وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية /كلية العلوم
قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص البكتريا المسببة لالتهاب المجرى البولي لدى الاشخاص المصابين بحصى الكلى ومدى مقاومتها لبعض المضادات الحياتية

بحث تخرج مقدم الى
كلية العلوم-جامعة القادسية كجزء من متطلبات نيل شهادة
البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالبة
تماضر مجيد حسين
بأشراف
أ.م.د ميثم غالي يوسف

١٤٤٠هـ ٢٠١٩م

بسم الله الرحمن الرحيم

((يرفع الله الذين امنوا منكم والذين أوتوا العلم درجات والله بما تعملون خبير))

صدق الله العظيم

سورة المجادلة (الآية ١١)

الاهداء

الى من كانت ولا زالت سندا لي . . . . . وما توفيقي الا بدعائها ونجواها مع الله

تلك التي جعل الله عز وجل عظمة جنته تحت قدميها . . . . . أمي الغالية

الى من كان ولا زال مساعدي وقدوتي . . . . . ذلك الذي تكبد عناء الأيام لإيصالي لما انا عليه الان

ذلك الذي كان رفيقي قبل ان يكون ابي . . . . . والدي العزيز

الى كل من وقف معي وساندني . . . . . .

الى اصحابي بالله ومن ساندني حبا بالله . . . . . .

اهدي هذا العمل الى كل من وقف معي عرفانا واحتراما

الشكر والتقدير

اشكر الله تعالى على نعمة العقل والتعلم . بدأنا بأكثر من يد وقاسينا أكثر من هم وعانينا الكثير من الصعوبات وها نحن اليوم والحمد لله نطوي سهر الليالي وتعب الأيام وخلاصة مشوارنا بين دفتي هذا العمل المتواضع .

أتقدم بخالص شكري وامتناني الى عمادة كلية العلوم / رئاسة قسم علوم الحياة في جامعة القادسية لأتاحتهم الفرصة لي لإكمال البحث، كما أتقدم بخالص الامتنان الى اساتذتي الكرام .

وبالأخص الأستاذ الفاضل ((ميثم غالي يوسف)) للمساعدة السديدة والملاحظات الدقيقة التي لولاها لما اكتمل البحث .

كما اشكر زملائي وزميلاتي للأيام الجميلة التي قضيناها معاً والى كل من ساعدني في معلومة او نصيحة .

لكم مني كل الحب والتقدير .

الخلاصة

هدفت الدراسة الى معرفه مسببات التهاب المجرى البولي لدى المرضى المصابين بالحصى حيث تم جمع ٥٠ عينة ادرار لمرضى لديهم حصى في المجاري البولية قسمت الى ٣٠ عينة للنساء و٢٠ عينة للرجال واستخدمت الاوساط (Blood agar, Mackoky agar) في زراعة العينات بطريقة التخطيط على الاوساط وبعد فتره الحضن تم الحصول على ٢٠ عزلة قسمت الى ١٧ عزلة سالبة لصبغة جرام و٣ عزلات موجبة. وامتدت الدراسة من شهر كانون الثاني ٢٠١٨ لغاية اذار ٢٠١٩ حيث بينت نتائج البحث ان النساء اكثر اصابة البكتيريا (Escherichia coli) المسببة لالتهاب المجاري البولية من لديهم حصى في المجاري البولية حيث كان مجموع العزلات المأخوذة من النساء ١٦ من اصل ٢٠ بنسبه بلغت ثمانين بالمئة في حين كان عدد العزلات المأخوذة من الرجال ٤من اصل٢٠ بنسبة ٢٠ % كذلك بينت الدراسة من بكتيريا E.coli هي المسبب المرضي الاكثر انتشارا لدى المرضى المصابين بالحصى حيث بلغت عزلات E.coli ٩ من أصل ٢٠ بنسبة ٤٥% في حين كانت بكتريا Proteus mirabilis في المرتبة الثانية بواقع ٤ عزلات من أصل ٢٠ بنسبة ٢٠% في حين كانت بكتريا Staphylococcus spp في المرتبة الثالثة بواقع ٣عزلات بنسبة ١٠% في حين كانت بكتريا (Klebsiela) في المرتبة الرابعة بواقع عزلتين بنسبة ١٠%في حين كانت بكتريا (Proteus, Salmonella) في المرتبة الاخيرة بواقع عينة من أصل ٢٠بنسبة ٥%

واستخدمن طريقة الانتشار بالأقراص Diffusion method of sensitivity testing

حيث استخدم ١٠مضادات حيوية للبكتريا السالبة لصبغة غرام و٧ مضادات حيوية للبكتريا الموجبة لصبغة غرام واعتمد ع قياس قطر منطقة التثبيط (بالملليتر) وقورنت النتائج. اذا كانت البكتريا حساسة s او مقاومة R حسب المواصفات العالمية الواردة في (CLSI,2017) اذ اظهرت نتائج البحث كفاءة بعض المضادات بالعمل على قتل وتثبيط نمو البكتريا من حيث اعطت بعض المضادات نسب تثبيط ضئيلة تجاه الانواع المعزولة.

اذ اعطى مضاد (Ciprofluxalin) اعلى نسبة تثبيط بلغت ما يقارب ٧٥% في البكتريا السالبة لصبغة غرام كذلك كان مضاد (Ciprofluxalin) هو الاعلى في التأثير على البكتريا الموجبة بنسبة بلغت ١٠٠%

في حين كان مضاد Trimethoprim اقل المضادات تأثيرا بنسبة بلغت صفر %في البكتريا السالبة وكان مضاد pencillin الاقل تأثيرا ع البكتريا الموجبة بنسبة بلغت صفر %

وتراوحت المضادات الاخرى بين هذه النسب وكما مبين الجداول المرفقة في البحث

المقدمة

يعد الجهاز البولي والمكون من الكليتين والمثانة والحالبين ومجرى الاحليل من الاجهزة المهمة في جسم الانسان لطبيعة العمل الذي يقوم به في تنقية الدم من المواد الضارة والمواد الفائضة عن حاجة الجسم والتخلص منها ع شكل ادرار وبعد الادرار ومواصفاته ومحتوياته ومؤشرات جيدة تعكس الحالة الفسلجية الطبيعية والمرضية بالاضافة الى وظائف الكلية الاخرى في حفظ التوازن الطبيعي لسوائل الجسم. وتعد اخماج المسالك البولية احدى مشاكل الصحة التي تصيب نسبة كبيرة من افراد المجتمع البشري تقدر بالملايين سنويا. وفي نفس الوقت تعد هذه الاخماج من اكثر الاصابات المكتسبة في المستشفيات. تمثل هذه الاخماج الاكثر شيوعا ضمن الاخماج البكتيرية عادة ما يصاب بها الشخص ومن كلا الجنسين خلال فترة حياتهم لتشمل العديد من الحالات السريرية التي تتراوح من جرثمة بولية. اخماج المثانة. اخماج غدة البروستات الى اخماج حويض الكلى. عادة ما تكون اخماج الذكور الشباب نادرة ومعقدة وكثيرا ما تعزى الى وجود تشوهات في الجهاز البولي. في حين يكون اكتسابهم الى اخماج غير معقدة ناتجا عن اتصال جنسي غير محمي مع مصابين. تشير معظم المصادر الى ان هنالك اتفاق بين مختلف الباحثين بأن ممرضات المسالك البولية المكتسبة من الى مصدر هي البكتريا السالبة لصبغة غرام وكانت بكتريا E.coliهي الاكثر سيادة في اغلب الحالات اذا شكلت حوالي ٨٠%-٩٠% من جميع حالات اخماج المسالك نسبه حدوث خمج المسالك البولية تأتي بالدرجة الثانية بعد خمس المسالك التنفسية العليا لكن نسبه الوفاه بها اعلى اذا ان ثلث المرضى الذين يتوفون سنويا بسبب الفشل الكلوي تكون لديهم اصابه مسبقه بUTI.

النساء يكون اكثر عرضه للإصابة بالخمج من الرجل بسبب الاختلافات التشريحية التي تؤدي الى زياده فرصه صعود الممرضات البولية الى القناه البولية وبالتالي حدوث الخمج انا الاستعمال الواسع وغير مدروس للمضادات الحيوية قد زاد المشاكل الاصابات بإخماج المسالك البولية اذ ان نشوء المقاومة للمضادات الحيوية يعتبر من المشاكل التي تواجه المجتمع الطبي فضلا عن كونها خطرا كبيرا يهدد الصحة العامة ويعود السبب في ذلك الى ان استمرار تعاطي هذه المضادات ولفترات زمنية طويلة ادى الى ظهور حالة المقاومة لدى البكتريا وبتالي ظهور سلالات ذات تحمل عال للمضادات الحيوية)(Brooks,et.al,2007) ,Fagade (Pitout, J. ; & Laupland, K. 2008)

وان اغلب المسببات لالتهاب المسالك البولية يكون سببها البكتريا السالبة لصبغة غرام مثل بكتريا P.mirabili, E.Coliوانواع اخرى. واشارت الدراسة التي اجراها خلف كاظم ٢٠١٢ الى ان بكتريا .p.mirabili مسؤولة عن (٨٥'١١%) من اصابات المسالك البولية كما بين ان نسبه عزل هذه البكتريا من النساء على من الرجال

وتوجد هنالك الاخماد المسالك البولية المعقد الاصابات البكتيرية السالبة لصبغة جرام للمسالك البولية غالبا ما يكون مترافق مع خمج المسالك البولية المعقدة اضافة الى ترافقه مع التشوهات التركيبية في القناة البولية والانسدادات والتشوهات الولادية & ;.Pospiech, A (Neuman, L. 1995) وهذا النوع من الاخماج صعب العلاج باستعمال من المضادات الحيوية. بسبب وجود البكتيريا داخل القوالب (Brenner, et al,2004) و اخماج المسالك البولية السفلى Lower U.T.I يتضمن كل من خمج المثانة وخمج الاحليل

(Brooks,et.al,2010) ويشكو مرضى خمج المثانة من مجموعة اعراض تتضمن عسر التبول وكثرة عدد مرات التبول والحاجة. للتبول والم فوق منطقة العانة (*Pecet, et al,2005)*

المضادات الحيوية

المضاد الحيوي هو مصطلح يدل على مواد عضويه ومنتج من قبل الكائنات المجهرية التي يمكن ان تستعمل جهازيا اما لقتل او تثبيط تضاعف الميكروب بغض النظر عن اصله والمضادات الحيوية هي جزء من النواتج الطبيعية والتي تعرف بالنواتج الأيضية الثانوية.

ان المضادات الحيوية اهميه كبيره في حياه الانسان وتكمن بتقليل الاصابات المرضية .ومن ثم تقليل الوفيات وعند اختيار نوع المضاد الحيوي الملائم في العلاج لا بد من مراعاه عدد من العوامل التي تؤدي دور المهم اهمها الحالة السرية للمريض والجرعة اللازمة و تكون المضادات الحيوية ذات سمية اختيارية البكتيريا وتقصد بها ان المضاد الحيوي يكون ضار المسبب للمرض بدون ان يكون مؤثر على خلايا المضيف فهي اما ان تكون قاتله للبكتيريا فتسمى او قد تكون وقف للأمهات في الجسم بدون ان تسبب الاذى الخلايا المضيف عن المضادات الحيوية من نوع القاتلة تسبب تحلل المسبب المرضي وتقتله أي انها تعمل على تلف مباشر في احد المكونات المهمة من البكتريا، اما المضادات الحيوية الموقفة لنمو البكتريا فإنها تعمل على تثبيط التضاعف البكتيري وذلك بارتباطها مع التراكيب اللازمة لانقسام الخلية (Pitout, J. ; & Laupland, K. 2008) يشفر لمقاومة المضادات الحيوية بواسطة جينات يمكنها الانفصال بينما البكتريا بواسطة احد الميكانيكيات الثلاثة الاقتران، التحول والتوصيل بالعاثيات (Pospiech, A.; & Neuman, L. 1995) وتحمل الكثير من جينات المقاومة للمضادات الحيوية على البلازميدات مما يسهل من عملية انفصالها بين الخلايا البكتيرية (kieser et al,2007) ويطبق على البكتريا التي تحمل عدة جينات مقاومة بمتعددة المقاومة للأدوية Multi Drugs Resistant (MDR) (*Quinn* et al,2002) وبصورة عامة تقع آلية عمل المضادات الحيوية تحت أربعة بنود رئيسية هي:

-تثبيط بناء جدار الخلية

-تثبيط وضيفة غشاء الخلية

-تثبيط بناء البروتين (مثلا تثبيط عملية الترجمة والاستنساخ للمادة الوراثية)

-تثبيط بناء الاحماض النووية

المواد وطرق العمل

١-عزل البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية لدى المصابين بالحصى

٢-تشخيص البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية باستخدام وسط الماكونكي والاختبارات البايوكيميائية Biochemical test والصفات المظهرية والمجهرية

٣-استخدام العدة الجاهزة المخصصة لتشخيص البكتريا السالبة للعائلة المعوية (api 20E) لتأكيد التشخيص

٤- استخدام العدة الجاهزة المخصصة لتشخيص البكتريا الموجبة للعائلة المعوية (api staph) لتأكيد الفحص

٥-اختبار مدى مقاومة البكتريا المسببة لالتهاب المجاري البولية لبعض المضادات الحيوية

جدول رقم (١) **المضادات الحيوية المستخدمة**

ت	اسم المضاد	الرمز	التركيز	S	I	R
١	Amikacin	AK	30 mcg	≥17	15-16	≤14
٢	Nitrofurantion	NIT	300 mcg	≥17	15-16	≤14
٣	Pipracillin	PI	100 mcg	≥21	18-20	≤17
٤	Trimethoprim	TM	5µg	≥16	11-15	≤10
٥	Gentamicin	GEN	10 mcg	≥15	13-14	≤12
٦	Chloramphenicol	C	30 mcg	≥18	13-17	≤12
٧	Cefepim	CFP	30µg	≥18	15-17	≤14
٨	Ceftriaxone	CTR	30µg	≥23	20-22	≤19
٩	Ciprofluxalin	CIP	5 mg	21	16-20	14
١٠	Pencillin	P	10 unit	29	-	28

المحاليل

١-محلول الملح الفسلجي normal salin حضر باذابة ٥,٨ غرام من Naclفي كمية قليلة من الماء المقطر ثم كمل الحجم الى اللتر ثم عقم بالموصدة (autoclave) بدرجة ١٢١ م وضغط ١٥ باوند/انج^{٢} ولمدة ١٥ دقيقة

٢-تحضير الاوساط الزرعية

حضرت الاوساط الزرعية الجاهزة بحسب تعليمات الشركة المصنعة واستخدم في هذا البحث الاوساط المبينه في الجدول التالي :

جدول رقم (٢) الأوساط الزرعية المستخدمة

ت	اسم الوسط		الغرض من استخدامه
١	وسط اكار الماكونكي	MacConkey agar	استعمل بوصفة وسطا اختباريا للبكتريا السالبة لصبغة غرام وللتفريق بين المستعمرات المخمرة للاكتوز من غير المخمرة
٢	وسط اكار المولر هنتون	Muller-Hinton agar	استعمل لإجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية
٣	وسط ماء الببتون	Peptone water	استعمل للكشف عن حلقة الاندول
٤	وسط استهلاك السترات	Citrate utilization	استعمل للكشف عن البكتريا المخمرة للسترات بوصفة مصدرا وحيدا للكاربون
٥	وسط كلكلر	Kliglar-iron agar	استعمل لتمييز البكتريا على اساس انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين وتخمر السكريات
٦	وسط احمر المثيل-فوكس بروسكاور	MR-VP media	استعمل لإجراء اختباري احمر المثيل واختبار فوكس بروسكاور
٧	وسط الدم	Blood agar	استعمل لتنمية البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام

طرائق العدوى

هناك ثلاث طرق محتملة من قبل البكتريا التي يمكن ان تغزو المسالك البولية وهي : الطريق الصاعد والطريق الدموي والطريق اللمفاوي (**Raksha,**et al, 2003)

العوامل المهيئة للاصابة باخماج المسالك البولية

ان العوامل التي تعيق جريان الادرار وتفريغ المثانة البولية منه والعوامل التي تسهل اقتراب الكائنات من المثانة يكون عاملا مهيئا للاصابة بالخمج، اذا يرى الباحثون ان بقاء كمية في الادرار ٢-٣ مل يعد عاملا مهيئا لتكاثر الجراثيم (Ranjan et al ., 2010) . بينما هناك عوامل اخرى تؤدي الى الاصابة بالبكتريا وحدوث خمج المسالك البولية منها التغيرات في الضغط التناضحي وتركيز اليوريا في الادرار ، كذلك يؤدي تراكم السموم البولية المختلفة الى تثبيط خلايا الدم الدفاعية مثل الخلايا البلعمية بالاضافة الى الاليات المناعية الاخرى (Reinthaler et al ., 2010) وان نسبة كبيرة من اخماج المسالك البولية تدخل عن طريق الاحليل والمثانة ثم الحالب والكلى (Bashir et al ., 2000)

جمع العينات

جمعت عينات الادرار من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية او من يشك باصابتهم بالتهاب المسالك البولية وبحسب تشخيص الاطباء في مستشفى عفك اعام ومستشفى الديوانية التعليمي على مدى فترة امتدت من شهر كانون الاول ٢٠١٨ الى شهر آذار ٢٠١٩

حيث يطلب من المرضى جمع عينة الادرار في حاويات معقمة وذات استعمال واحد وتهمل القطرات الاولى من الادرار ونقلت الى المختبر لزراعتها مباشرة

زرع العينات

تم زرع العينات الماخوذه من المرضى مباشرة وبدون تاخير لضمان عدم تلوث العينات باستخدام (loop) على اوساط اكار الدم واكار الماكونكي ثم حضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة

تشخيص العينات Identification of isolation bacteria

شخصت المستعمرات النامية بالاعتماد على

a- الصفات المظهرية phenotypic characteristic

لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية من حيث اشكالها ، الوانها ، سطح المستعمرات ، ووجود روائح مميزة لها وقوامها وشفافيتها وتخمر اللاكتوز على سطح الماكونكي (Blanco et al.,2006)

b- التشخيص المجهري microscopic examination

فحصت مجهريا باخذ مسحة من المستعمرات البكتيرية النامية وتم تبيتها وتصبيغها بصبغة غرام حسب طريقة العمل المعتمدة من قبل الشركة المصنعة لملاحظة ترتيب الخلايا البكتيرية واشكالها وتفاعلها مع الصبغة .

c- الاختبارات الكيموحيوية biochemical test

اجريت مجموعة اختبارات لتشخيص البكتريا قيد الدراسة وهي كالتالي

- **اختبار الكاتليز catalase test :** نقل جزء من مستعمرة فتية بواسطة العيدان الخشبية الى شريحة زجاجية ثم اضيف قطرة من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز ٣% وتكون النتيجة موجبة بظهور فقاعات غاز الاوكسجين (Blanco, et al,1997)

- **اختبار الاوكسديز oxidase test**

نقل جزء من مستعمرة فتية بواسطة عود خشبي معقم الى ورقة ترشح مشبعة بكاشف الاوكسديز وان تكون اللون البنفسجي خلال ١٠ ثوان دليل على ايجابية الاختبار (Blanco, et al,1997)

- **اختبار تخمر السكريات وانتاج الغاز sugar fermentation & gas prodaction**

تعتمد على الانابيب الحاوية على وسط kliglar iron agar حيث يتم تلقيح انابيب هذا الوسط بالزلات بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل ويحضن لمدة ٢٤ ساعة بدرجة ٣٧ م البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز تظهرر لون اصفر في الأسفل فقط أو لون اصفر في الأعلى والأسفل إذا كانت مخمرة للسكروز.اللون الأسود يدل على كبريتيد الحديد الثنائي.

- **مجموعة اختبارات IMViC المكونة من :**

١ اختبار الاندول Indol test**

استخدم وسط ماء البيتون الذي لقح بجزء من المستعمرات البكتيرية النقية المراد اختبارها ثم حضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة بعد ذلك اضيف قطرات من كاشف كوفاكس الى كل انبوبة ولوحظ ظهور حلقة حمراء اللون دليل على ايجابية الفحص

وقـدرة البكتريـا علـى تحليـل الحـامض الامينـي تربتوفـان(Tryptophan) وانتـاج الاندول (Mac faddin 2000)

٢ اختبار احمر الميثيل Methyl Red Test**

اجـري الفحـص بتلقـيح الانابيـب الحاويـة علـى الوسـط الزرعـي MR-VP Medium بـالمزروع وحضـنت عنـد درجـة حـرارة ٣٧ م ولمـدة ٢٤-٤٨ سـاعة بعـد ذلـك تـم اضـافة قطـرات مـن كاشـف احمـر المثيـل وان ظهـور اللـون الاحمـر بعـد ١٥ دقيقـة دليـل علـى تخمر الكلكوز الكامل أي ان الفحص موجب (Collee et al,. 1996)

٣ اختبار فوكس بروسكور voqas-proskauer**

اجـري الفحـص بتلقـيح الانابيـب الحاويـة علـى الوسـط الزرعـي MR-VP Medium بـالمزروع وحضـنت عنـد درجـة حـرارة ٣٧ م ولمـدة ٢٤-٤٨ سـاعة بعـد ذلـك تـم اضـافة(٠,٦) مـل مـن كاشـف الفـا نفثـول و (٠,٢) مـل مـن محلـول هيدروكسـيد البوتاسـيوم الـى كـل انبوبـة . ان ظهـور اللـون الـوردي خـلال ٢-٥ دقيقـة دلالـة علـى ايجابيـة الفحـص التـي تشـير الـى التحلـل الجزئـي للسـكر وانتـاج مركـب اسـتيل مثـل كاربونيـل acetyl methyi-carbonyl

(Collee et al ., 1996)

٤ اختبار استهلاك السترات Citrate utilization**

لقـح وسـط simmon citrate المصـبوب بشـكل مائـل slant بجـزء مـن المسـتعمرة المـراد فحصـها وحضـنت بدرجـة ٣٧م لمـدة ٢٤ سـاعة ثـم اسـتدل علـى ايجابيـة الفحـص بتحـول لـون الوسـط مـن الاخضـر الـى الازرق دليـل علـى اسـتهلاك البكتريـا للسـترات كمصدر للطاقة (Collee et al ., 1996)

- **التشخيص باستخدام العدة الجاهزة api20E**

بعـد الحصـول علـى نتـائج باسـتخدام الاختبـارات الكيموحيويـة تـم تاكيـد النتـائج باسـتخدام api20E اذ يحتـوي هـذا الشـريط علـى٢٠ حفـرة خاصـة بالفحوصـات الكيموحيويـة وتتضمن طريقة العمل التالي:

أ- تحضير العالق البكتيري preparation of bacterial suspention

لقـح ٥ مـل مـن محلـول الملـح الفسـلجي normal saline بـ ١-٣ مسـتعمرة للحصـول على عالق

ب- تلقيح شريط api20E

باسـتخدام ماصـة نظيفـة وجافـة لقحـت حفـر الشـريط مـن خـلال ملـئ الحفـر بالعـالق البكتيـري وحسـب تعليمـات الشـركة المصـنعة للشـريط حيـث تمـلأ الحفـر بمقـدار ٠,١٢ مـل مـن العـالق فـي حـين بلغـت كميـة اللقـاح ٠,٢٨ مـل لانابيـب citrate & Vp &Gel واضـيف الزيـت المعقـم لانابيـب الاختبـارات التـي تحتهـا خـط وشـملت URE&ADH&LDC&ODC&H_2S

ج- حضن شريط api20E

وضـع الشـريط داخـل غطـاء خـاص مرفـق مـع العـدة ثـم حضـن بدرجـة ٣٧ م لمـدة ٢٤ ساعة

د- إضافة الكواشف Addition of reagent

- اضيف قطرة من كاشف TDA الى اختبار ازالة مجموعة الامين من الحامض

Tryptophan deaminase ~~تحول الى~~ اللون البني يدل على ايجابية النتيجة

- اضيف قطرة من كاشف james الى اختبار indol

Indol ظهور حلقة حمراء دليل على ايجابية التفاعل

- اضيف قطرة من كاشف VP1&VP2 على التوالي الى اختبار **voqas-proskauer**

voqas-proskauer ~~تحول اللون~~ الى اللون الوردي دليل على ايجابية التفاعل

- **اضيف قطرة من كاشف Nit1&Nit2 الى اختبار glucose**
-

Glucose ~~تحول اللون الى اللون~~ الازرق يدل على ايجابية النتيجة

ز- قراءة النتيجة reading of result

شخصـت البكتريـا مـن خـلال الشـفرة الرقميـة التـي تتكـون بعـد وضـع + او – بالاعتمـاد علـى ايجابيـة او سـلبية الاختبـارات الكيموحيويـة ضـمن شـريط api20E وشخصـت البكتريا باستخدام الدليل الخاص بـ api20E

- **اختبار فحص الحساسية antibiotic sensitivity test**

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الاقراص بالاعتماد على طريقة Buner وجماعتة ١٩٦٦ وتضمنت نقل ٢-٤ مستعمرات من البكتريا الى انبوب اختبار كعقم يحتوي ٥ مل من مرق تربتون الصويا المغذي وحضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٨ ساعات ، خفف النمو الحاصل باستعمال المحلول الملحي الفسلجي وتم مقارنة النمو مع انبوبة مقارنة ماكفرلاند ٠,٥ القياسية وغمست المسحة القطنية ونشرت البكتريا على اطباق وسط مولر-هنتون الصلب بطريقة النشر لاكثر من مره وباتجاهات مختلفة لغرض التاكد من نشر البكتريا المراد اختبار حساسيتها وضغطت اقراص المضادات الحيوية بواقع ١٠ اقراص في طبق قياسه ١٥٠ ملي متر والمسافة بين قرص وآخر ٢٠ ملي متر من مركز القرص الاول الى مركز القرص الثاني وحضنت الاطباق بدرجة ٣٧ م لمدة ١٨ ساعة ثم قيست اقطار التثبيط باستعمال الفيرنيا وقورنت مع القيم المذكورة في (CLSI 2017)

النتائج والمناقشة

كانت نتائج الفحوصات البايوكيميائية في هذه الدراسة كما موضح في الجدول التالي :

جدول (٣) يوضح نتائج الاختبارات الكيمو حيوية

رقم العينة	التشخيص	Gram stain	Catalase	Oxidase	Kliglar	urease	Indol	M-R	VP	Clitrate
١	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٢	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٣	Salmonella	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٤	Prot M.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve
٥	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٦	Staph.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٧	E.coli	-ve	+ve	+ve	K/A Gas&no H_2S	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve
٨	Prot M.	-ve	+ve	+ve	K/A Gas&no H_2S	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve
٩		-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve
١٠	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A No Gas& no H_2S	-ve	+ve	+ve	+ve	-ve
١١	Staph.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve
١٢	Prot M.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
١٣	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	-ve	-ve	+ve	-ve	+ve
١٤	Staph.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
١٥	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
١٦	E.coli	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
١٧	E.coli	-ve	+ve	+ve	K/A Gas&no H_2S	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve
١٨	Klebsiella	-ve	+ve	+ve	K/A Gas&no H_2S	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve
١٩	Prot M.	-ve	+ve	-ve	K/A Gas&H_2S	+ve	+ve	+ve	-ve	-ve
٢٠	Klebsiella	-ve	+ve	+ve	K/A Gas&no H_2S	-ve	-ve	-ve	-ve	+ve

نتائج api 20 E

تم تاكيد تشخيص العزلات في الدراسة باستخدام api 20 E بعد تشخيصها باستخدام نتائج الاختباررات الكيموحيوية والصفات المظهرية والمجهرية

ان بكتريا E.coli الاكثر شيوعا في هذه الدراسة والسبب في ذلك ان موطنها الطبيعي في القناة الهضمية ولتقارب المجرى البولي وفتحة الشرج في الاناث خصوصا ولقدرة هذا النوع من البكتريا على الانتقال الى المجرى البولي مسببة إصابات لدى المرضى المصابين بحصى الكلى كذلك لكون حصى الكلى تسبب تخدش جدران الكلى والمجاري البولية مسببة نزول كميات من الدم وهذا الدم يساهم في زيادة نمو البكتريا لكونه مادة غذائية غنية.

ووجد من خلال الدراسة ان اكثر مضاد تمت مقاومتة من قبل البكتريا السالبة هو مضاد Ticarcillin

في حين اكثر مضاد تمت مقاومته من قبل البكتريا الموجبة هو مضاد Penicillin

واقل مضاد مقاومة للنوعين من البكتريا هو مضاد Ciprofluxalin

وكانت نتائج فحص الحساسية للبكتريا السالبة كما موضح في الجدول التالي

جدول (٤) عزل وتشخيص البكتريا المسببة لالتهاب المجرى البولي لدى الأشخاص المصابين بحصى الكلى ومدى مقاومتها لبعض المضادات الحياتية

ت	المضادات	E.coli		Proteus merabilis		Klebsiella sp		Proteus. Vulgaris		Salmonella	
		العدد N=9	النسبة المؤية	العدد N=4	النسبة	العدد N=2	النسبة	العدد N=1	النسبة	العدد N=1	النسبة
١	AK	٤	%٤٤,٤	١	%٢٥	١	%٥٠	١	١٠٠ %	١	١٠٠ %
٢	C	٥	%٥٥,٥	٢	%٥٠	١	%٥٠	٠	%٠	١	١٠٠ %
٣	PI	٣	%٣٣,٣	٢	%٥٠	٢	١٠٠ %	٠	%٠	٠	%٠
٤	TM	٤	%٤٤,٤	٢	%٥٠	١	%٥٠	١	١٠٠ %	٠	%٠
٥	TI	٦	%٩٩،٩	١	%٢٥	٢	١٠٠ %	٠	%٠	٠	%٠
٦	CIP	٢	%٢٢,٢	١	%٢٥	١	%٥٠	٠	%٠	٠	%٠
٧	NIT	٤	%٣٣	١	%٢٥	١	%٥٠	٠	%٠	٠	%٠
٨	GFN	٩	%٥٥,٥	٤	١٠٠ %	٢	١٠٠ %	٠	%٠	١	١٠٠ %
٩	CEF	٤	%٤٤،٤	١	%٢٥	١	%٥٠	١	١٠٠ %	١	١٠٠ %
١٠	CEftria	٢	%٤٤،٤	٠	%٠	١	%٥٠	١	١٠٠ %	٠	%٠

كذلك كانت نتائج فحص الحساسية وقيمة المقاومة للبكتريا الموجبة كما موضح في الجدول التالي

جدول رقم (٥) نتائج فحص الحساسية للبكتريا الموجبة لصبغة كرام

ت	اسم المضاد	العدد N=3	النسبة المئوية
١	AK	٢	%٦٦،٦
٢	GEN	٢	%٦٦،٦
٣	TM	١	%٣٣،٣
٤	C	١	%٣٣،٣
٥	NIT	١	%٣٣،٣
٦	CIP	٠	%٠
٧	Pen	٣	%١٠٠

جدول رقم (٦) نسبة الإصابة حسب الفئة العمرية

الفة العمرية	عدد الاصابات	النسبة
١-١٠	١	%٥
١١-٣٠	٦	%٣٠
٣١-٥٠	١٢	%٦٠
اكبر من ٥٠	١	%٥
المجموع	٢٠	%١٠٠

جدول رقم (٧) نسبة الإصابة حسب الجنس

الجنس	عدد الاصابات	النسبة
ذكر	١٦	%٨٠
انثى	٤	%٢٠
المجموع	٢٠	%١٠٠

المناقشة

٥٠ عينة ادرار لمرضى مصابين بحصى الكلى قسمت الى ٣٠ عينة للنساء و٢٠ عينة رجال في محافظة القادسية للفترة من الى وتم الحصول على ٢٠ عزلة بكتيرية بعد الزرع

ظهر عند زرع العينات ان البكتريا السالبة لصبغة كرام سببت إصابة ب١٧ عزلة من اصل ٢٠ وان البكتريا الموجبة سببت إصابة ب٣ عزلات من اصل ٢٠

حيث بينت الدراسة ان بكتريا E.coli سببت اعلى نسبة إصابة بواقع ٩ عينات من اصل ٢٠ بنسبة بلغت ٢٠% في حين كانت بكتريا Proteus miribalis في المرتبة الثانية بواقع ٤ عزلات بنسبة بلغت ٢٠% في حين كانت بكتريا Staohylococcus spp في المرتبة الثالثة بواقع ٣ عزلات بنسبة بلغت ١٥% في حين كانت بكتريا Proteus /Salmonella vulgaris في المرتبة الأخيرة بواقع عينة من اصل ٢٠ عينة بنسبة ٥%

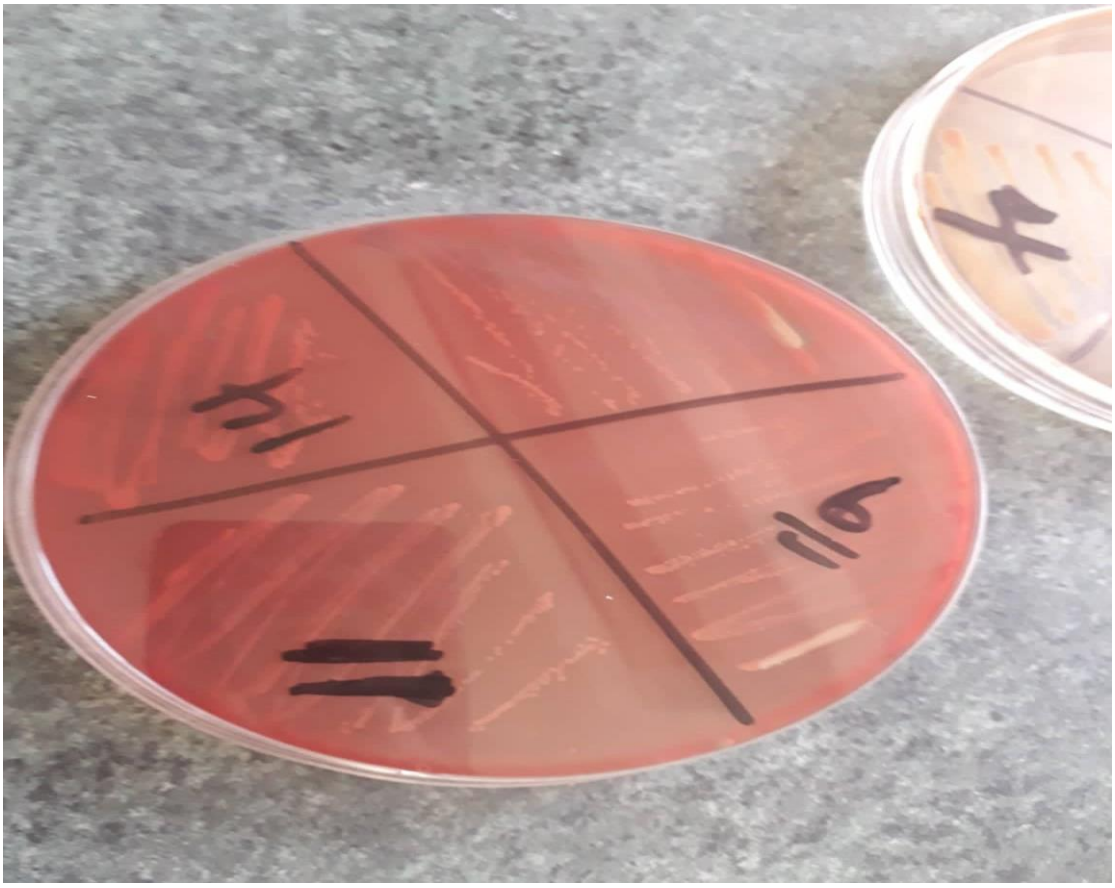
اذ اعطى مضاد (Ciprofluxalin) اعلى نسبة تثبيط بلغت ما يقارب ٧٥% في البكتريا السالبة لصبغة غرام كذلك كان مضاد (Ciprofluxalin) هو الاعلى في التأثير على البكتريا الموجبة بنسبة بلغت ١٠٠%

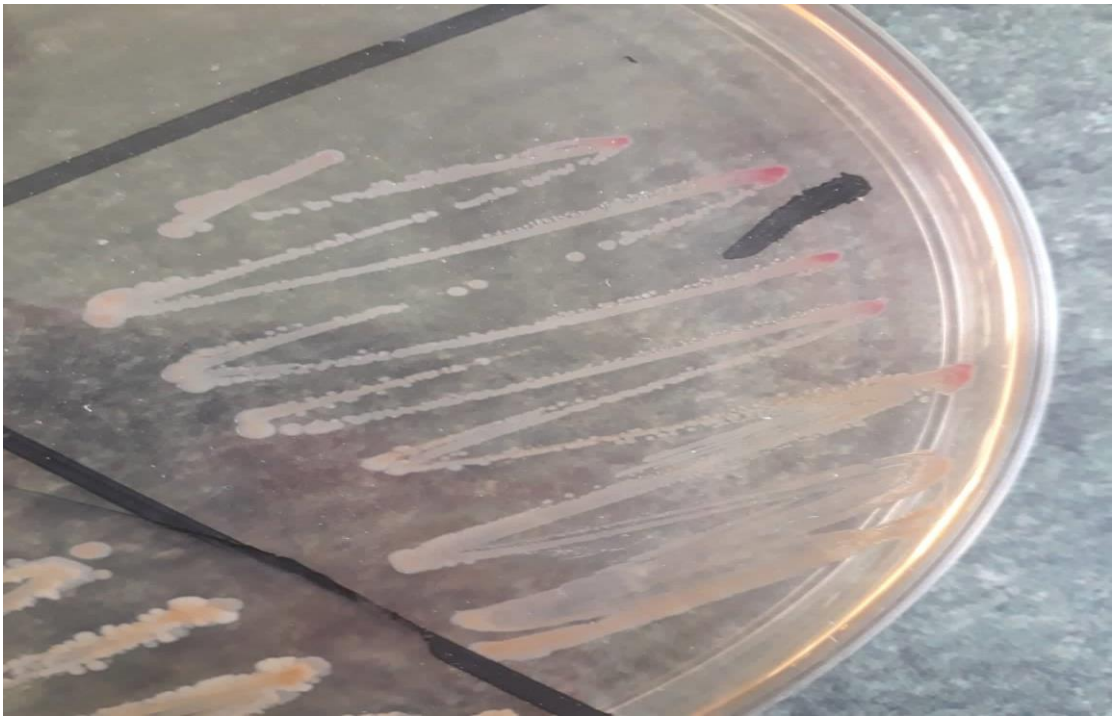
في حين كان مضاد Trimethoprim اقل المضادات تأثيرا بنسبة بلغت صفر %في البكتريا السالبة وكان مضاد pencillin الاقل تأثيرا ع البكتريا الموجبة بنسبة بلغت صفر %

وتراوحت المضادات الاخرى بين هذه النسب وكما مبين الجداول المرفقة في البحث

الصفات الزرعية

ظهرت مستعمرات البكتريا السالبة لصبغة كرام E.coli بشكل وردي (مخمرة لسكر اللاكتوز) على وسط الماكونكي في حين كانت بكتريا Salmonella & Proteus شاحبة اللون غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط الماكونكي.





صور توضح النمو البكتيري

الاستنتاجات

١-أظهرت الدراسة ان البكتريا السالبة لصبغة كرام واهمها E.coli مسؤولة عن نسبة عالية من التهاب المجاري البولية للمرضى المصابين بالحصى.

٢-بكتريا Staph spp مسؤولة أيضا عن نسبة من التهاب المجاري البولية لدى المرضى المصابين بالحصى

التوصيات

١- عدم الاستخدام العشوائي للمضادات دون استشارة طبية

٢- اجراء المزيد من الدراسات على هذا النوع من البكتريا لقدرتها العالية على مقاومة المضادات الحيوية وخصوصا ان هذه الانواع من البكتريا تسبب التهابات متعددة لجسم الانسان غير التهاب المجاري البولية

٣- ضرورة اجراء مسح دوري للمستشفيات ومراكز الفحص لمعرفة وتحديد مستويات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

٤- ضرورة عدم الاستخدام العشوائي للأدوية ومراجعة الطبيب الاختصاص عند الإصابة بالحصى والتهاب المسالك البولية

المصادر والمراجع

-Brenner, D.; Krieg, N. & Staley, J. (2004). Bergey's manual of systematic bacteriology. 2nd ed. Vol.2, The Proteobacteria. Part B.TheGammaproteobacteria. Springer:610.

-Brooks, G.; Butel, J.; Carroll, K. & Morse, S. (2007). Jawetz , Melnich & Adelberg's Medical Microbiology. 24h ed. McGraw-Hill, **New York. U.S.A.**

-Brooks, G.; Carroll, K.; Butel, J. ; Morse, S. ; Mietzner, T. (2010). Jawetz, Melnick & Adelberg's: Medical Microbiology. 25"ed. McGraw Hill, Lange.

-Pecet M.: Everson,J.: Pead, P. : & Clarke, I. (2005). The plasmids Chlamydia trachomatis and Chlamydophila pnumoniae (N16 Accurate determination of copy number and the paradoxical effect of plasmid-curing agents. Microbiology 151:893-903

-Pitout, J. ; & Laupland, K. (2008). Extended-Spectrum B-lacta producing Enterobacteriaceae: an emerging public health co Lancet. Infect. Dis. 8: 66-159.

-Pospiech, A.; & Neuman, L. (1995). Salting out procedure for the isol of genomic DNA.

-kieser, T. Norwitch, UK. Prashanth, S.: Singh, K.; Kanungo, R. ; & Sharma,2007 S. O Correlations between genotyping and antibiograms of isolates of Pseudomonas aeruginosa from three different *Indian hospitals. Indian J. Medical Microbiol.,28(2):103-107.*

-Quinn, P. ; Markey, B. ; Carter, M. ; Donnelly, W. ; & Leonard (2002). Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Black **Science, 137-143.**

-Raksha, R.; Srinivasa, H. ; & Macaden, R. (2003). Occurrence a Characterization uropathogenic Escherichia coli in urinary tract infections. Indian. J. Med. Microbiol. 21(2): 102-107.

-Ranjan, L. ; Dharini, K. ; & Singh, S. (2010). Identification cloning and *sequence analysis of Chitinase gene in Pseudomonas aeruginosa* isolated from fibrosis case, Biotechnol, 9:229-233.

-Reddy, K. (2010). Microbiology & Parasitology. Question & Answer review. 4"ed. PARAS Medical Publisher., p:58-189.

-Reinthaler, F. ; Feierl, G. ; Galler, H. ; Hass, D. ; Leitner, E. ; Mascher, F.; *Melkes, A. ; Posch, J.; Winter, I. ; Zarfel, G. ; & Marth, E. (2010). ESBL-producing Escherichia coli in Austrian sewage sludge. Water res., 44:1981-1985.*

-Bashir, S. ; Haque, A.; Sarwar, Y.; Ali, A. ; & Anwar. Virulence profile of different phylogenetic groups of loc community aquired uropathogenic E.coli from Faisala Pakistan. BioMed Central. 11(23). http://www.ann-clin microb.

-Blanco, M. ; Blanco, J. ; Alonso, M.; Mora, A. ; & Balsalobre, C. (1997) Detection of pap, sfa and afa adhesion - encoding operons in uropathogenic Escherichia coli strains : relationship with expression of adhesins and production of toxins. Res Microbiol , 148:745-55.

-Borriello, S.; Murray, P.; & Funke, G. (2005). Topley and Wilson's Microbiology and Microbiol infections 10E , Bacteriology, Vol.2. Edward Arnold (Publishers) L.td.