المختبرية المستخدمة

اسم الجهاز	ت
موصدة Autoclave	١
مجهر ضوئي	٢
فرن كهربائي	٣
حاضنة	٤

ثلاجة	٥
ميزان الكتروني حساس	٦
الناقل الزراعي	٧
انبوبة اختبار	٨
اطباق بلاستيكية	٩
شرايح زجاجية وغطاء الشرايح	١٠
دورق مخروطي	١١
مازج	١٢
لهب بيرنر	١٣

جدول الاوساط الزراعية

الغرض من استخدامه	اسم الوسط الزراعي	ت
عزل وتشخيص البكتريا الموجبة لصبغة كرام والسالبة لصبغة كرام	وسط اكار الدم	١
لعزل وتشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية	وسط المانتول الملحي	٢

جدول الاختبارات الكيموحيوية

الغرض من استخدامه	الاختبار	ت
للكشف عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية حيث تتم اضافة قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين وبالتالي حصول تفاعل نتيجة تحرر فقاعات من غاز الاوكسجين	اختبار الكتاليز	١
للكشف عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية حيث تكون خثرة مع بلازما الدم	اختبار انتاج مخثر البلازما	٢

طرق العمل

نقلت العينات والمسحات المأخوذة من الحروق والجروح مباشرة الى المختبر وتم زرعها على وسط اكار الدم الصلب و وسط المانيتول الملحي حضنت المستنبتات في ظروف هوائية وفي درجة حرارة ٣٧م ولمدة ٢٤ ساعة وشخصت S.aureus اعتمادا على الصفات الزرعية والمجهرية والكيماوية للمستعمرات النامية على وسط المانيتول الملحي من حيث لون المستعمرات الذهبي وحجمها واما الاختبارات الكيماوية فقد وضعت مسحة من المستعمرات النامية على الشريحة موضوع فيها مسبقا قطرة من بيروكسيد الهيدروجين حيث نلاحظ تحرر فقاعه دليل على تحرر الاوكسجين والذي تقاومه البكتريا ويظهر كنتاج عرضي ,اما الاختبار الثاني هو اختبار التخثر او التلازن مع بلازما الدم .

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة والتوصيات

جدول النتائج

نتائج الاختبارات الكيموحيوية لـ ٢٥ عينة

ت	نوع الاختبار	عدد البكتريا الموجبة	النسبة المئوية
١	اختبار الكتاليز	١٠	%٤٠
٢	اختبار مخثر البلازما	٧	%٢٨
٣	اختبار المانيتول	٧	%٢٨

النتائج

اثبتت الدراسة الحالية عاندية ٧ عزلات الى جنس المكورات العنقودية الذهبية من خلال دراسة بعض الصفات الزرعية والمجهرية والفحوصات الكيموحيوية وكما يلي

١-الصفات الزرعية

ظهرت المستعمرات النامية على وسط المانيتول الملحي الصلب باللون الذهبي او الاصفر

٢- الصفات المجهرية

اظهرت نتائج الفحص المجهرى ان خلايا البكتريا المعزولة كروية الشكل ,عنقودية الترتيب ,موجبة لصبغة كرام ومكونة للمحفظة

المناقشة

- ١ . يعتبر ظهور وانتشار العدوى بالبكتريا في المستشفيات من الظواهر المحتملة
- ٢ . ان بكتريا المكورات العنقودية هي اكثر البكتريا شيوعا ضمن الاصابات
- ٣ . تعتبر التقيحات من الامراض الخمجية شديدة العدوى بالبكتريا المكورة العنقودية
- ٤ . ان الاصابات بالجروح والحروق معرضة بشكل رئيسي للاصابات بالبكتريا العنقودية
- ٥ . للبكتريا العنقودية الذهبية القدرة على احداث تقيحات على الجلد

التوصيات

نوصي من خلال هذه الدراسة بالتحري المستمر عن وجود بكتريا المكورات العنقودية الذهبية في

كل من المستشفيات , حيث من الممكن السيطرة على هذا النوع من البكتريا والتغلب على الاخطار الناتجه من الاصابة ,والاهتمام بالنظافة الشخصية وعدم استخدام ادوات الاخرين ,كما يجب على الدوام تنظيف وتطهير المستشفيات لانها المصدر الرئيسي للاصابة .

المصادر

- * Brooks , Gif. , Butel ,j.s .and morse .S.A. (1998) . Jawetz ,melinck and Adelberg Medical Microbiology .21ed Appleton and Lange ,Asimon and Schusler Co., Californiq.
- * Collee,I.G; Fraser, A.G.; Marmion ,B.P. and Simmons, A. (1996) Mackine and McCartney ,,Pracal Medical Microbiology,,14th ed, Churchill Livingston Ins., New York.
- *Kenneth,T. (2002) the bacterial flora of Human, University, of Wisconsin, Department of bacteriology
- * Kenneth., T. (2005) staphylococcus aureus. Tex book of bacteriology University of Wisconsin, Department of bacteriology.
- * Macffaddin, Y. f.(2000) Biochemical test for Identifisation of Medical Bacteria 3rd ed. I:ppicott Williams and Wilkins, USA.

* Mckinneu, T. K. ; Sharma, V. K.; Craig, W.A. ; and Arener ,G.L. (2001)

Transcript .on of the gene Med: ;ating Methiallin resistance in Staphylococcus aureus (MeCA) is Co repressed but not induced by coguat mecA and B-Lactams regulators . J.Bacteriol .183:6862-6868.

* Ryan, K. J. ; and Ray, C.G(2004). Sherris Med: cal Microbiology 4th ed. Mc Shinagawa, K(2002) Graw- Hill- New York

* Omoe, k.;Ishikawa , M. ;Shimoda ,Y. ;Hu,D,L;;Ueda,S.;and

Detection of seg ,she, or sei genes in Staphylococcus aureus isolates and deter mination of the entero toxin productivities of S.aureus isolates har boring seg ,she,or sei genes .J.clin .microbiol. 40:857 _862.

* ORidan, K, ; and Lee, J,C. (2004) Staphylococcus aureus Capsular poly saccharides. J.Clin. Misrobiol. Infect. Dis. 17(1): 218-234.

* Zadik, P. M. ;Davies, S. ; wtt:ttaker, S. and Muson, C.(2001) Evaluation of new selective medium for Methici- resistance Staphylococcus aureus. J. Med. Microbial 50:476-479.