جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة
قسم علوم الحياة

الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة واختبار تاثير اوكسيد الزنك النانوي على بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* متعددة المقاومة للمضادات الحيوية

بحث مقدم الى
مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الدبلوم العالي في علوم الحياة

من قبل الطالبة
سرى مهدي صالح

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

2016 - 2015

بأشراف

ا.د صبا جاسم جواد الزبيدي

1444هـ **2022 م**

1.المقدمة Introduction

تعُد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من الاجناس البكتيرية المهمة لكونها واسعة الانتشار اذ تتواجد على النباتات وفي الماء والتربة كما توجد في الانسان والحيوان وفي البيئات الرطبة للمستشفيات وعلى جلد الشخص ألطبيعي إذ يوفر هذا الجلد الحماية الطبيعية لأنسجة الجسم فعند اصابة الجلد بحرق أو جرح يؤدي الى تلف هذه الانسجة ومن ثم يوفر بيئة لنمو وتكاثر الاحياء المجهرية ومنها بكتريا *P. aeruginosa* اذ تمثل خطراً للعديد من المرضى ومنهم المرضى الذين يعانون من التهاب الحروق والجروح فبإمكان هذه البكتريا أن تغزو مجرى الدم مسببة تسمم الدم Bacteremia ثم Septicemia ، وتصيب المرضى المصابين بسرطان الدم Leukemia والذين يعانون من نقص المناعة Immunodeficiency (Hassuna واخرون ,2015 ; Jalilوآخرون2017) . كما تميل بكتريا *P. aeruginosa* الى تكوين الاغشية الحيوية (Dlugaszewka و اخرون ،2016) .

تعرف المقاومة الدوائية المتعددة Multi drug resistant (MDR) لبكتريا *P aeruginosa* هي العزلات التي تقاوم مضادا واحدا على الاقل من ثلاث مجاميع من المضادات الحيوية المختلفة (Magiorakos ،2012) ، وتعد بكتريا *P.aeruginosn* من المسببات الرئيسة لأخماج المستشفيات , Nosocomial infection أذ تسبب 10- 15 % من هذه الأخماج ، فهي من الممرضات الانتهازية Opportunistic pathogen التي لها القابلية على أحداث مختلف الاصابات اذ تسبب التهاب أغشية الدماغ Meningitis وإصابات العين Eyeinfection والتهابات الأذن الوسطى Otitis Media التهاب المجاري البولية Urinary tract infection وإصابات الجهاز التنفسي Respiratory infection ومنها التهاب الرئة Pneumonia ولاسيما عند المصابين بمرض التليف الكيسي Cystic fibrosis .

إن مقاومة بكتريا *P.aeruginosa* للمضادات الحيوية والمطهرات مشكلة كبيرة في كل انحاء العالم بسبب استخدام المضادات الحيوية بصورة عشوائية وبدون قيود (Mitiku, 2014)، وانتاج انزيمات بيتالاكتاميز وقلة نفاذية جدارها الخلوي فضلاً عن امكانية احتوائها واكتسابها لجينات المقاومة من اجناس بكتيرية أخرى مؤدية إلى تطور المقاومة لهذه المضادات والمطهرات ومسببة فشلاً في علاج الاصابات الناتجة عن بكتريا *P.aeruginosa* (Hashemi و اخرون ، 2016 ; EKizoglu و اخرون ، 2017) . وبسبب ظهور المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية من قبل بكتريا *P.aeruginosa* توجب البحث عن بدائل اخرى غير المضادات الحيوية للقضاء على هذه البكتريا وهذا مادفع العلماء الى استخدام الدقائق النانوية (Nanoparticles) وهي مواد ذات احجام نانوية والتي تمتلك تاثيرا كبيرا على مكونات الخلية لبكتيرية(Lin واخرون،2014)

للأهمية الطبية التشخيصية والعلاجية جاءت هذه الدراسة للكشف عن بعض عوامل الضراوة في بكتريا *P.aeruginosa* متعددة المقاومة للمضادات الحيوية المعزولة سريريا وقد اتبعت الخطوات الاتية لتحقيق الاهداف التالية :

1- عزل بكتريا *P.aeruginosa* من مصادر سريرية مختلفة وتشخيصها بالطرق الزاعية ، المجهرية الكيموحيوية EPI20 وتم تأكيد التشخيص باستخدام جهاز الفايتك Vitek2compact system

2- فحص الحساسية الدوائية لعزلات *P.aeruginosa* تجاه بعض انواع المضادات المضادات الحيوية شائعة الاستخدام .

3- الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة وهي انزيم البروتيز , انزيم الهيمولاسين , انزيمات البيتالاكتام واسعة الطيف , انزيمات البيتالاكتام المعدنية .

4- فحص فعالية اوكسيد الزنك النانوي تجاه نمو عزلات *P.aeruginosa*.

الخلاصة Summary

جمعت (103) عينة من مصادر سريرية مختلفة تضمنت (الحروق ، الجروح ،الادرار) خلال الفترة من 3/1 الى 6/1 /2022 في مستشفى بعقوبة التعليمي وردهة الحروق وباعمار لمختلفة من كلا الجنسين وتوزعت من الحروق(30)عينة ،الجروح(35)عينة والادرار (38)عينة .شخصت العزلات بزراعتها على الاوساط الزرعية الماكونكي اكار MacConky agar ووسط الدم الصلب Blood agar وتم اجراء الاختبارات الكيموحيوية وفحص Apl20 وتم تاكيد التشخيص النهائي بنظام الفايتك .

واظهرت النتائج ان من مجموع (103) عينة (21) عزلة كانت *Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة (20.39%) توزعت من الحروق 11 (36.66%)عزلة الجروح 8 (22.86%) عزلة والادرار 2(5.26%) عزلة اذ ابدت جميع العزلات نتائج ايجابية لكل من اختبار الاوكسيديز والكاتاليز وسالبة لصبغة كرام واختبرت حساسية العزلات البكتيرية قيد الدراسة تجاه (9) مضادا حيويا وباستعمال طريقة انتشار الاقراص Disc diffusion method وحددت مقاومة هذه العزلات للمضادات الحيوية وبينت النتائج ان جميع العزلات كانت مقاومة وبنسبة (100%) للمضاد Ceftazidim وللمضاد Cefotaxime بنسبة (90%) والمضاد Piperacillin بنسبة (70%) اما المضاد Meropenem فقد كانت نسبته (45%) والمضاد Gentamicin بنسبة تصل الى (65%) اما المضادان Amikacin , Tobromycin فقد كانت نسبتهما (60%) اما المضاد levofloxcin بنسبة (40%) و Ciprofloxacin بنسبة (35%)

واظهرت ان من مجموع (21) عزلة 8 (38.1%) عزلات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية (MDR). وأبدت نتائج عوامل الضراوة ان جميع العزلات كانت منتجة لكل من انزيم الهيمولايسين وانزيم البروتيز وبنسبة 100% لكل منهما اما عدد العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتميز واسعة الطيف فقد كانت (2) عزلة وبنسبة (25%) .اما انزيمات البيتالاكتميز المعدنية فعدد العزلات المنتجة لها عزلة

2 . استعراض المراجع Literature Review

1.2 الصفات العامة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

تعرف بكتريا *P.aeruginosa* بأنها عصيات سالبة لصبغة كرام ،يتراوح قطرها (0.5-0.8) X (1.5-3) مايكروميتر ، تكون بشكل سلاسل قصيرة او منفردة ومتحركة لامتلاكها سوطاً قطبياً واحداً Pollar flagella او عدة اسواط Several flagella ، غير مكونة للسبورات Non – spore forming وتكون موجبة لانزيمي الكاتليز (Catalase) والاوكسديز (Oxidase) .

ان بمجرد توفر عوامل نمو بسيطة يجعلها قادرة على البقاء على السطوح لمدة طويلة ومسببة عدوة المستشفيات Nosocomial infection ، ومنتجة لصبغتين مهمتين في التشخيص المختبري وهما البايوسيانين Pyocyanin التي تستطيع ان تصبغ القيح Pus في اصابات الجروح والحروق Wound and Bum Infections باللون الازرق المخضر ، وصبغة بايوفردين (Fluorescein Pyoverdin) ذات اللون الاصفر المخضر والمتألق تحت الاشعة البنفسجية Ultraviolet light .

تستطيع النمو على وسط اكار الماكونكي MacConkey agar وتبدو مستعمراتها شاحبة اللون ويعود ذلك لعدم قدرتها على تخمر سكر اللاكتوز Non lactose fermentation وذات رائحة تشبه رائحة العنب المتخمر اما على وسط اكار الدم Blood agar فتظهر مستعمراتها غامقة اللون ومحاطة بهالة شفافة دلالة على قابليتها على تحليل الدم تحللا من نوع بيتا B – Hemolytic بسبب انتاجها لإنزيم الهيمولايسين Hemolysin ، كما لها القابلية على النمو بدرجة حرارة 42 م (Brooks واخرون , 2013 ;Hossain واخرون , 2013) . بعد تنمية البكتريا على الوسط المغذي الصلب والحضن بدرجة 37 ولمدة 24 ساعة تظهر البكتريا في ثلاثة اشكال من المستعمرات النوع الاول الطبيعية المعزولة من الماء والتربة تنتج مستعمرات خشنة وصغيرة اما المعزولة سريريا فتنتج نوعين من المستعمرات الاولى كبيرة وملساء وذات حافات