جمهورية العراق

وزارة التعليم والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

عزل وتشخيص عاثيات الزوائف الزنجارية المسببة لأخماج الجروح والحروق ودراسة تأثيرها ضد الميكروبي

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم- جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالب

فلاح حسن فرمان

بكالوريوس علوم حياة – كلية العلوم / جامعة ديالى ٢٠١٦م

بإشراف

أ.م.د. زهراء جعفر جميل

١٤٤٠هـ

٢٠١٩م

الفصل الأول : المقدمة Introduction

1.1. المقدمة Introduction :

تتميز بكتريا *P. aeruginosa* بأنها بكتريا انتهازية Opportunistic ، سالبة لصبغة غرام ، موجبة لفحص الاوكسيديز والكاتاليز ، هوائية إجبارية ، عصوية الشكل غير مكونة للأبواغ ولا تحتوي على محفظة Capsule ، تتحرك بواسطة سوط قطبي واحد او عدة اسواط (Qarah, 2007; Todar, 2012; Brooks *et al.*, 2016).

بكتريا *P. aeruginosa* تسبب العديد من الأمراض منها أخماج الجروح والحروق ، أخماج الجلد الأنسجة الرخوة ، أخماج المعدة والأمعاء ، التهاب المفاصل والعظام ، تصيب المجرى البولي والجهاز التنفسي المرتبط بالتليف الكيسي Cystic Fibrosis ، الإصابة العين ، تجرثم الدم Bacteremia ، إصابات الأذن أضعف مقاومة أنسجة الجلد المعرضة للحرق و تلفها وكذلك تواجد هذه البكتريا في البيئة المحيطة بالمريض في ردهة الحروق أو العاملين في المستشفى (Sheridan, 2005). تمتلك بكتريا *P. aeruginosa* عديد من العوامل الضراوة منها خلوية ومنها عوامل إفرازية والخلوية تشمل الأهلاب Pili والأسواط Flagella وهذه العوامل تساعد على الحركة والالتصاق بخلايا المضيف أما العوامل الإفرازية تضمنت صبغة البايوسيانين ، صبغة البايوفردين والذيفانات وهذه العوامل وظيفتها التصاق ومنع عملية البلعمة في الأنسجة المصابة (Brooks *et al.*, 2016)، وتمتلك عوامل ضراوة أخرى كالغشاء الحيوي Biofilm ومادة لزجة مخاطية Slime layer والتي تفرز من بعض سلالات بكتريا *P .aeruginosa*. والتي يكثر إنتاجها في حالات الالتهاب المزمن للرئة في حالة التليف الكيسي Cystic Fibrosis والتي تعمل على زيادة مقاومة البكتريا لعملية البلعمة وكذلك تقلل التراكيز القاتلة لعدد من المضادات الحيوية والمواد المطهرة حيث تمنع وصولها إلى مكان الهدف في البكتريا (Todar, 2008;Brooks *et al.*,2016). كذلك الأنزيمات من ضمنها الأنزيم الحال لدهون Lipase Enzyme الذي يستهدف الطبقة الشحمية الموجودة بين الأدمة و تحت الأدمة و بذلك يسمح للبكتريا

بـاختراق أنسـجة الجسـم و يصـاحب الإصـابة تكـون خراجـات abscess (Todar, 2008). طبقـا إلـى Center Disease Control فـي عـام 2013 م بينـت أن هنـاك 6700 مريضـاً مصـاباً ببكتريـا *P. aeruginosa* متعددة المقاومة للمضادات MDR أدت إلى وفاة 440 منهم (CDC, 2013).

إن زيادة مقاومة البكتريا *P. aeruginosa* لمضادات الحيوية أدى إلى صعوبة علاج الإصابات التي تسببها بكتريا *P. aeruginosa* عن طريق المضادات الحيوية ، لذلك فإن واحدة من طرق العلاج الواعدة هي استخدام العاثيات المحللة Lytic Phages وتعرف العاثيات البكتيرية أنها فيروسات تصيب وتتضاعف داخل الخلية البكتيرية (Calfee *et al*.,2001;Todar,2012). ولها دور مهم في السيطرة على أعداد وتوزيع البكتريا في الطبيعة ، لكن مع اكتشاف فلمنك للمضادات الحيوية أدى إلى تراجع استخدام العاثيات في العلاج ؛ لكن مع زيادة المخاوف في الآونة الاخيرة من ازدياد مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية أدى إلى استخدام العاثي في العلاج (Mathur *et al.*, 2003). يستخدم العاثي في الطب في علاج الجروح المصابة وإصابات الأذن والأنف وإصابات الحنجرة وإصابات الرئة في حالة التليف الكيسي Cystic Fibrosis وعلاج الكوليرا والزحار العصـوي وحمـى التيفوئيـد وعـلاج التهـاب المجـاري بوليـة النـاتج مـن الإصـابة ببكتريـا *E. coli* ، *Streptococcus* ، *Proteus* و *Enterococcus* (Abedon *et al*.,2011). ولم تلاحظ أية تأثيرات جانبية عند المرضى المعالجين بالعاثي (Kutadeladze, 2018).

ويعد العاثي غير سام ويمتلك خصوصية عالية تصل أحيانا الى مستوى السلالة ويمتلك فعالية ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام ويمنع نمو الممرضات الثانوية وكلفة العلاج بالعاثي اقل وكذلك في حالـة ظهـور مقاومـة البكتريـا للعـاثي يمكـن التغلـب علـى هـذه المشـكلة بإسـتخدام خلـيط مـن العاثيـات (Hudson *et al.*, 2013; Wittebole *et al.*, 2004; Rose *et al.*, 2014).

الخلاصة :

أجريت الدراسة الحالية في مستشفى بعقوبة التعليمي وكلية العلوم/ جامعة ديالى ابتداءً من شهر أيلول 2017 إلى شهر حزيران 2018 تضمنت أربعة محاور وهي عزل وتشخيص عاثيات المخصصة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وعزل بكتريا *P. aeruginosa* من مرضى الجروح والحروق، ودراسة استقرارية عيارية العاثي لبعض الظروف الفيزيائية تضمنت درجات الحرارة مختلفة (−١٨ ، ٤ ، ٢٥ ،37°م) و ضوء الشمس لمدة 48 ساعة أما الظروف الكيميائية فشملت الكحول ، الكلوروفورم ، الديتول بدرجة حرارة 4م°، الغلسرين بدرجة حرارة -18 بتراكيز 75v/v،50،25 لمدة 48 ساعة، ودراسة التأثير الضد ميكروبي لعاثيات الزوائف الزنجارية خارج و داخل الجسم الحي (*in vitro* و *in vivo*). تم عزل العاثي من مياه مجاري مستشفى بعقوبة التعليمي إذ تم عزله ومعايرته بطريقة ثنائي الطبقة وقد وجد من خلال المجهر الإلكتروني أن محلول العاثي المستخدم يحوي على عاثيين احدهما ينتمي الى عائلة Siphoviridae والاخر ينتمي الى عائلة Podoviridae. اجري اختبار فحص الحساسية لأحد عشر المضاد الحيوي باستخدام طريقة Kerby-Bauer . وأظهرت العزلات قيد الدراسة مقاومة بنسبة 100% للمضادات الحيوية (amoxicillin-clavulanic acid ، cephalothin و cefpodoxime) بينما كانت حساسيتها لمضاد Imipenem بنسبة 100%. أيضاً أظهرت الدراسة أن عيارية العاثي مستقر عند درجات الحرارة 4،25،37م° وانخفاض عيارية العاثي عند درجة حرارة − 18°م بصورة كبيرة جداً . كذلك انخفضت عيارية العاثي بوجود ضوء الشمس .انخفضت عيارية العاثي عند تعرضه لبعض الظروف الكيميائية والتي شملت الكحول والكلوروفورم والديتول بينما استقرت عيارية العاثي عند استخدام الغلسرين بتركيز 75v/v بدرجة حرارة -18°م. أخيراً بينت الدراسة الحالية ان 50% من العزلات قيد الدراسة حساسة للعاثي خارج جسم الحي *in vitro* بينما داخل جسم الحي *in vivo* وجود نسبة عالية 70% لفعالية محلول العاثي لبكتريا (*P. aeruginosa*) لمعالجة الفئران المصابة في حالة أعطائها عن طريق الفم أو

2. أهداف البحث :

١. عزل وتشخيص بكتريا *P. aeruginosa* من المرضى الراقدين في ردهات الجروح والحروق والكشف عن المقاومة المحلية للمضادات الحيوية .

٢. عزل وتشخيص عاثي Pseudobacter phage ودراسة تأثير بعض الظروف الفيزيائية والكيميائية على فعالية العاثي .

٣. دراسة التأثير الضد ميكروبي لعاثيات الزوائف الزنجارية خارج الجسم الحي *in vitro* وداخل الجسم الحي *in vivo* .