وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جـامعة ديـالى

كلية التـربية للعلوم الصرفة

قسم عـلوم الحيـاة

دراسة بكتريولوجية لخمج الحروق والتغيرات النسيجية المصاحبة لها

رسالة مقدمة الى

مجلس عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

اسراء رسول حسين العنبكي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى 2016-2017

بأشراف

أ.د. عباس عبود فرحان الدليمي **ا.م.د. ذكرى عطا إبراهيم**

1442هـ **2020م**

المقدمة Introduction

تعتبر الحروق من اكثر انواع الاصابات تدميرا نتيجة الاصابات الحرارية الخطيرة التي تسببها مما يؤدي ذلك الى زيادة نسبة الوفيات (peck ،2011) ، فقد بينت الدراسات السابقة ان هناك انواع بكتيرية عديدة لها القدرة على احداث الاصابة بسهولة في هذا النوع من الاصابات ، ان بكتريا *S.aureus* ، *P.aeruginosa* كانت اكثر الانواع شيوعا مع مرور الوقت فأن معدل الاختلاف في الفلورا البكتيرية bacterial flora و الأستيطان يتغير بعد حدوث الاصابة الاولية (Taneja وآخرون ،2013).

تُعد الاصابة بالحروق من المشاكل الطبية الصحية الشائعة في كافة انحاء العالم و التي تنتج بواسطة المواد الكيميائية ، الاشعاعية والكهرباء والحرارة مما تؤدي الى وفاة المرضى الراقدين بالمستشفى نتيجة ضعف مناعة الجسم بسبب تمزيق آلية الجلد السليم الذي يمثل اول الحواجز الدفاعية الوقائية ضد الاصابة بالخمج Infection (Hussein وآخرون،2012) ، يعد الجلد الحاجز الدفاعي الوقائي الاول الذي يمنع مرور الاحياء المجهرية الى داخل الجسم ان البكتريا قد تصيب الجلد نتيجة حدوث ضرر بالطبقة الداخلية والخارجية لسطح الجسم مما يجعله بيئة مناسبة لنموها وانتشارها وتكاثرها يوفر الجلد حاجزا دفاعياً ضد الإصابة فهو يتكون من طبقة متماسكة تغلف سطح الجسم وتمنع دخول الأحياء المجهرية (القيسي، 2015) .

تكون جروح الحروق معرضة بشدة للعدوى عن طريق الكائنات الحية المجهرية وهذه تعتبر من المشاكل الكبرى الشائعة في ادارة الحروق ان الإصابات الحرارية وجروح الحروق تكون معقمة لكن في فترة زمنية قد يتم استعمارها من قبل الكائنات الحية المجهرية (Saxena وآخرون،2013) تعتبر الإصابة بالحروق المصدر الشائع في احداث الإمراضية بالإضافة الى الوفيات (Chicago،2016) على الرغم من ذلك ، فأن حدوث الإصابات و بقاء المريض في المستشفى

لفترات طويلة كل هذه الأمور تساهم في زيادة خطر الإصابة في مرضى الحروق (Schultz وآخرون ،2013) فضلا عن ذلك فأن المرضى المحروقين الذين يعانون من العدوى تكون نسبة الوفيات فيهم ضعف مما هو علية في المرضى غير المصابين (Alp وآخرون ، 2012).

تنتج الاصابة بالحروق اضطرابات في وظيفة العائل وتتضمن التغيرات الهيكلية في الجهاز الهضمي التي تؤدي الى تهيئة ظروف مناسبة لنمو البكتريا منتجة الغزو فضلا عن تسمم الدم Blood poisoning (Pruitt،2012). ان الشفاء قد لايزال ممكناً عند تأخير العلاج اكثر او اذا كان غير فعال فأن ذلك قد يؤدي الى الوفاة (Aladin و yousif ، 2016) تكون الاصابة بالحروق ذات تأثيرات نفسية على المرضى (Young وآخرون ،2019).

ان اكثر الأسباب الشائعة لحدوث الحروق الكيميائية هي الأحماض التي تتضمن الكبريتيك وهيدروكلوريك والقواعد مثل هيدروكسيد الصوديوم والبوتاسيوم إن العوامل الحامضية تحدث تجلط الدم والذي بدوره يؤدي الى تسمم الخلايا و تكون المواد القلوية اكثر سمية من الحامضية بسبب التغييرات التي قد تسبب تلف الأنسجة (Wiesner وآخرون،2019؛ Cruz وآخرون،2015). تحدث الغالبية العظمى من الحروق في بعض الدول المتقدمة عن طريق الأصابة باللهب (لهب السمط) (Rai وآخرون،2014) تعد الحروق في معظم الدول المتقدمة من أكثر الأصابات الشائعة بعد حوادث السقوط فضلا عن حوادث المرور(Gupta وآخرون،2015) تعتبر عائلة بكتريا *E.coli* من المسببات الرئيسية الشائعة في المستشفى التي تؤدي بدورها الى حدوث العدوى التي تكتسب من المجتمع (Pitout ،2012).

تؤدي البكتريا السالبة لصبغة غرام دورا ذا أهمية كبيرة في حدوث الأمراض المعدية لكن *P.aeruginosa، E.coli، Enterobacter ، P.mirabilis* الأن قد أصبحت من الأنواع الواسعة الطيف التي تشارك في عدوى المستشفيات (Anuj Nautiyal وآخرون،2015).

بكتريا *Pseudomonas . aeruginosa* تؤدي الى حدوث العدوى في مرضى الحروق مما يؤدي هذا بدوره الى تعفن الدم Sepsis (Alhazmi ، 2015).

بكتريا *Proteus mirabilis* تكون لها القدرة على مقاومة عدة انواع مختلفة من المضادات الحيوية وتدعى مقاومة المضادات الحيوية المتعددة (Dadheech وآخرون،2015)

إنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف قد تتكون من قبل الأنواع البكتيرية السالبة لملون غرام أذ أنها تمنح البكتريا التي تكونها زيادة في مقاومة المضادات الحيوية الواسعة الأستخدام (Dhillon وClark ،2011). بصورة رئيسة يتم تشخيص الحروق بالإضافة الى الانسجة المتدمرة في الحروق بواسطة طريقتين أساسيتين أولهما يتم قياس مساحة سطح الحرق كنسبة مئوية وفقا لقاعدة العدد تسعة Rule of nine أو قد يتم ذلك من قبل فقدان الجلد والأنسجة في عمق الحرق تمتاز هذه الاصابات بحدوث نخر فضلا عن تجلط الأوعية الدموية (Ahmed وآخرون،2006؛ Tahir،2010).

بناءً على ما تقدم أُجريت الدراسة لتحقيق الأهداف الاتية:

1. عزل وتشخيص البكتريا من المرضى المصابين بالحروق.
2. التحري عن بعض عوامل الضراوة للعزلات البكتيرية قيد الدراسة.
3. الكشف عن حساسية العزلات للمضادات الحياتية من مجاميع مختلفة ، وتحديد التركيز المثبط الأدنى MIC لبعض هذه المضادات.
4. دراسة التغيرات النسجية للجلد لدى المرضى المصابين بالحروق.

الخلاصة

تناولت الدراسة عزل وتشخيص الأنواع البكتيرية المسببة لأخماج الحروق Burn lnfections من المرضى الراقدين في مستشفى عام بعقوبة/ ردهة الحروق وأيضاً تم جمعها من العيادات الخارجية خلال الفترة من شهر أيلول 1 /9 / 2019 لغاية شهر شباط 1/ 2 / 2020 إذ جمعت (80) عينة من كلا الجنسين الأناث والذكور ولفئات عمرية مختلفة. زرعت عينات الحروق على وسط أكار الدم ووسط اكار الماكونكي، ثم اخضعت المزارع البكتيرية النامية إلى الفحوصات الزرعية و المجهرية و الكيميوحيوية و بعد تشخيص البكتريا تم الحصول على 46 عزلة من الأنواع البكتيرية السالبة و الموجبة لصبغة كرام المتسببة لأخماج الحروق بواقع 20 عزلة لبكتريا *Pseudomonas. aeruginosa* وبنسبة 43.4% ، 8 عزلة *Staphylococcus. aureus* بنسبة 17.3% ، 5 عزلة *Escherichia .coli* بنسبة10.8% ، 5 عزلة *Klebsiella.Pneumoniae* بنسبة10.8 %،4 عزلة *Enterobacter.aerogenes* بنسبة 8.6% ، 3عزلة *Staphylococcus .epidermidis* بنسبة 6.5%، 1عزلة *Proteus. mirabilis* بنسبة 2.1%.

أظهرت النتائج ان عدد الإصابة بالحروق في الذكور أعلى من الاناث والذي بلغ في الذكور (50) وبنسبة (62.5 %) بينما في الأناث (30) وبنسبة (37.5%) ، كما بينت النتائج ان السبب الأكثر شيوعاً في الحروق هي الحروق الحرارية التي تشمل الحروق بالسائل الساخن حيث بلغ عدد الأصابات بهذا النوع من الحروق ان السبب الأكثر شيوعاً في الحروق هي الحروق الحرارية والتي تشمل الحروق بالسائل الساخن حيث بلغ عدد الإصابة بهذا النوع من الحروق (32) تليها الحروق الكيميائية التي كان عدد الإصابة بها (20) ثم الحروق الكهربائية على التوالي التي بلغ عدد الأشخاص المصابين بها (16) وأخيراً الحروق الحرارية بواسطة اللهب حيث كان عدد الإصابة بها (12) .

وأوضحت نتائج الدراسة الكشف عن بعض عوامل الضراوة لـ 46 عزلة من عزلات البكتريا قيد الدراسة ومنها قابليتها على إنتاج انزيم الهيمولايسين وقد كانت عزلات بكتريا

Pseudomonas.aeruginosa منتجة للهيمولايسين وبنسبة 45% ، اما بكتريا *S.aureus* فكانت منتجة وبنسبة50% وبكتريا *E.coli* بنسبة60% بينما *Klebiesella.pneumonia* ، *E.aerogenes* ، *Staphylococcus epidermidis* بلغت 20% ، 50% ، 66.6% على التوالي ، أما بالنسبة لعزلات *P.mirabilis* جميعها غير منتجة للهيمولايسين.

بينت النتائج بان العزلات المنتجة للبكتريوسين كانت (18) عزلة فقط من بين (46) عزلة اي بنسبة (39.1%) وكانت بكتريا *P.mirabilis* منتجة للبكتريوسين بنسبة 100% ، و(2) عزلات لبكتريا *E .aerogenes* بنسبة 50% وكانت (9) عزلات لبكتريا *P.aeruginosa* منتجة للبكتريوسين وبنسبة 45% ، 2 عزلات لبكتريا *E.coli* بنسبة 40% ، 3 عزلات *S.aureus* بنسبة 37.5% ، اما بكتريا *K.pneumoniae* فكانت عزلة واحدة منتجة له بنسبة 20% ، بينما بكتريا *S. epidermidis* فكانت غير منتجة للبكتريوسين . تم الكشف عن قابلية العزلات على إنتاج أنزيم البروتيز إذ كانت عزلات *K. pneumoniae* ، *Proteus mirabilis* ، *E.aerogenes* منتجة له وبنسبة 100%، بينما بكتريا *P.aeruginosa* ، *S.aureus* ، *Escherichia coli* ، *S. epidermidis* كانت منتجة للبروتيز و بنسبة 65% ، 50% ، 60% ، 33.3 % على التوالي.

اختبرت قدرة العزلات على تكوين الغشاء الحيوي بطريقة احمر الكونغو إذ كانت عزلات *P.mirabilis* منتجة له وبنسبة 100% أما بالنسبة لعزلات بكتريا *P.aeruginosa* ، *S.aureus* ، *Escherichia coli* ، *K.pneumoniae* ، *E.aerogenes* كانت منتجة له وبنسبة 15% ،75% ،60% ، 20% ،50% على التوالي. بينما بكتريا *S.epidermidis* فكانت غير منتجة له وقد بينت نتائج عزلات *P.mirabilis* قدرتها على حدوث ظاهرة الانثيال (Swarming) بنسبة 100%. اظهرت جميع العزلات قابليتها على الالتصاق بالخلايا الطلائية وبنسبة 100%. وكما بينت نتائج الدراسة ان بكتريا *P.aeruginosa* ، *K.pneumoniae* ، *E.aerogenes* كانت لها القدرة على تكوين المحفظة وبنسبة (100%) بينما بكتريا *S.aureus* ، *S.epidermidis* , *E.coli* ، *P.mirabilis* لم تنتج

المحفظة. وبينت نتائج الدراسة قدرة جميع عزلات *S.aureus* على إنتاج الانزيم المخثر(Coagulase) وبنسبة (100%).

استخدمت طريقة الأقراص المتاخمة المحورة Disc approximation للكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف وبينت نتائج الدراسة ان بكتريا *S.epidermidis، E.coli* *P.aeruginosa* كانت منتجة لأنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بنسبة 100% ، 100 % ،90% تليها بكتريا *S.aureus* ، *K.pneumoniae*، *E.aerogenes* منتجة وبنسبة87.5% ،80% ،25% بينما بكتريا *P.mirabilis* فكانت غير منتجة له. وتم الكشف عن انزيمات الميتالوبيتالاكتاميز المعدنية وأظهرت نتائج الدراسة إن بكتريا *P.mirabilis* منتجة وبنسبة 100% تليها بكتريا *P.aeruginosa* ، *S.aureus* *K.pneumoniae*، *E.coli* *E.aerogenes*، *S.epidermidis* منتجة وبنسبة 60% ،50% ،40% ، 80% ،50 % ،66.6 % على التوالي.

تم إجراء اختبار حساسية المضادات الحيوية بأستخدام طريقة Kerby-bauer method وتم أستخدام (10) مضادات حيوية شائعة توزعت ما بين مضادات مجموعة البيتالاكتام التي شملت Ceftazidime و Cefotaxime ومجموعة الكوينولونات المفلورة مضاد Ciprofloxacin وNorfloxacin و Ofloxacin ومجموعة الامينوكلايكوسيدية مضاد Gentamycin ومن مجموعة المضادات المثبطة لحامض الفوليك مضاد Trimethoprim بالأضافة الى Vancomycin و مضاد Clindamycin و مضاد Aztreonam حيث كشفت نتائج هذه الدراسة ان بكتريا *K.pneumoniae* *E.aerogenes*، *P.mirabilis* ، كانت مقاومة لمضاد Cefotaxime وبنسبة 100% بينما بكتريا *S.epidermidis* كانت ذات حساسية عالية لمضاد Cefotaxime وبنسبة 100% كما أظهرت جميع العزلات مقاومة عالية لمضاد Ceftazidime وبنسبة 100% ، 75 % ، 60% على التوالي بينما كانت بكتريا *K.pneumoniae*، *P.mirabilis* مقاومة لمضاد Vancomycin بنسبة 100% أما بالنسبة لمضاد Gentamycin أظهرت عزلات *P.mirabilis* مقاومة له بنسبة 100%.

وان مجموعة الكوينولونات المفلورة التي تضم مضاد Norfloxacin ، Ciprofloxacin ، Ofloxacin اظهرت بعض العزلات حساسية عالية لهذه المضادات كعزلات *P.mirabilis* التي كانت ذات حساسية عالية لهذه المضادات الثلاثة وبنسبة 100% تليها *E.aerogenes* التي كانت ذات حساسية عالية لمضاد Norfloxacin بنسبة 100 % أما بكتريا *S.epidermidis* كانت حساسة لمضادCiprofloxacin بنسبة 100% ومقاومة لمضاد Ofloxacin بنسبة 100% وكانت عزلات *p.mirabilis* مقاومة لمضاد Aztreonam بنسبة 100% بينما مضاد Trimethoprim أظهرت *E.coli*، *E.aerogenes* ، *P.mirabilis* مقاومة له بنسبة 100 %. اما مضاد Clindamycin أظهرت *P.mirabilis* مقاومة له بنسبة 100% تليها *S.epidermidis* التي كانت ذات حساسية عالية لهذا المضاد بنسبة 100% كما اظهرت العزلات البكتيرية نسب متفاوتة في مقاومتها وحساسيتها ومتوسط الحساسية تجاه هذه المضادات الحيوية المستخدمة.

تم تحديد التركيز المثبط الادنى MIC لـ (8) مضادات حيوية وهي Cefotaxime ، Ciproflaxcin ، Clindamycin ، Tetracycllin ، Ampicillin ، Rifampicin ، Trimethoprim ، Azithromycin هي الأكثر إستعمالاً وأظهرت نتائج العزلات قيد الدراسة مديات مختلفة في قيم MIC حيث كان أفضل مضاد (Rifampicin) وأقل مضاد (Clindamycin) أثر على البكتريا بالنسبة للـ MIC .

بينت نتائج الدراسة التغيرات النسجية في المرضى المصابين بالحروق وشملت التغيرات النسجية في البشرة على فرط التقرن و تضخم طبقة البشرة و ظهور وذمة في طبقة البشرة ظهور التنخر مع تقعر الخلايا ووجود بقايا أجسام داخل النواة. اما في طبقة الادمة فقد تضمنت التغيرات النسجية ظهور وذمة في طبقة الادمة ، وارتشاح الخلايا الالتهابية وظهور التنخر.