مقارنة أستخدام الأوساط الزرعيه الروتينيه والمحوره للكشف عن البكتيريا فاقـدة الجدار والمعزوله من خمج السبيـل البولي.

قاسم نجم ثويني , عبد الرسول عويد الشبيب
جامعة بابل/ كلية العلوم – قسم علوم الحياة
Rasool_alshibeeb2010@yahoo.com

الخلاصة

تمت دراسة الخمج البكتيري المتخفي في السبيل البولي للأنسان ,حيث أخضعت 50 عينة أدرار مأخوذه من المرضى مراجعي أستشارية م. الحله التعليمي العام للكشف عن بكتـــريا فاقـدة الجدار وذات الجـــدار الخلوي للفتـــــره مابيـن شـــهر تشرين الثاني 2012 ولغاية نهاية شهر شبـاط 2013. توزعـت العينات بين الجنسين بالتساوي وبعمر يتـــــراوح بين 20-50 سنه. جمعت العينات بالطرق القياسيه ونـبـذت بجهاز الطـــرد المركزي بسرعة 3000 د/ د لمدة 5 دقائق لترسيب محتوياتها وفحصت تحت المجهرالأعتيادي بقوة x 1000. وجد أن الأستجابه الخلويه غيـرالمتخصصه لرسابة البـــول كانت من النـــوع المشترك(34%) ووحيدة النواة (30%). تمـــت زراعـــة العينـــات على الأوساط الروتينيه (Blood agar, Macchonkey agar) والأوساط المحوره الخاصه بفاقـــدات الجدار (Variant agar, Variant broth) وحضنت لمـــدة 48- 24 ساعه وبدرجة حراره 37_c .

تم تشخيص النواتـــج البكتيـريه بأنظمة التشخيـص المختبـــري مظهريـــا ومجهريـــا وكيموحيـــويا وكذلك نظام API 20 E وتأكيد نتائج بعض العزول بأستعمال جهاز Vitek 2. كان النمو البكتيري على وسط الفارينت للبكتريا فاقـــــدة الجداروذات الجدار بنسبة 70% بينما النمـــــــوالبكتيري على الأوساط الروتينيه بنسبة 32% لذات الجدار ووجد أن نسبة فاقدة الجدارالخلوي بين النمو الزرعي على وســـط الفارينت الصلب هي 38%. وأظهرت النتائج 30% حاله سلبيه Nogrowth. أظهرت النتـــائج أن بكتـــريا *Citrobacter freundii* فاقـــدة الجدار الخلوي شكلت أعلى نسبه للأصابه من الحالات حيث بلغت نسبتها 12%.

جـــرى فحص الحساسيه الدوائـــيه للعزول البكتيريه الناتجه من خمج السبيل البـــولي لكلا النوعـــــين (فاقدة الجدار وذات الجدار) وكانت أعلى نسبة مقاومه للمضاد الحيـــوي (أمبيسيلين) مثلته فاقدات الجداروكذلك أعلى نسبة حساسيه للمضاد الحيوي (أمبنيم) مثلته نفس المجموعه.

الكلمات المفتاحية : البكتيريا فاقـــدة الجدار

Abstract

Has been studied cryptic bacterial infection in the urinary tract to humans. 50 urine samples were processed patients Auditors advisory Hospital Hilla public education for the detection cell wall Defectivec Bacteria (CWDB) for the period between November 2012 until February 2013. Samples were distributed evenly between the sexes and aged between 20-50 years. The samples were collected in standards way and renounced device speed centrifugation 3000 c/m for 5 minutes to precipitate the contents and examined under a microscope .Found that the cellular response non- specialized to precipitate the urine was Mixed (34%) and monocytic (30%). Samples were planted on routines media (blood agar & macchoncky agar) and modified (variant broth & agar) and incubated for 24-48 hours at a temperature 37c. Out put diagnosed by bacterial system diagnostics, phenotypic , microscopically and biochemistry and using API 20 E and the use VITEK 2 to confirm some samples results .

Growth on Variant agar yielded 70% growth of CWDB and intact,while growth on usuall media yielded 32% of intact bacteria. The percent of CWDB among growths on variant agar was 38%. and the results showed 30% negative situation.

Citrobacter freundii recorded 12% ,the highest rate among cell-wall defective isolates . Drug sensitivity were screened isolates from U.T.I both two type (CWB & CWDB) the highest rate of sensitivity to the antibiotic Impinem represented CWDB , as well as the highest rate of resistance to Ampicillin represented by the same group of isolates.

Key words: wall Defectivec Bacteria

المقدمة Introduction

توجد العديد من الاحياء المجهريه التي يصعب عزلها أوغيرقابله للزرع على الأوساط الزرعيه الأعتياديـــه , ومنها البكتيريا فاقدة الجـدارالخلوي CWDB التي تستطيع النمو وأحداث الأصابات المتكرره لـدى العديد من المرضى والمصابين لألتهاب الجهاز البـــولي وتتمكن هـــذه البكتيريا مـن التخفي فـي الأنسـجه (Olga,2012) .أن البكتيريا فاقدة الجـدارالخلـوي (CWDB)تستطيع البقاء حيـه والتضاعف في المضيف حيث عزلت من عينات مختلفه من أفرازات الجسـم كألأدرار(Thewaini,2002) والقشع (Alsultani,2005)وأن قابليـــة التخفي لهذه البكتيريا تمكنها مـن تجنب التاثـير المباشر للمضادات الحيويه المستخدمه في العلاج مما يتيح لها أستعادة نشاطها بـــزوال المضاد أوأنخفاض مستـوى تركيزه فـــي سوائـل جسم المريض مستخدمه فقد الجـــدار الخلوي كليا أو جزئـيا كوسيله لظاهـرة التخفي مما يحـول دون اتمام المهمه العلاجيه للمضادات الحيـــويه التـــي تعمل على منـــع تكويـن الجـــدار الخلـوي نتيجة لفقـدان المستلمات (Receptors) التـــي يرتبط بها المضاد الحيـــوي والموجـــوده على الجـدار الخلـوي(Rehana,2010). كما أن أستخـدام الجـرع القليـله وغـيـر الكافيه أثنـــاء المعالجه والأستخدام الخاطيء للأدويه وخصوصا المضادات الحيويه هـوأحـد الطرق المهمه التي تحث البكتيريا على فقدان جدرانها بصوره كليه أوجزئيه . وقـــد ثبت ذلك تجريبيا مـن خلال الدراسات والبحوث التي اجريت لهذا الغرض (Thewaini,2002) ومـن أهـــم تلك المضادات الحيويه التـــي تعمل على منع تكويـــن الجـدار الخلوي مجموعة البنسلينات والسيفالوسبورينات . وتعد البكتيريا الفاقـــده للجدار الخلوي أحد مسببات الأمراض السرطانيه ولاسيما في حال غياب الأستجابه المناعيه الواقيه وهي تساعد على حدوث أمراض عديده , مثل أمراض المنـاعه الذاتيه والعديد من الأمراض غير معروفة الأسبـاب وتوجد هـذه البكتيريا في الدم والأنسجه المكونه لجسم الأنسان (Casadesus,2007) ولـذا فقـد هدفت الدراسه الحاليه الى توظيـف أستعمال أوســـاط زرعيه محوره لغرض عـــزل المسببات المرضيه لخمج الجهاز البولي (من الحالات سالبة الزرع الروتيني) ومقارنـــــة نموها البكتـــيري بالنـمو البكتيـــري على الأوسـاط الزرعيه الروتينيه مع دراسة الحساسيه الدوائيه لها.

طرائق العمل

جمعت 50 عينـة أدرار بمقدار 10 مـــل لكل مريض مـن مرضى خمـــــج السبيـل البولي وتحت ظروف قياسيه معقمه.

١. تـم اجراء نبذ عينات الأدرار بجهاز النبذ المركزي بسرعة(3000) د / د لمدة (5) دقائق ثم جمـع الراسب وأهمال الراشح.

٢. جـرى عمل مسحه رطبه من الراسـب بأخـذ قطره ووضعها على سلايد نظيف وتـم فحصها تحـت المجهر الضوئي الأعتيادي وعلى قوة (40x) لملاحظة الخلايا القيـــحيه وكثافتـها وأمكانية عدها لمعرفـــة الأستجابه المناعيـــه الخلويه غيرالمتخصصه (Thewaini,2002).

٣. جـرى زرع راسب عينات الأدرار على الأوساط الروتينيه (أكـــار الـدم و أكار الماكونـــكي) بالأضافه الى ذلك تـــم زرعها على أوســاط محوره مثل (مرق الفارينت وفارينت أكار) وحضنت الأطباق في ظروف هوائيه وبدرجة حـراره c 37 ولمدة ٣-٤أيام وملاحظة النمـو يوميا ومـــن خلال هـذه التقنيه يمكن معـرفة المسبب المرضي (Thewaini,2002).

٤. جـــــرى تشخيص النمو الـــزرعي مظهريا ومجهريا وكيموحـيويا وفق ماجاء في (Maccfaddin,2000).

٥. أجري التشخيص التأكيدي بأستخدام نظام API 20E الخاص بعائلة البكتيـريا المعويه ونظام API STREP الخاص بالمكـــورات المسبحيه ونظام API STAPH الخاص بالمكورات العنقوديه.

٦.أستخـدم جهاز الـــ VITEK 2 والـــذي يشمل تشخيص كل من البكتريا الســـالبه والموجبه لصبغة كرام لتأكيد نتائج بعض العزلات.

٧.أختبرت حساسيةالعـــزلا ت البكتيريه المستحصله فـي هـذا البحث مـن البكتيريا الفاقده للجدار والبكتريا الأعتياديه ولكـل الأنـــواع بطريـقة الأنتـشار مـن القرص Disc diffusion method وفـــق مـــاورد في طريقـــة Kirby –Bauer 1966, هـــذا بالنسبه للبكتـريا ذات الجدار,اما البكتريا الفاقده للجدار الخلوي فتم استعمال نفـس الطريقة مع أجراء بعض التحويرات.

النتائج RESULTS

اخضعت (50) عينة أدرارلغرض تشخيص البكتريا فاقـده الجداروذات الجدار المشاركه في خمج الجهاز البولي وكانت النتائج كما يلي :

1.الوصف المجهري لرسابة البول

أظـــهرالفحص المجهري لرســـابة الأدرار وجـود الخلايا القيحيه بأعداد وكثـافات متباينـه فقـــد تراوحت أعـدادها بيـن المتوسـطه والعـاليه وكـذلك وجـود كريات الـدم الحمراء وبنسب متفاوتـه , بالأضافه ألى أحتـــــوائها على كميات غيـــر طبيعيه مـن الخلايا الطلائيه وأمكن أيضا ملاحظة البكتـريا فـــي بعض العينات المفحوصه وهـــــذا أن دل على شيء أنما يـدل على الأصابه بخمج السبيل البولي حســـب رأي الطبيب الاخصائي المعالج.

يوضح الجـدول رقم (1) الاستجابه المناعيه الخلويه غير المتخصصه لخمج السبيل البولي حيث أظهر الفحص المجهري لرسـابة البـول أعـــداد الخلايا القيحيه المختلفه وكانـت سياده واضحه للأستجابه المناعيه الخلويه غيـــر المتخصصه من نوع الخلايا المشتركه وبنسبة 34 % تلتها الخلايا وحيدة النواة وبنسبة 30%

جدول رقم (1) يوضح الأستجابه المناعيه الخلويه غير المتخصصه لخمج السبيل البولي .

نوع الأستجابه الخلويه	العدد	الكلي	النسبه المئويه(%)
وحيدة النواة	15	50	(%30)
متعددة النواة	12	50	(%24)
اللمفيـــــه	6	50	(%12)
المشتركه	17	50	(%34)
المجموع	50	50	(%100)

2 : مقارنة النمو البكتيري على الأوساط الروتينيه والأوساط المحوره.

أجريـــــت دراســـه بكتيريولوجيه ل (50) عينة أدرار للكشف عن بكتريا فاقــدة الجدار والبكتريا ذات الجدار الخلوي بتنميتها على أوســاط خاصه ببكتريا فاقـــدة الجدار (فارينت أكار وفارينت بـــــروث) وأوســاط زرعيه كالماكونكي وأكــار الدم (روتينيه) لتنمية بكتريا ذات الجدار. وكــان النمو البكتيري على وسط الفاريــنت لبكتريا فاقـــدة الجـــدار وذات الجــدار بنسبة 70% , بينــما النمو البكتيري على الأوساط الروتينيه بنسبة 32% لذات الجدار الخلوي كما موضح في جدول رقم (2).

جدول رقم (2). مقارنة النمو البكتيري على الأوساط الروتينيه والمحوره.

النـــــــمو البكتيري						الكلي	
		الموجبـــــه		السالبـــــــه			
		No	(%)	No	(%)	No	(%)
الوسط الزرعي	روتينيه	16	(32)	34	(68)	50	(100)
	محوره	35	(70)	15	(30)	50	(100)

3. التشخيص البكتيري

شخصت الأجناس البكتيريه الناميه على الأوساط الزرعيه مجهريا ومزرعيا وكيموحيويا وكما مبين فيما يلي :

3-1: الوصف المظهري للزرع البكتيري

أظهرت النتائج وجـــود نموا بكتيريا لمختلف الأجناس وجـــرى تمييــزها على أساس الحجم الــون, شكل المستعمرات الناميـــه بالأضافه الى قوامها ,حوافها , ارتفاعاتها , فكانـــــت منها محلله للــدم وأخرى غير محلله للدم على وسط اكار الـــدم ومخمره لســـكر اللاكتوز وأخرى غير مخمره على وسط اكار الماكونكي .

3-2: الوصف المجهري للزرع البكتيري

حضرت مسحات مباشـــــره من المستعمرات الناميـــه على الأوســاط الزرعيه وفحصت تحت المجهرالأعتيادي بقوة 100x فظهرت أغلب انـــواع البكتريا سالبه لصبغة كـــرام والبعض الأخــر موجبــه لهذه الصبغه, أما أشـــكالها وأن كانت أغلبها عصوية لكنــها تباينــت بيــن العصويه البيضويه والعصويه الكرويه أو الممتده في حيـــن ظهر قســـم منها بشـــكل مكتض مكونة كتل متجانسه , أما القســم الأخر فكانت ذات مستعمرات عنقـــــودية الشــكل وبعضــها كانت على هيئة سلاسل كرويه متلاصقه فأعتمدت أشكال كل واحده منها في التشخيص النهائي.

3-3.الوصف الكيمـــوحيـــــوي

أظهرت العزول البكتيريه المختلفه نتائج الفحوصات الكيموحيويه وكما موضح في الجدول رقم (3).

جدول رقم (3) الفحوصات الكيموحيويه للعزول البكتيريه من مرضى خمج الجهاز البولي.

Species G –VE	Ox	B.H	L.F	MR	VP	Indole	Ureas	H_2S	Citrat
Citrobacter frundii	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Esherichia coli	-	+	+	+	-	+	-	-	-
Proteus penneri	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Serratia marcescense	-	-	+	-	+	-	-	-	+
Klebsiella oxytoca	-	-	-	-	+	+	+	-	+
G +VE									
Strptococcus faecalis	-	-	+	-	+	-	+	-	+
Staphyllcoccus hominis	-	-	+	-	-	-	+	-	+

بالأضافة الى الفحوصات الكيموحيـــويه المدرجه في الجـــدول أعلاه, تـــم أجراء فحص(Catalase) فأعطـــت العزول البكتيريه نتيجه موجبـــه لهذا الفحص بأستـــثناء بكتـــــريا Streptococcus feacalis أعطت نتيجه سالبه لهذا الفحص.

4: طبيعة المسببات البكتيريه

4-1: بكتريا فاقدة الجدار

أظهرت الدراســـه الحصول على 19 (38%) عـــــزله بكتيريه فاقده للجدار الخلوي مرتبطه بخمج السبيل البولي المستـــديـــم .أحتلت بكتـــريا *Citrobacter freundii* المرتبـــــه الأولـــى وبنسبة 12% تلتها بكتـــــريا *Esherichia coli* , *Klebsiella oxytoca*, *Streptococcus feacalis* وبكتـــــريا *Serratia marcescense* وبنسبة 6%, 4%, 6%, 6% على التـــوالي جـــــدول رقم (4).

4-2: بكتريا ذات الجدار

تم عزل 16 (32%) عزله بكتيريه من ذوات الجدار الخلوي المشاركه بخمج السبيل البولي المستديم, وكانت بكتريا *E.coli* تمثـــل المرتبه الأولى وبنسبة عـــزل 18% , تلتـــــها كل من بكتريا *Proteus penneri* , *Strep. Feacalis* ,*Serratia marcescense* وبنسبة عزل 4% لكل منهما جدول رقم (4) .

جدول رقم (4) أنواع المسببات البكتيريه المشاركه بخمج السبيل البولي المستديم.

ت	العزله البكتيريه	فاقدة الجدار		ذات الجدار		الكلـــــي	
		No	(%)	No	(%)	No	(%)
1	*Citrobacter freundii*	6	(12)	1	(2)	7	(14)
2	*E.Coli*	3	(6)	9	(18)	12	(24)
3	*Klebsiella oxytoca*	2	(4)	0	0	2	(4)
4	*Streptococcus.feacalis*	3	(6)	2	(4)	5	(10)
5	*Staphyllococcus.hominis*	1	(2)	0	0	1	(2)
6	*Proteus penneri*	1	(2)	2	(4)	3	(6)
7	*Serratia marcescense*	3	(6)	2	(4)	5	(10)
8	المجمـــــــوع	19	(38)	16	(32)	35	(70)
9	NO growth					15	(30)
	الكلـــــي					50	(100)

5: الحساسيه الدوائيه

أختبرت العـزلات البكتيريه المستحصله في هذا البحث من البكتريا الفاقده للجدار الخـــلويالبكتـريا الأعتـياديـــه ولكل الأنواع بطريقة الأنتشـار من القرص (Disc diffusion method) ,(Bauer et al.1966), ووفقا لنقاط التوقف (Break points) المقرره ضمن (CLSI,2012) الجدول (5).

5-1:الحساسيه الدوائيه لفاقدات الجدار

بينت نتائج فحص الحساسيه الدوائيه للعزول البكتيريه فاقدة الجدارالناتجه مـن خمج السبيل البـولي أن بكتـريا *Streptococcus.feacalis* , *Klebsiella oxytoca* ,*Serratia marcescense* وبكتريا *Citrobacter freundii* كانت حساسـه للمضاد الحيـوي Impineme .وأظهرت النتائج أن بكتـريا *Streptococcus feacalis* , *E. coli* , *Citrobacter freundii* وبكتريا *Serratia marcescense* فاقـدة الجدار كانت حساسه للمضاد السيبروفلاكساسين جدول رقم (6).

5-2 :الحساسيه الدوائـيه للبكتريا ذات الجدار

بيـنت نتائج فحص الحساسـيه الدوائيه أن بكتـريا *E.coli* ذات الجدار ذات حساسيه عاليه للمضـاد الحيـوي الجنتـامايسين , بينما أظهـرت بكتريا *Proteus penneri* ذات الجـدارحساسيه لكل مـن

المضادين الحيويين التتراسايكليـــن والكلورامفنيكـــــول, بينما كانت بكتريا *Strep.feacalis* ذات حساسيه عاليه لكـــــل من التـــرايميثوبريم ,الأمبنيـــــم, الأمبيسيلين والسيبروفلاكساسين جدول رقم (7).

الجدول (5) أقطار مناطـــــق التثبيط للمضادات الحيويـــه المستخدمه في الدراسه (CLSI,2012).

المضادات الحيويه	المقاومـــــــه	الحساســـــه
Impineme (10 µg)	15≥	≥19
Tetracycline (10µg)	11≥	≥15
Ampicilline (10µg)	16≥	≥17
Ciproflaxacin(5µg)	15≥	≥21
Chloramphenicol(30µg)	12≥	≥18
Penicilline (10 Iu)	14≥	≥15
Trimrthoprim(5µg)	10≥	≥16
Gentamycin (10µg)	12≥	≥15
Cephalothin (5µg)	14≥	≥18

جدول (6) فحص الحساسيه الدوائيه للعزول البكتيريه فاقدة الجدار المعزوله من خمج السبيل البولي المستديم.

العزلات	المضادات الحيويه								
	TE	CE	IMP	C	AMP	GE	TM	CP	P
Citrobacter1	R	R	S	S	R	R	R	S	R
Citrobacter2	S	R	S	S	R	R	S	S	R
Citrobacter3	S	R	R	R	R	S	R	S	R
Citrobacter4	R	R	S	R	R	S	S	R	R
Citrobacter5	S	R	S	S	R	R	R	S	R
Citrobacter6	R	R	S	S	R	R	S	R	R
E.coli 1	R	R	S	R	R	R	R	S	R
E.coli2	R	R	R	R	R	S	R	S	R
E.coli 3	R	R	S	R	R	S	R	R	R

K.oxytoca 1	R	R	S	S	R	S	R	S	R
K.oxytoca 2	R	R	S	S	R	R	S	R	R
S.faecalis 1	R	R	S	S	R	R	S	S	R
S.faecalis 2	R	R	S	R	R	R	R	R	R
S.feacalis 3	R	R	S	R	R	R	R	S	R
S.marcescense1	R	R	S	R	R	R	S	R	R
S.marcescense2	R	R	S	R	R	R	R	S	R
S.marcescense3	R	R	S	R	R	R	R	S	R

جدول (7) الحساسيه الدوائيه لبكتريا ذات الجدارالمعزوله من خمج السيل البولي المستديم.

العزلات	المضادا الحيويه								
	TE	CE	IMP	C	AMP	GE	TM	CP	P
E.coli1	R	S	S	R	R	S	R	S	R
E.coli2	R	S	S	R	R	S	R	R	R
E.coli3	R	R	S	R	R	R	R	S	R
E.coli4	R	S	S	R	R	S	R	R	R
E.coli5	R	R	S	R	R	S	R	R	R
E.coli6	R	R	R	R	R	S	R	S	R
E.coli7	R	S	R	R	R	S	R	S	R
E.coli8	R	S	R	R	R	S	R	R	R
E.coli9	R	S	R	R	R	S	R	S	R
Citrobacter	R	R	S	S	R	R	S	S	R
S.feacalis1	R	R	S	S	S	R	S	S	R

S.feacalis2	R	R	S	R	S	R	S	S	R
Proteus 1	S	R	S	S	R	R	R	S	R
Proteus 2	S	R	R	S	R	R	S	R	R
Serratia 1	S	S	R	S	R	R	S	R	R
Serratia2	R	R	R	S	R	S	S	R	R

TE(Tetracyclin),CE(Cephaloxin),IMP(Impinem),
C(Chloramphenicol),AMP(Ampicillin),GE(Gentamycin)
TM(Trimethoprim),CP(Ceproflaxacin),P_G(Penicillin G).

المناقشه DISCUSSION

1. الأستجابه المناعيه الخلويه غير المتخصصه :

يرتبط خمج السبيل البولـــي المستديم مع المزارع السالبه للزرع, حيث أعطت بحدود 48.7% في محافظة بابل (Shanawa,1996). كما لوحظت البكتـــريا السالبه والموجبه لصبغة كـــرام في أربعة طرزمن الأستجابه الخلويه غيـــــر المتخصصه وهي وحيدة النواة (30%), مشتـــركه (34%) ومتعددة النـــواة (24%), لمفيه (12%). وكان خمج السبيل البـــولي المرتبط مع وحيدة النواة والمشتركه في سيـــاده واضحه مقارنة مع بقية الطرز الأخرى وهذا ما أكدته دراسه سابقه في محافظة بابل (Thewaini,2005).

2. مقارنة النمو البكتيري على الأوساط الروتينيه والمحوره:

جـــرى أستخدام تقنية الأوساط الزرعيـــه المحوره للتحري عن فاقدات الجـــــدار المشاركه بخمج السبيل البـــولي بالأضافه الى الأوساط الزرعيه الروتينيه ,فقد أعطت النتائج ثلاث مجموعات بكتيريه هي :

المجموعه الأولى : وهي المجموعه ألتي أعطت نتائـــج موجبه في تقنية الزرع المحور ونتائج سالبه في تقنية الزرع الروتيني , أي أنها أستطاعت النمـــــو على الأوساط الخاصه بفاقـــدات الجـــدار ولم تستطيع النمـــــــو على الأوساط الروتينيه وعددها 19عينه (38%) وألتي تـــــدل على أن المسبب البكتيري فاقد للجدار كليا بسبب ظروف بيئيه وفسلجيه .

المجموعه الثانيه : وهي المجموعه التي أعطت نتائـــج أيجابيه في كـــــلا التقنيتين وتشـــمل 16 عينه (32%) والتي تدل على أن المسبب البكتيري قـــد أتخذ شكلا وحيدا

(أي أن البكتريا ذات جـــــدار)أي أن المسبب البكتيري تمكن من النمو على الأوســـاط الزرعيه الأعتياديه كوســـــط أكار الدم ووســـط أكارالماكونكي والأوســـــاط الخاصه بعـــزل فاقـــــدات الجـــدار(الفارينت السائل والصلب) .

المجموعه الثالثه : وهي المجموعه الـــتي أعطت نتـــــائج سالبه في كل من التقنيه الروتينيه وتقنية الزرع المحور وعـــــددها 15 عينه وبذلك لم يتـــــم التمكن من عزل المسبب المرضي وقد يعود السبب في ذلك الى أن الأصابه ناتجه عن مسبـــب أخـــــر لايمكن عـــــزله في هذه التقنيات مثـــــل الفايـــروسات أو المايـــكوبلازما (Collee et al.,1996) , أو قـــد يكون هناك سبب أخر وهـــــــو أن المسبـــب المرضـــــي متخـــــفي في مناطـــق محميه وعميقه من الجسم (Brooks et al .,2007). وقـــــد تبين ذلك

من خلال الاستفسار من المرضى المصابين بالخمج البولي بأنه راجع عدة مرات وقد تناول العديد من المضادات الحيويه الا انه لايزال يعاني من حرقه في التبول ووجود مواد كثيفه في الادراروعند زرع العينه مباشرة على الاوساط الروتينيه كانت النتيجه سالبه (اي عدم وجود اي نمو بكتيري) اما عند زرعها على الوسط المحور ظهر النمو البكتيري جليا حيث كانت البكتيريا في المرحله الاولى متخفيه اما في المرحله الثانيه فقد استعادت جدارها الخلوي وظهر النمو كثيف وواضح وهذا يفسرعدم فائدة المضادات الحيويه التي يتناولها المريض لذا فأن باستطاعة البكتريا الفاقده للجدارالتكاثر بسرعه داخل جسم المريض بعيدا عن الاليات الدفاعيه محدثة الخمج البولي(Casadesus,2007).

3. طبيعة المسببات البكتيريه

3-1: بكتريا فاقدة الجدار

تبين من خلال الدراسه الحاليه ان البكتريا الفاقده للجدارالخلوي لها دورفي أستدامة الأمراض البكتيريه لما لها قابلية التخفي (Cryptilization) (Olga,2012) وخصوصا في أخماج السبيل البولي (Rehana,2010). وهذا ما أكدته الدراسه الحاليه حيث بينت أن نسبة الأصابه بالبكتريا فاقدة الجدار أعلى (38%) مما عليه البكتريا ذات الجدار الخلوي (32%). ومن خلال النتائج التي تم الحصول عليها اتضح ان بكتريا *Citrobacter frundii* احتلت المرتبه الاولى من بين العزلات البكتيريه الفاقده للجدار والمسببه للخمج وبنسبة (12%) وهذه النسبه مقاربه ألى ماوجده (Dongyou,2011) حيث بين ان نسبة الأصابه ببكتريا *Citrobacter freundii* تتراوح مابين (14-18%). وربما يعود السبب الى أن هذه البكتريا موجوده في الأغشيه المخاطيه للقنوات البوليه وكذلك بأمكانها أن تغزو الخلايا وتتكاثر داخلها. وكذلك تتصف هذه البكتريا بان لها القابليه على ظاهرة التباين المستضدي ولها القابليه على تغيير التراكيب السطحيه وذلك لتجنب اليات المضيف الدفاعيه ومن هذه التراكيب السطحيه الاهداب (Brooks et al.,2007).

أما بالنسبه لبكتريا المكورات المسبحيه والتي تحتل التصنيف D من نظام تصنيف المكورات المسبحيه وهي بكتريا *Strep.feacalis* فقد احتلت المرتبه الثانيه من بين عزلات فاقدة الجدار وبنسبة (6%) وهذه النسبه مقاربه لما ذكره (Alfred et al.,2008) حيث وجد أن هذه البكتريا من المسببات الشائعه لألتهابات المجاري البوليه لأمتلاكها عوامل ضراوه تؤدي الى حدوث الأصابه مثل قابليتها على الألتصاق بالخلايا البوليه الطلائيه وكذلك أمتلاكها بلازميد A المحلل للدم . جاءت بكتريا *E.coli* فاقدة الجدار بنسبة (6%) وهي نسبه مختلفه لما ذكره Emanuel (2008), حيث بين أن نسبة أصابتها 15≤% .تمتلك بكتريا *E.coli* العديد من المستضدات مثل المستضد K الذي يلعب دورا مهما في أصابة القوات البوليه والتناسليه (Brooks et al.,2007). كذلك تعد البكتريا احد المسببات المهمه لخمج المثانه الحاد والمزمن (Acute and chronic cystitis) خاصة عند الأشخاص الذين لايملكون عوامل مضاده لها وبذلك يكونوا أكثر عرضه للأصابه بهذه البكتريا (Mimis et al .,2004).

أما بالنسبه لبكتريا *Serratia marcescence* فاقدة الجدار الخلوي فقد عزلت هي الأخرى بنسبة (6%) مناظرة لسابقتها بكتريا *E.coli* وهذه النسبه نوعا ما مقاربة لماذكره Charles et al.,2012) تعتبر بكتريا *S. marcescence* من الممرضات المهمه للجهاز البولي والجهاز

الهضمي نظـرا لما تملكه من جينـــات تساعدها على حـدوث الامراضيه من جهه ومقـاومة المضادات الحيـــويه من جهة أخرى كأمتلاكها (*R-Factor*) المحمول على أكثر من جين من جينات هذه البكتريا (*Samuel et al .,2003*).

كذلك تـــم عزل بكتريا *Klebsiella oxytoca* فاقـــدة الجدار بنسبة 2% وهـــذه النسبه قريبه لما وجـــده (Keith et al.,2010), تعتبر بكتـريا الكلبسيلا من المسببات المهمه في أصابـــات السبيل البـولي وخاصة في عمليات القثـطره البوليه وعمليـات نظـام التصريـف المغلق Draining closed (system), (Arne et al.,2011) .تمتاز هذه البكتريا بأنـها مقـاومه للعديد من المضادات الحياتيه كذلك تمتلك الكبسوله التي تساعدها على الحمايه من الخلايا البلعميه (Steward et al .,2001).

وتـم أيضا خلال هـــذه الدراسه التمكن من عـزل بكتريا *Proteus penerri* فاقدة الجدار الخلوي وبنسبة عزل (4%) وهذه مقاربه لما مع ماوجدتـــه (Parija,2009) .تعد هـــذه البكتريا من الممرضات المعويـه العصويه السالبه لصبغة كـرام ولها أرتباط وثيـق مع أصابات الحصى (Stone) في الحالب والمثـــانه ويعود السبب لأن هذه البكتريا تنتج أنزيـــم اليوريز(Urease) الذي يتـولد من أنتـاجه توفر مستويات عاليه من الأمـونيا في الأدرار والذي يـؤدي بدوره الى أرتفاع نسبة القاعديـه (Alkalanity) والـتـي تتحول فيـما بعد الى بلـورات حاويـه على معـادن , لـذا فالمريض الـذي يعاني مـن تكون الحصى ربـما مصاب ببكتـريا (Jules,2012) *Proteus penerri*.

كذلك تـم عزل بكتـريا فاقـدة الجـدار*Staphyllococcus hominis* وهي مـن المكورات العنقـــوديه الموجبه لصبغة كـرام بنسبة عـزل (2%) وهـــذه النسبه مقاربه لما ذكره (Omar et al 2009.,) حيث بين أن نسبة تواجدها في القنوات البـــوليه 3-5% , تعتبر هـــذه البكتريا من المسببات لأخمـــاج المجاري البـــوليه والتناسليه وخاصة عـند الذكـور حـيث أشار (Kloos) وجماعته (1996) ان هذه البكتريا السالبه لفحص الأنـزيم المخثر لبـلازما الـــدم (Coagulase) تمتلك عـــوامل ضـــراوه تـؤدي الى حدوث الأصابه مثـل قابليتها على الألتصاق بالخلايا البوليه الطلائيه وكذلك أمتلاكها بروتينات مثل (Laminin) والكـولاجين, وهذه البكتريا لها القابليه على أنتاج مـــواد لزجه خارج خلويه مع فعاليه مضاده للبلعمه حيـث تؤثـرتأثير مباشر على الخـلايا اللمفاويه والخلايا المتعادله (Langley et al.,2005).

5. الحساسيه الدوائيه

أظهرت العزول البكتيريه فاقـدة الجدارالمرافقه لخمج السبيل البولي حساسيه عاليه جدا للمضادالحيوي (الأمبنيـم) بنسبة 100% في أغلب الأجناس المعزوله وهذا يتفق مع ماجاء بـه (Jeanine et al.,2012) .ومقاومه بنسبه تقارب 100% لكل من الأمبسلين ,التتراسايكلين السيفالوكسين والبنسلين وهـذا متطابق مع ماجاء به (Forbes et al .,2008).

ومن الواضح أن البكتريا بمرور الوقـت تصبح أكثر مقاومه للمضادات الحيويه وهذا قـد يعود الى الأستعمال الواسع لهذه المضـــادات , وربما يعود الى أنتاج العديـــد من الأنزيمات المحوره التي لها القابليه على تحطيم حلقة البيتا لاكتام أو تعمل البكترياعلى تغيير موقـــع الهدف الذي يعمل عليه المضاد (Alekshun &Levy,2007). وجـد أن أستعمال المضادات الحيويه مـن صنف Carbapenem ومنها مضاد Impinem تكون أكثر ثباتا من التحلل بواسطة الأنزيمات حيـث أثبتت الدراسات السريريه أن معدل

النجاح العالي للعلاج بهذه المضادات أفضل بكثير مقارنة بأنـــواع المضادات الحيويه الأخرى (Peter and Stephen,2006).

أن بكتريا المكورات العنقوديه *S.hominis* السالبه لفحص Coagulase من النوع الفاقـد للجدار أظهرت مقاومه عاليه للأمبيسيلين والسيبروفلاكساسين بيـنما كانـــت حســاسه للمضـــاد الأمبنيم بنسبة(100%) وهــذا ينطبق وماذكره (Proctor et al.,1998) وكـــذلك أشار (Gain,2004) على أن هذه البكتريا تمتلك جـين MecA المقاوم لهذه الأنـــواع من المضادات .أما بكتـــــريا الكلبسيللا فكانـت ذات حساســيه للمضاد السيبروفلاكساسين وبنسبة (50%) ومقاومـــه للبنـسلين والأمبسيلين بنسبة (100%) وهذا يتفق مع ماذكره(Forbes et al.,2008) بكتريا (*E.coli*) جاءت هـــي الأخرى حساسه للأمبنيـــم بنسبة (66.6%) ومقاومـــه للأمبيسيلين بنسبة (100%) وهذا يتفق الى حد كبير مع ماوجده (Sharifian,2006) حيث بيـن أن عـــتـر هذه البكتريا التي تسبب خمج السبيل البولي تبدي مقاومه عاليه للأمبيسيلين. ومن خلال دراســة الحساسية تبين ان البكتريا الفاقده للجدار مقاومه للمضادات التي تمنـــع تكوين الجدار الخلوي بسبب فقد الجدارالحاوي على مستلمات خاصه لهذه المضادات وبفقد الجـدار تفقد هذه المستلمات وبذلك يصبح المضاد الحيوي غيـر ذي فائده في معالجة مثـل هذه الاصابات البكتيريه(Shnawa,2004).

References

Alekshun,M.N. and Levy, S.B.(2007). Molecular mechanism of antibiotic multidrug resistance.Cell Biol.128:1037-1039.

Alfred , E .B ; Geoffrey ,W.C. and Steven , E . S . (2008). Osteograads Urogynecolog and pelvic food disinfection.6th(ed).Lippincott.93

Alsultany,N.A.R.(2005).Cryptic Bacterial infection in Pneumonic patients.Msc thesis, Babylon University.IRAQ.

Arne ,E and Heiko . E . (2011) . Sepsis-pro inflammatory and anti inflammatory response.Karger. 17: 72-75.

Brooks,G.F; Stephen.J;Jawetz, Melinch and Adelberg.(2007). Medical microbiology. 24th(ed).Appleton:296-304.

Casadesus , J . (2007) . Bacterial L-form require peptidoglycan synthesis for cell division .Bio Essay: New and Re- view in molecular,Cellu. Developmen. Biolo. 29(12):1189-1191.

Charles,W.S.and Yi-Wei.T.(2012). Advance Techniques in- Diagnostic Microbiology. Springer.5:118.

Charles ,G . P ; Larry , K. P . and Sara , S.L.(2012).Principles and Practice of Pediatric infectious disease.4th(ed).Elsevie: 675-685.

Colle , J .G ; Fraser, A.G;Marimion,B.P. and Simons,A.(1996).Mackie and McCarteny Practical Medical Micro- biology.14thed.The Churchill Livingston.In.USA.

Dongyou , L . (2011) . Molecular Detection of Human Bacterial pathogen.. 3rd(ed). .CRC Press: 828-830.

Emanuel, R ; David, S .S .and Ruphael,R.(2008).Rubin's Pathology :Clinicopathogenic and Medicine.6thed. Lippincott:809.

Forbes , B . A , Sahm, D .F ,and Weissfeld , A . S . (2008).Baily and Scotts Diagnostic Microbiology.12th(ed)Mosby: 263-270.

Gain , A . ; Agarwal , J.and Bansal,S.(2004).Prevalence of Methicillin-resistantcoagulase negative *staphylococci* in neonatal intensive care unit ; India.J.Med.Microbial. 53(6):941-944.

Jeanine , P . W . and Polly , E .P . (2012). Critical Care secrets. 5th(ed). Mosby : 137.

Jules , S . B . (2012) .Taxonomic Guide to infectious Disease under studing the Biologic classes. 1st(ed).Elsevier:60.

Keith , F . ; Lauten , B . and Pretti , N . M . (2010).Practical health care.3rd(ed). Chicago press . London:157.

Kloos,R.J.and Ray,C.G.(2004).Sherris Medical Microbiology.4th (ed). McGraw Hill:294.

Langley , R . ; Wines , B . ; Willoughby, N. ;Basu , I .; Profi,T. andFraser ,J.D.(2005).The *Staphyllococcal* superantigen .like proten 7 binds IgA and ComplementCs. and inhibits IgA.J.Imunol.174:2923-2926.

MacFaddin,J.E.(2000). Bio- chemical test for Identification of Medical Bacteria,3rd(ed). p.27-439.Lippincott Williams and Wilkins Co.,Baltimor,USA. Mimis,C.;Dockrell , H.M .; Goering , R.V.;Rpitt.;Wakeline,D.and Zvckerman,M.(2004). Medical Microbiology 3thed:285-289.

Olga ,I .B . (2012) . Ultrastructural Plasticity Cyanobacteria.3rd ed.Springer. Moscow :67-70.

Omar , A . D ; Grary , F .and Samir , S . S . (2009). The Inpatient Pediatric Work-up.2nd ed.Lippicott:361.

Parija , S. C . (2009) . Text book of Microbiology and immunology .Elsevier.India.3:70.

Peter,M.B.and Stephen,H.G.(2006). Principles and Practice of Clinical Bacteriology.2nd ed. Wiley Co.USA:347.

Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Twenty-second information supplement(2012).Vol.31,No.1(CLSI

Proctor , R . A ; Kahl, B., Voneiff , C . ; Vaudaux , P ;Lew,D.P. and Peters,G.(1998). Staphyllococca small colony variants have novel mechanism for antibiotic resistance.Clin.Inf.Dis.27(1):868-874.

Ashton Q., A .(2011) . Enterobacteriaceae infections : Advance in Research and Treatment .2011 Edition. Scholary Edition, Atlanta. :90-100.

Rehana ,K .and Syed ,M.A.(2010).Abook of Biotechnology.1sted . University Science Press.New Delhi:126-129.

Samuel ,M .G.(2003).Emergency pathophysiology: Clinical Application for prehospital care.3rd (ed).Teton,Newmedia:207-209.

Shnawa,I.(1996).The antimicrobial resistant for *Staphyllococcus aureus* isolated from human pyuria in babylon province-Iraq.J.Teach.Res.(impress).

Shnawa,M.S.(2004).Resistance and Resistograms of majar human mammary associated bacterial pathogens.J. of Babylon Univ.822:1986.

Sharifian,A; Karimi,A.;Tabatabaei,S.R. and Anvoripour,N. (2006). Microbial sensitivity pattern in urinary tract infection in children .J.Infect .Dis. 12(2) :1150-1163.

Steward, C .D .; Rasheed, J . K. ;Hupert,S.K ;Biddle ,J.W.;Raney, R.M.;Anderson ,G.J. William , P .P .; Britain , K .L .;Oliver, A.;MacGowan,J.E.and

Tenover,F.C.(2001) Characterization of clinical isolates of *Klebsiella pneumonia* from 19 laboratory standards extended – spectrum β –lactamase detection methods. J.Clin.Microbiol .39:2864-2877.

Thwaini , Q . N . (2005).Lymphocytic Versus Monocytic persistent Uropathy .13(No.3). .(impress).

Thwaini , Q . N .(2002) .Biology of Cell Wall Defective Microbs from PersistentPyuria and Heamturia Patients.Ph.D thesis, Babylon University.IRAQ.