مجلة المثنى للعلوم الصرفة
AL-Muthanna Journal of Pure Sciences (MJPS)
VOL.(3)...NO.(1) 2016

انتشار بكتريا*Pseudomonas aeroginosa* لدى المرضى في ردهة الحروق في مستشفى الحسين التعليمي في مدينة السماوة

شيماء مجيد صادق
كلية العلوم /جامعة المثنى

الخلاصـــــــة

أجريت الدراسة الحالية لعزل الزوائف الزنجارية من اخماج الجروح الحرقية ,ودراسة حساسيتها للمضادات الحياتية ,أخذت مائة مسحة قطنية من المرضى المصابين بالحروق والراقدين بردهة الحروق في مستشفى الحسين التعليمي ,للفترة الممتدة من 1/11/2013ولغاية ,1/3/2014وتم اخذ العينات من مرضى يعانون من درجات حروق متفاوتة ,تم زرع العينات على بعض الأوساط الزرعية)وسط الدم، وسط الماكونكي، ووسط الكروم (وقد أظهرت نتائج الزرع عزل 31عزلة من بكتريا *aeroginosaPseudomonas* وبنسبة 31%. كانت جميع العزلات لها قدرة عالية على النمو على وسط أكار الماكونكي وإنتاج صبغة البايوسيانين ، وأجريت الفحوصات الكيموحيوية التقليدية والتشخيص بنظام Api- 20 Eحيث أظهرت أشرطة Api 20 E كفاءة عالية في تشخيص عزلات الزوئف الزنجارية ,وعند إجراء فحص الحساسية لعزلات بكتريا*Pseudomonas aeroginosa* للتعرف عن مدى تأثير مضادات (Ceftazidime, Ciprofloxacin, efotaxime,Gentamicin,Amikacin, Erythromycin, Chloramphenicol) أظهرت البكتريا نسب متفاوتة بالحساسية ونظرا لضراوة الزوائف الزنجارية ومقاومتها الشديدة للعديد من المضادات الحيوية توصي الدراسة بضرورة خلط المضادات الحيوية للأستفادة من فعالية الخلط التأزرية لتقليل فرص المقاومة البكتيرية.

المقدمة

إن التهاب الجروح الحرقية تعتبر من أهم المشاكل لأنها تؤخر من عملية الشفاء لدى المرضى المصابين بالحروق وقد تسبب تجرثم الدم (Bacteremia), الإنتان (sepsis) أو متلازمة الاختلال الوظيفي المتعدد للأعضاء Multi Organ dysfunction Syndrome(MODS),ان البكتريا والفطريات هي من اكثر الممرضات شيوعا لجروح الحروق(1)تصنف بكتريا *Pseudomonas aeroginosa* على أنها من البكتريا السالبة لصبغة كرام الأكثر انتشارا في المستشفيات ومسببة بذلك العديد من الامراض المكتسبة infection) (Nosocomialبسبب تواجدها في بيئة المستشفيات خاصة عند وجود الرطوبة وانتشارها من مريض إلى أخر وعلى أيدي العاملين(2).

أن قدرة البكتريا على غزو الأنسجة تعتمد على إنتاج مواد مختلفة مثل إنتاجها للأنزيمات الخارج خلوية Extracellular enzymes والسموم التي تحطم الحواجز الفيزيائية وتسبب الضرر للنسيج ,(3) اضافة إلى قابليتها على التطبع السريع وتنظيم عوامل الضراوة كما أن لديها القدرة على الأستجابة للظروف المحيطة (4)ومن عوامل الضراوة التي تمتلكها تلك البكتريا هي Cilia,flagella ,lipopolysaccharide,Alginate,protease,leukocidin,hemolysin,Rhamnolipidpigments(siderophores),Exotoxin A. (5,6)

تهدف الدراسة الحالية الى العزل والتشخيص الدقيق *لبكتريا P.aeruginosa.* من الراقدين في ردهـــــــة حروق مستشفى الحسين التعليمي,أضافة لدراسةأمراضيتها ومنـــــاقشة صفاتها الشكلية والمزرعية باعتبارها أكثر المسببات شيوعاً لحالات التهابات مرضى الحروق ومعرفة تأثير بعض المضادات الحيوية المستخدمة

المواد وطرق العمل:

***جمع العينات**

جمعت (100) مسحة قطنية من المرضى الراقدين بردهة الحروق في مستشفى الحسين التعليمي ,للفترة الممتدة من 1/11/2013ولغاية ,1/3/2014 وتم اخذ العينات من مرضى يعانون من درجات حروق متفاوتة ,تم زرع العينات على بعض الاوساط الزرعية) وسط الدم، وسط الماكونكي، و وسط الكروم (وحسب الطرق القياسية المعتمدة .(9,7)

***تشخيص البكتريا**

شخصت بكتريا *P.aeruginosa* اعتمادا على:

1.الفحص المظهري (Macroscopic examination):وشمل الفحص المظهري او العياني مواصفات المستعمرات النامية على وسط اكار الدم واكار الماكونكي من حيث الشكل والحجم وقابليتها على تحلل الدم على وسط اكار الدم وتخمير سكر اللاكتوز على وسط اكار الماكونكي بالاضافة الى انتاجها للصبغة البايوسيانين على وسط اكار الكروم .(9,7)

.الفحص المجهري:(Microscopic examination)وشمل التعرف على شكل البكتريا تحت المجهر واصطباغها بصبغة كرام(9,7).(Gram's stain)

.3.الاختبارات الكيموحيوية :(Biochemical tests)تم اجراء الاختبارات التالية وفقا لما ورد في :(9,7)

اختبار الاوكسيديز و اليوريزو اختبارات IMVIC.

استخدم نظام API-20Eلتأكيد تشخيص *P. aeruginosa* حيث لقحت عدة الفحص بالعالق البكتيري المحضر مسبقا,ثم اضيف الزيت (Oil) لبعض الحفر في الشريط لتوفير ظروف لاهوائية ,وكذلك أضيفت كمية قليلة من الماء الى قاعدة العدة لغرض توفير الرطوبة المناسبة.حضنت الاشرطة بدرجة حرارة 37م ولمدة 24ساعة,وقرأت النتائج وفقا لتعليمات الشركة المصنعة.

اختبار حساسية *P. aeruginosa* للمضادات الحيوية (Antibiotic susceptibility)

استخدمت طريقة الانتشار في الوسط الزرعي لأقراص المضادات الحيوية (Disc diffusion method) طبقا لما ورد في .(10) وقد عمل عالق البكتريا مقارنة مع عكورة الانبوب القياسي (Macfarland tube), حيث كان تعداد البكتريا في العالق مساويا الى ($1x10^9$)خلية بكتريا لكل مليلتر واحد من العالق ,وقيس قطر التثبيط حول القرص كذلك مقارنة مع قطرالتثبيط للفترة القياسية (11,7).

النتائج والمناقشة (Results and Discussion):

أظهرت نتائج الفحص المظهري لمستعمرات بكتريا *P. aeruginosa* النامية على وسط الماكونكي الصلبو وسط أكار الدم حيث كانت المستعمرات غير مخمرة لسكر اللاكتوز ,(Nonlactose fermenter) ولوحظ تحلل الدم الكامل حول المستعمرات)من نوع (βبسبب إفرازها أنزيم الهيمولايسين ,وكذلك تم تمييز رائحة غير مستحبة في اطباق الزرع تشبه رائحة الفواكه المتخمرة ,فضلاً عن اللون الأخضر المزرق الذي تعطيه بسبب إنتاج صبغة البايوسيانين.(Pyocyanin)(12,8).

اشارت نتائج الفحص المجهري لعزلات بكتريا *P. aeruginosa*انها سالبة لصبغة كرام تتواجد على شكل عصيات اما منفردة اومتجمعة بهيئة سلاسل قصيرة او مختلفة الاطوال.(13).

وبالنسبة لنتائج الفحوصات الكيموحيوية أن جميع عزلات *P. aeruginosa* كانت موجبة لفحص انزيمالاوكسيديز,ومتغايرة النتائج لانزيماليوريز,فيما كانت نتائج اختبارات الاندول والفوكس بروسكاور سالبة على النقيض من نتائج اختباري المثيل الاحمر واستهلاك السترات التي اظهرت نتيجة موجبة , (جدول 1).وان هذه النتائج تتفق مع ما اشاراليه.(14,12,4)

جدول (1)نتائج الفحوصات الكيموحيوية لعزلات *P. aeruginosa*

الاختبار	النتيجة
فحص انزيم الاوكسيديز	+
فحص انزيم اليوريز	+
فحص الاندول	-
فحص الفوكس بروسكاور	-
المثيل الاحمر	+
فحص استهلاك السترات	+

(+)=نتيجة الفحص موجبة(-) = نتيجة الفحص سالبة(±) , =نتيجة الفحص متغايرة

فيما اظهرت نتائج التشخيص باستخدام نظام الـ API-20Eالذي يعد واحد من اهم الفحوصات التشخيصية والاكثر دقة لتشخيص *P. aeruginosa* تطابقاً مع نتائج الفحصواتالكيموحيوية التقليدية وكما مبين في الجدول رقم :(2).

جدول : (2)نتائج الاختبارات الكيموحيوية لنظام api-20Eلتشخيص العصيات السالبة لصبغة كرام

API-20E	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H_2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	NO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	NO_2	N_2	MOB	McC	OF-0	OFF
Pseudomonas aeruginosa	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-

يلاحظ من نتائج العزل والتشخيص ان عدد عينات الدراسة كانت 100عينة,منها 31عينة كانت ملوثة ببكتريا *P.aeroginosa*وبنسبة (31%)وهي نسبة غير مشابهة ,15) (8.72%)أما (16)فذكر إن نسبة العزل كانت عنده % 22 ,وقد توصل (17) الىان بكتريا *Ps. aeruginosa*هي المسبب الثاني لالتهابات اصابات الحروق بعد بكتريا *S. aureus*وتحدث الاصابة بدءاً من الاسبوع الثالث للاصابة بالحرق .اما (18)فقد وجدوا ان هناك ارتفاعاً في نسبة بكتريا *Ps. aeruginosa*المعزولة من اصابات الحروق إذ كانت نسبة العزل عام(24.51%) (1994)وارتفعت عام (2007)الى(% 55.32).

اما بالنسبة لنتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية فكانت عزلات*P.aeroginosa* مقاومة لاغلب المضادات الحيوية بالرغم من ان مجموعة الامينوكلايكوسيدات ذات الطيف الواسع مثال عليها (Gentamicin) تعمل وبشكل جيد ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام , (19)ولكنها كانت حساسة لكل من Ceftazidime, Ciprofloxacin و Cefotaxime, (جدول 3) كما وجد .(20)

جدول رقم (3)نمط حساسية بكتريا *Pseudomonasaeroginosa* للمضادات الحيوية

المضاد الحيوي	الرمـز	التركيز	قطر منطقة التثبيط	نتيجة التثبيط
Ceftazidime	CAZ	30µcg	29	S
Ciprofloxacin	CF	5 µcg	27	S
Erythromycin	E	15 µcg	12	R
Amikacin	AK	30 µcg	13	R
Gentamicin	Gn	10 µcg	16	R
Cefotaxime	CTX	30 µcg	24	S
Chloramphenicol	C	30 µcg	12	R

المصادر

1. Church, D.; Elsayed, S.; Reid, O.; Winston, B.; and Lindsay, R. (2006). Burn Wound Infections. Clin.Microbiol. Rev., 19 (2): 403–434.

2. Olayinka,A.T.; Onile ,B.A. and Olayinka, B.O.(2004). Prevalence of Multi- Resistant (MDR) *Pseudomonas aeruginosa*isolates in surgical units of Ahmadu Bello University Teaching Hospital, Zaria,Nigeria: An indication for effective control measures.3(1): 13-16.

3.Beatson, S.A.; Whitchurch, C.B.; Sargent, J.L.; Levesque, R.C. and Mattick, J.S. (2002). Differential regulation of twitching motility and elastase production by Vfr in*Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol.184: 3605-3613.

4.Sadikot, R.T.; Blackwell, T.S.; Christman, J.W. and Prince, A.S. (2005).Pathogen-host interactions in *Pseudomonas aeruginosa*pneumonia. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 171: 1209-1223.

5. Jensen, P.O.; Bjarnsholt, T.; Phipps, R.; Rasmussen, T.B.; Calum, H.; Christophersen, L.; Moser, C.; Williams, P. and Pressler, T. (2007). Rapid necrotic killing of polymorphonuclear leukocytes is caused by quorum-sensing-controlled production of rhamnolipid by *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiology, 153: 1329–1338.

6.Marquart, M.E.; Caballero, A.R.; Chomnawang, M.; Thibodeaux, B.A.; Twining, S.S. and O'Callaghan, R.J. (2005). Identification of a novel secreted protease from*Pseudomonas aeruginosa*that causes corneal erosions. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci., 46:3761-3768.

7.Chanson ,D.C. and Speller ,D.C.E. (1999).Microbiology in clinical practice.3th.Ed.Butterworth Heinemann.PP.19-20.

8.Jawets, M.A.;Brooks,G.F.;Butel,J.S. and Morce,S.A. (2001). Medical Microbiolgy 22th.Ed.lange Medical Books,MCGraw Hill.

9.Vandepitte ,J;Vergaegen ,J.;Engbeak ,K.;Rohner ,P.;Piot,P. and Heuck, C.C.(2003).Basic laboratoryproceduresin clinical bacteriology . 2th ed. World Health Organization Geneva .PP.109-120.

10.Baron ,E.J.; Finegold , S.M. and Peterson ,I.L. R. (1994). Bailey and Scotts diagnostic microbiology gth .ed. Mosdy Company .Missouri.

11.National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (2002).Performance standards for antimicrobial suscebtibility testing.M.100-s.12,NCCLS, Pennsylvania .

12.Atlas,R.M.(1995).Principles of microbiology .Mosby,1st.ed.Mosby.Inc. Missouri .PP:367,650,663.

13.Driscoll JA, Brody SL, Kollef MH. The epidemiology, pathogenesis and treatment of Pseudomonas aeruginosa infections.*Drugs*, 2007, 67:351–368.

14.Fobes ,B.A.;Sahm,D.F. and Weissfeld,A.S.(2002).Bailey and Scott,Diagnostic Microbiology .11th.ed.Mosby 1nc.Missouri .PP:384-394.

15.الشيباني ، انتصار ناظم خلخال.(2004) .دراسة تصنيفية للأنواع التابعة لل Pseudomonas المعزولة منالمستشفيات في بغداد وتأثير بعض العوامل عليها. رسالة دكتوراه. كلية العلوم الجامعة المستنصرية.

16.عوف، عبد الحكيم.(2001). دراسة بكتريولوجية وإنزيمية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المنتجةللايلاستيز. رسالة ماجستير. كلية العلوم جامعة الكوفة.

17.DeMacedo, J. L. and Santos, J. B. (2005).Bacterial and Fungal Colonization of burn wounds.Mem.Inst. Oswaldo. Cruz. 100 (5) : 535 – 539.

18. Zhang, Y. H. ; Deng, S. L. and Liu, J. W. (2005). Analysis of susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa*isolated from burns toward antibiotics *in vitro* Zhonghue. Shao. Shang. Za.Zhi. 21 (2): 104 – 106.

19.Yasin,K.F.;Sabri,M.;Sherwani,M.K.;Zafar,M.;Yasmin,S. and Alam,M.I.(2003). Amelioration of gentamycin nephrotoxicity by vitamin B,(general and histochemical profile). Pakistan J.MedRes.42(2).

20.Quinn,J.P. (2003).*P.aeruginosa* infection in intensive care unit.Seminare in Respiratory and Critical care Medicine. 24(1):61-68.

Abstract

This study include isolation and diagnoses of *Pseudomonas* from wounds infection, isolation and bacterial sensitivity test against different antibiotics, 100 samples were collected from Patients with burns and recumbent in burn unit in Al-Hussein hospital in Samawah city during the period 11/2013– 3/2014, samples have been taken from Patients suffering from varying degrees of burns and then the samples cultured on various media (Blood agar, MacConkey agar, chrome agar). Our results showed that 31 isolates were *Pseudomonas aeroginosa*at percentage 31%, The ability of all isolates to grow on MacConkey agar and produce pyocyanin has been investigated ,the results in current

study showed all bacterial isolates were identified by using different biochemical tests and API–20 E system that used later to confirm identification give species *Pseudomonas aeroginosa*, and work sensitivity for infection various antibiotics by use Chloramphenicol, Ceftazidime, Ciprofloxacin, Cefotaxime, Gentamicin, Amikacin, Erythromycin, the result was different to sensitivity and resistance to this antibiotic.