عزل وتشخيص بكتريا الـ Clostridium perfringens من ردهات الجراحة والحروق والكشف عن سميتها داخل جسم الكائن الحي Invivo

هيام قائد محمد الكناني
كلية الطب / جامعة القادسية

الخلاصـــــة : -

اظهرت نتائج دراستنا هذة ان نسبة التلوث ببكتريا الكلوستريديم برفرنجيز في ردهات الحروق كانت(28 %) من اصل (50) عزلة وان اعلى نسبة للتلوث كانت في ارضيات هذه الردهات (50 %) تليها حروق المرضى الملتهبة (40 %) ، اما في ردهات الجراحة فكانت نسبة التلوث (22 %) واعلى نسبة للتلوث فيها كانت في اسرة المرضى (40 %) تليها الارضيات (30 %) وجروح المرضى الملتهبة (30 %) ايضا . تم عزل (25) عزلة لهذه البكتريا صنفت الى اربعة مجاميع مصلية هي المجموعة (A) بنسبة (44 %) و B بنسبة (16 %) و C بنسبة (24 %) و E بنسبة (16 %) وان جميع العزلات المعزولة من المرضى والبالغ عددها (7) عزلات انتجت انزيم اللسثنيز أي نسبة (100 %) في حين ان (9) عزلات من مجموع (19) عزلة عزلت من بيئة المستشفى (ردهات الجراحة والحروق) كانت منتجة لهذاالانزيم اعلاه أي بنسبة (47.3 %) واظهرت نتائج اختبار السمية في الفئران المختبرية ان النسبة المئوية الاجمالية للسمية التي ابدتها العزلات البكتيرية كانت (72 %) وان كافة عزلات الحروق والجروح كانت سامة أي بنسبة (100 %) في حين ان (26) عزلة من عزلات المحيط كانت سامة ايضاً بنسبة (61%) ، وان اشد العزلات سمية هي المجموعة A تليها B . C . E وان هنالك توافق كبير بين انتاجية هذه العزلات للسم الفا (انزيم اللسثنيز) مع السمية في الفأر الأبيض .

المقدمـــــــة Introduction :-

بكتريا الكلوستريديم برفرنجنز *Clostridium Perfrengens* واسعة الانتشار في الطبيعة ، فهي متواجدة في التربة ، غبار الشوارع ، البراز ، الاغذية المتنوعة ، ومياه المجاري ، وتعتبر القناة المعوية للانسان والحيوانات بيئة طبيعية لها [1,2]واوضح [3]ان *CL . perfrengens* قد تعزل من جو الردهات الجراحية في المستشفى وان ذلك يرجع لعدة اسباب اهمها ، رداءة انظمة التهوية ، وان وجود هذه البكتريا في بيئة المستشفى وفي ردهات الجراحة والحروق حيث يرقد مرضى الحروق والجروح هي من الحالات التي تنذر بالخطر والتي تستدعي اهتمام الجهات المختصة اذ تسبب هذه البكتريا عند تواجدها في موضع الحرق او الجرح موت موضعي لتلك المنطقة وهو ما يطلق عليه بالكانكرينا الغازية (Gas gangerena) [4,5] .

وتعتبر هذه الحالة من الحالات المميتة ، فبعد نمو انواع معينة من الكلوستريديم لاهوائية في عضلات وانسجة الجسم المختلفة تتحرر سموم خارجية تنتقل داخل هذه الانسجة بسرعة عالية ويعتمد نشوء هذه الحالة على التداخل المعقد الذي يحدث ما بين البكتريا وسمومها المعززة من جهة وما بين الانسجة والاعضاء المصابة من جهة اخرى[6] .وان اهم السموم المسببة لتوليد مرض الكانكرينا الغازية هو سم الفا (toxin ℵ -) او انزيم اللسثنيز (Lecethinas)[7] الذي يعمل على فصل اللسثين والاسفنكومايلين من البروتينيات الدهنية التي تدخل في تركيب الغشاء الخلوي لمعظم الخلايا النسيجية وخلايا الدم ، وعليه فان مرض الكانكرينا الغازية يبدأ بفعل هذا الانزيم حيث يحطم كريات الدم الحمراء والبيضاء ويخل في نفاذية الخلايا الاخرى وبالتالي ينتج نقص في تجهيز الدم وتضعف عمليات الاكسدة والاختزال في النسيج فيحصل ورم فيه بسبب اختلال النفاذية وتحطيم الخلايا مما يحفز فعالية الانزيمات الداخلية المحللة للبروتين وبالتالي ينتج تحلل خلوي للنسيج المصاب [8,9] ونظرا لاهمية هذه البكتريا من الناحية الصحية ولعدم اجراء أي دراسة عليها في محافظة القادسية ارتاينا القيام بهذه الدراسة التي تهدف الى :-

- عزل وتشخيص بكتريا الكلوستريديم برفرنجنيز من ردهات الجراحة والحروق التابعة لمستشفى الديوانية التعليمي ومن المرضى الراقدين في تلك الردهات .
- اختبار قابلية هذه العزلات على انتاج انزيم اللسثنيز (سم الفا) .
- اختبار القابلية السمية لهذه العزلات باستخدام الفئران المختبرية .

طرائق العمل Material & methods

1) جمع العينات Collection of Samples :

جمعت (100) مسحة من ردهات الجراحة والحروق والمرضى الراقدين في تلك الردهات للفترة من آب 2004 ولغاية كانون الاول 2004 ، واتبعت طريقة [3] في جمع العينات ، إذ أخذت النماذج بواسطة المسحات القطنية المعقمة Sterile Cotton Swabs من الجروح العميقة والملتهبة تحتوي هذه المسحات على المحلول الملحي الفسيولوجي (Normal Salin) الذي اضيف لها بعد فتحها في ظروف معقمة في مختبر المستشفى ودورت في مكان الحرق أو الجرح ، أما الاخماج التي تحتوي على قيح (pus) فقد سحب جزء من القيح بواسطة سرنجات معقمة (Sterile Sringes) وبالنسبة للعينات التي جمعت من البيئة فتم ذلك بتدوير المسحة في مكان الجمع المطلوب ، نقلت بعدها العينات الى المختبر خلال 5 دقائق لغرض تنميتها على الاوساط الخاصة ببكتريا الكلوستريديم برفرنجنز ومنها وسط الثايوكلايكوليت (Thyoglyco late medium) ووسط اللحم المطبوخ Cooked meat medium ، حضنت الاوساط بالحاضنة بدرجة 37°م لمدة 18 – 24 ساعة وتحت ظروف لاهوائية ، بعدها اخذ ملء الناقل من المزروع وزرع على وسط اكار الدم والكلوكوز (Glucose – blood agar) . (اضيف الكلوكوز كمصدر للطاقة وكعامل مختزل) حضنت الاطباق المزروعة تحت ظروف لاهوائية باستخدام anaerobic jar بعد تفريغها وملئها بالنتروجين مرتين – بعد حضانة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°م يتم اختبار المستعمرات النموذجية للـ *CL . perfringens* ويعاد الزرع على نفس الوسط لأجل التنقية ثم تعمل الاختبارات ألتأكيدية على تلك المستعمرات لغرض التشخيص .

2) التشخيص Diagnosis :-

تم التشخيص بالاعتماد على الصفات المظهرية للبكتريا مثل شكل البكتريا ، التخمر العاصفي في الانابيب ، طبيعة تخمر السكريات ، طبيعة الاصطباغ كلون كرام بالاضافة الى الاختبارات البايوكيمياوية ومنها اختبار اختزال النترات ، توليد كبريتيد الهدروجين ، اختبار تحلل النشأ ، أما الاختبارات المصلية فتم اجراؤها باستخدام (Kits) خاصة مجهزة من شركة (Difco)[10].

3) الكشف عن انزيم اللسثنيز Lecethinase enzyme test :-

للكشف عن هذا الانزيم ومعرفة فعالية وكمية سم الفا (Lecethinaso) اتبعت طريقة (Jacke) وذلك بأضافة 0.5 مل من راشح مزروع الكلوستريديم برفرنجنز النامية في وسط ماء اللحم الحاوي على المالتوز الى الانابيب التي تحتوي على 5 مل من محلول مح البيض ، حضنت هذه الانابيب لاهوائيا لمدة (6 – 16 ساعة) وبدرجة 34 °م ، ان تكون طبقة دهنية تطفو فوق سطح المحلول تدل على ايجابية الفحص [11].

4) الكشف عن سمية الـ *CL-perfringens* المعزولة

A) توليد السموم :- Toxicity test of *CL-perfringens*

اتبعت طريقة (Yamamoto *et.al.*) تتضمن تنمية عزلات الكلوستريديم برفرنجنز في وسط ماء اللحم المطبوخ المضاف اليه سكر المالتوز بنسبة 20 % (1 % كمواد محفزة لأنتاج معظم السموم من قبل عزلات الكلوستريديم رفرنجنز حيث يلقح الوسط الزرعي الحاوي على الدم والكلوكوز بنسبة 1 % ويحضن لمدة 24 ساعة تحت درجة 34°م ومن هذا الوسط يلقح الوسط الحاوي على اللحم والمالتوز ويحضن لاهوائيا لمدة 24 – 48 ساعة وبدرجة 37°م [12] .

B) الحصول على السموم من راشح المزروع البكتيري :-

لفصل البكتريا عن مزروعها السائل استعمل جهاز الطرد المركزي بقوة 6000 دورة / دقيقة لمدة نصف ساعة بحرارة 24°م ، يؤخذ السائل الطافي والحاوي على السموم ويحفظ في انابيب معقمة في 4°م لحين اجراء التجارب على ان لاتزيد مدة الخزن عن يومين [13] .

C) الكسشف عن السمية :-

اتبعت طريقة (Yamamoto *et.al.*) وذلك بزرق 0.5 مل من راشح مزروع البكتريا الحاوي على السموم في الوريد الذنبي للفأر الابيض ونلاحظ النتائج ابتداءاً من فترة الحضن ولمدة 24 ساعة المتمثلة بهلاك الحيوان المختبري [12] .

النتائج والمناقشة Results & Disscution:-

أظهرت نتائج هذه الدراسة بأن نسبة التلوث ببكتريا *Cl-perfringens* والمسجلة في ردهات الحروق كانت (28 %) وهي اعلى من النسبة المسجلة في ردهات الجراحة والتي كانت (22 %) وان اعلى نسبة للتلوث في ردهات الحروق كانت في أرضياتها (50 %) يليها حروق المرضى الملتهبين (40 %) في حين اقل نسبة تلوث (20 %) كانت في البسة المرضى وكذلك في الادوات والشاش جدول (1) . اما في ردهات الجراحة فكانت اعلى نسبة (40%) في اسرة المرضى تليها الارضيات الردهات وجروح المرضى الملتهبة اذ كانت نسبة التلوث فيهما (30%)
اقل نسبة (10%) كانت في البسة المرضى والادوات واالشاش جدول (2). . ان تواجد البكتريا ال *Cl. perfringens* كان متوقع في اخماج الجروح التي تظهر عليها اعراض الكانكرينا ويكمن تواجدها في محيط المرضى وخاصة مرضى الحروق والجروح وفي الادوات والشاش التي تكون معقمة تماما يدعو الى الحيطة واتخاذ سبل وقائية فعالة ، كأن تعقيم الادوات الجراحية واللوازم الاخرى بأستخدام الفرن بحرارة 160 لمدة ثلاث ساعات او حرارة 180 لمدة ساعتين ، وان أي تقليص في الفترة الزمنية المطلوبة من قبل المحضرين اا العاملين يعطي الفرصة سبورات بكتريا الكانكرينا الغازية كي تبقى حية [14].
وبين (Lidwell&Noble) بأن طريقة التهوية لها دور في تلوث جو المستشفيات أذ ان فتح الابواب والشبابيك في الردهات اوالصالات او عند تعطل التهوية المركزية واستخدام المفرغات الهوائية يسمح بدخول الهواء الخارجي والغبار الى داخل الصالة او الردهات وتكرارتلوثها ببكتريا الكانكرينا الغازية بالرغم من التعقيم المستمر للادوات والمناضد وأرضية الصالة[15].
وأتضح من خلال دراستنا أن هناك (14) مريضا من مرضى الحروق والجروح ظهرت عليهم اعراض الكانكرينا الغازية، الا ان مسحات جروحهم أو حروقهم او القيح المأخوذ من اماكن اخماجهم لم تعطي نتيجة موجبة لنمو بكتريا ال (*CL . perfringens*) أو لأي نوع آخر من بكتريا الكوستريديا التي تسبب الكانكرينا الغازية وفسر skiles هذه الحالة بوجود أصابات تتولد فيها غازات بكميات كبيرة ولكن ليست بسبب الكوستريديا بل هنالك (17) بكتريا مرضية لها القابلية على أحداث هذه الظاهرة وأكثرها شيوعاً هي (*Enterococcus*) و (*Escherichia coli*) وتعتبر من الأصابات الخطيرة المؤدية إلى هلاك المريض ، ولأجل أعطاء العلاج الصحيح يجب التفريق بين الحالتين اعلاه وخاصة عند إعطاء ال (Hyperbaric Oxygen Therapy) [16].

جدول (1) النسبة المئوية للتلوث ببكتريا (*CL. Perfringens*) في ردهات الحروق

ت	الموقع	عدد العينات	عدد العينات التي أعطت نمواً	النسبة المئوية للتلوث
1	الأرضية	10	5	50 %
2	أسرة المرضى	10	3	30 %
3	ألبسة المرضى	10	2	20 %
4	الأدوات والشاش	10	2	20 %
5	حروق المرضى الملتهبة	10	4	40 %
6	المجموع	50	14	28 %

جدول (2) النسبة المئوية للتلوث ببكتريا (*CL. Perfringens*) في ردهات الجراحة

ت	الموقع	عدد العينات	عدد العينات التي أعطت نمواً	النسبة المئوية للتلوث
1	الأرضية	10	3	30 %
2	أسرة المرضى	10	4	40 %
3	ألبسة المرضى	10	1	10 %
4	الأدوات والشاش	10	1	10 %
5	جروح المرضى الملتهبة	10	2	30 %
6	المجموع	50	11	22 %

بلغ عدد عزلات بكتريا (*CL.perfringens*) في هذه الدراسة (25) عزلة (7) منها عزلت من مرضى الحروق والجروح ممن ظهرت عليها أعراض الكانكرينا و (18) عزلة من أرضيات وأسرة المرضى وألبستهم والشاش والأدوات في ردهات الجراحة والحروق وعند تصنيف هذه العزلات مصلياً وجد أنها تعود إلى أربعة أنواع مصلية وهي (E , C , B , A) وأن جميع العزلات التي عزلت من المرضى المخمجين هي من النمط (A) ، أما توزيعها فكانت (11) عزلة بنسبة (44%) تعود للنوع المصلي (A) و (4) عزلة بنسبة (16%) تعود للنوع المصلي (B) و(6) عزلة بنسبة (24%) تعود للنوع المصلي (C) و (4) عزلة أي بنسبة (16%) تعود للنوع المصلي (E) وبذلك يتضح أن أعلى تردد كان للنوع المصلي نوع (A) وهذا يدل على الإمكانية العالية لتلوث الجروح داخل المستشفى ، وأفاد Bodian بأن النوع المصلي (A) هو المسؤول الأول عن حالات الكانكرينا الغازية أذ إن (80%) من حالات كانكرينا الجروح تعود إلى هذا النوع المصلي [17] .

أما بالنسبة للكشف عن أنزيم اللسثنيز (سم ألفا) فقد أنتجت (12) عزلة من عزلات الكلوستريديم برفرنجيز أنزيم اللسثنيز على وسط مح البيض بأعتماد قياس سمك الطبقة الدهنية الطافية فوق المزروع المحتوي على محلول مح البيض فأختلف سمك الطبقة الدهنية في القراءات الموجبة في أنابيب الأختبار مابين (2 – 6) سم خلال (6) ساعات وأن كافة العزلات التي عزلت من جروح وحروق المرضى كانت منتجة للسم ألفا أي بنسبة (100%) في حين أن (9) عزلات (47.3%) من مجموع (19) عزلة بيئية كانت منتجة للسم ألفا جدول (3) وأظهرت نتائج أختبار سمية العزلات في الفأر الأبيض المختبري إن العزلات السامة أدت إلى هلاك الحيوان بعد مرور 15 ساعة ، وإن أشد العزلات سمية هي عزلات المجموعة (A) ثم المجاميع (E , C , B) بأعتماد الفترة الزمنية لهلاك الحيوان ، وكانت عزلات المجموعة (A) المأخوذة من حروق وجروح المرضى المخمجين سامة بنسبة (100%) والمأخوذة من محيط المرضى بنسبة (59.8%) ، أما النسبة المئوية الأجمالية لسمية عزلات الكوستريديم برمزينجنز المعزولة في الدراسة فكانت (69.2%) جدول (4) . وعند النظر إلى عزلات الجروح والحروق لوحدها نجد أن السمية فيها كانت عالية (100%) مقارنة مع عزلات محيط المرضى التي بلغت نسبة السمية فيها أجمالاً (57.8%) وقد يعود ذلك إلى أن نمو البكتيريا داخل النسيج يكون منشطاً لإفراز سمومها وأنزيماتها [18]. وجاءت نتائجنا هذه مؤكدة لنتائج (Denser) في أن عزلات الجروح هي أكثر سمية من عزلات المحيط [19] وللنظر في توافق ايجابية توليد اللسثنيز مع السمية في الفأر الأبيض فقد كان التوافق كبيراً وظهر أن كافة العزلات السالبة في فحص السمية أنها غير مولدة لأنزيم اللسثينز (سم ألفا) وأن هنالك عزلتين كانتا سامتين للفأر الأبيض وأن فترة هلاكهما للحيوانات كانت (15) ساعة غير أنها غير مولدة لأنزيم اللسثينز مما يشير إلى إن هناك سموم أخرى مثل سموم بيتا وأبسلون وأيوتا لها دور في تعزيز سمية عزلات الكلوستريديم برفرنجيز [20] ، وكانت أشد الأنواع المصلية سمية هي عزلات المجموعة (A) تليها (B) ، (C) ، (E) بالأعتماد على الفترة الزمنية لهلاك الفأر الأبيض الممتدة بين ساعتين إلى ست ساعات ولم تعتمد على سمك الطبقة الدهنية كدلالة لفعالية سم ألفا الأنزيمي إذ كان سمك الطبقة الدهنية لبعض عزلات المجموعة المصلية يساوي (6) سم ولكن فترة الهلاك كانت (5) ساعات في حين أن سمك الطبقة الدهنية لعزلات أخرى يساوي (3) سم ولكن الهلاكات أستغرقت ساعتين فقط ، ونتائج دراستنا هذه تتوافق مع نتائج دراسة (Hinton) في إن هناك توافقاً في أيجابية توليد اللسثينز مع فحص السمية في الفأر الأبيض [21] في حين أشار (Mishrq) إلى أنه لايوجد توافق بين الحالتين في دراستنا وبهذا فأن نتائج دراستنا تشير إلى مدى خطورة تواجد عزلات الكلوستريديم برفرنجيزسواء عند المرضى أو في محيطهم إذ إن تواجد هذه البكتيريا وبهذه الضراوة مع مرضى الحروق والجروح الذين يعانون من نقص الدفاعات المناعية وخصوصاً الحاجز المناعي الأول وهو (الجلد) هي حالة تستدعي الانتباه لأنها قد تؤدي إلى كوارث صحية هائلة [22] .

جدول (3) قابلية عزلات بكتيريا (*CL.perifregens*) على أنتاج سم ألفا (أنزيم اللسثينز) بدلالة قياس سمك الطبقة الدهنية الطافية على وسط مح البيض

المصدر	عدد العزلات	عدد العزلات المنتجة للسم	النسبة المئوية لأنتاج السمية	سمك الطبقة الدهنية
جروح وحروق المرضى الملتهبة	7	7	% 100	3 – 6 سم
الأرضيات	8	4	% 50	2 – 4 سم
ألبسة المرضى	8	3	% 37.5	6 سم
الأدوات والشاش	3	2	% 66.6	5 سم
المجموع	26	16	% 61.5	

جدول (4) سمية المجاميع المصلية لبكتيريا (*CL.perifregens*) المعزولة بدلالة هلاك الفأر الأبيض المحقون براشح البكتيريا في الوريد القريني

المصدر	عدد العزلات	النوع المصلي	عدد العزلات السامة	النسبة المئوية للسمية
جروح وحروق المرضى الملتهبة	7	A	7	% 100
الأرضيات	8	1E + 4B +1A	5	%62.5
ألبسة المرضى	8	6C + 2A	4	% 50
الأدوات والشاش	3	2E + 1A	2	% 66.6
المجموع	26		18	% 69.2

References المصـــــــادر الأجنبية

1-Smith , f . J and Hold man , s .(1990). Principle of microbiology . 1st.ed. mosby year book .

2-Louise B. Hawley, (2000). High – yield microbiology and infectious diseases. Printed in the United States of America. med. 9: 49. Lippincott, Wialliams & Wilkins.

3-Lowburry , S.D . and Lilly , J.M. (2003) . Biochemical test for identifaction of bacteria and other microorganisms . 2th . ed . Churchill living stone .

4- Bryant, A. E., Chen, R. Y., Nagata, Y., Wang, Y., Lee,C.H., Finegold, S., Guth, P. H. & Stevens, D. L. (2000a). Clostridial gas gangrene. I.Cellular and molecular mechanisms of microvascular dysfunction induced by exotoxins of *Clostridium perfringens*. J Infect Dis 182, 799±807.

5- Bryant, A. E., Chen, R. Y., Nagata, Y., Wang, Y., Lee, C. H., Finegold, S., Guth, P. H. & Stevens, D. L. (2000b). Clostridial gas gangrene . II. Phospholipase C-induced activation of platelet gpIIbIIIa mediates vascular occlusion and myonecrosis in *Clostridium perfringens* gas gangrene. J Infect Dis 182, 808±815.

6- Bryant, A. E., Steves, D. L.(1996). Phospholipase C and perfringlysin O from Clostridium perfringens upregulate endothelial cell – leukocyte adherence molecule 1 and intercellular leukocyte adherence molecule 1 expression and induce interleukin - 8 synthesis in human umbilical vein endothelial cells. Infect Immun 64, 358±362.

7- Hofman, P., Le Negrate, G., Mograbi, B., Hofman, V., B., Hofman, V., Brest, P., Allinana- Schmid, A., Flatau, G., Boquet, P. & Rossi, B. (2000). Escherichia coli cytotoxic necrotizing factor-1 (CNF-1) increases the adherence to epithelia and the oxidative burst of human polymorphonuclear leukocytes but decreases bacteria phagocytosis. J. Leukoc Biol 68, 522±528.

8- Ochi, S., Hashimoto, K., Nagahama, M. & Sskurai, J. (1999). Phosphplipid metabolism induced by Clostridium prefringium alpha-toxic elicits a hot±cold type of hemolsis in rabbit erythrocytes. Infect Immun 64, 3930±3933.

9-Jawetz,E, Melnik , J.L ., Adelberg, E .A. Brook ,G.F. ,Bute. J.S. and morse , S.A. (1998) .
medical microbiology 21th ed . Appleten and lang , New York , connectical .

10-Colle,J.G.Fraser ,A.G. Marmion , B.P. and simmon , A.S.(1996) practical medical microbiology . chunchill Living stone .

11-Jacke, M.D.(2000). Comparative study about lecithinase in Clostridium sp. Chilli stone.

12-Yamomoto , R. Lawburry ,.; Hafman , D. (1972). Text books of medical microbiology , pathogericity and diseases managent , 2 th .ed. Lippincott, wialliams & willikins .

13-Nord , F ; Janes , R.; PFaller , R.(1990) . how best to test for toxicity of bacteria , CAP

in the News CAP to day. Cover story , P :11 – 14.

14-Albert , D.K. (2001) . Methods of sterilization with abstract of CL.perifringens, stuation in **the fedral republic of Germany , J.INF.med., 18 ; 6 – 21 .**

15-Lidwell , F.D. and Noble , R.(2002). Methods of controlling on contamination , frequencies from the SENTRY surveillance program (united states and Canada , (2000) 4 z : 111- 115 .

16-Skiles , p .(1988) . predictive factors for an erobic infections caused by gram positive and gram negative bacteria, Enferm. Infect. 11: 2-9.

17-Bodian , M.(1989) . Serological study about CL.perfringens in the surgical unit.surg.Infect.6i657- 675 .

18-Martin , f , Doern, M.J. Sukop.R(1990). Bacterial pathogens isoletes from patients with general infections. Enferm. Infect. Microbral. Clini. 14 (9) : 20- 29 .

19-Denser , R.B.(1997). Detection of X.Toxin in some an erobic bacteria . J,med . Assoc. thai , 11. 5 – 12 .

20-Hinton, M.D. (2002) . Risk Factor of an erobic Nosocomial infection . J .Grit . car . med . 153 : 185 – 62 .

21-Mishra , D. (1998). Study about CL.perfringens toxicity and pathogenicity. J .med. 4 : 5- 11 .

Summary

The results of our study revealed that the percent of bacterial contamination with *Clostridium perfringens* in burns wards was (28%) from (50) isolates and the highest ratio of contamination were in floor of wards (50%) , flloowed by patients of inflammation burns (40%) ,while in surgery wards was (22%) and the beds of patient was high in contamination (40%) ,followed by floors (30%) ,then inflammatory wounds (30%) . Twenty- five isolates were identified belong to four serogroup: A with ration (44%) , B (16%) , C (24%) and E (16%) , and all the isolates (7 isolates) were produced lecithinase (100%) , where as (9 isolates) out of 19 isolates from hospital environment (Burns & surgery wards) were positive for this enzyme in a ration (47.3%). The results of toxicity test in laboratory mice revealed that the total percent of toxicity was (72%) and all the isolates of burns and wounds were toxic (100%) ,while (26 isolates) out of environment isolates were also toxic (61%) , and the most severity of toxicity was serogroup A , followed by B , C , and E , and there is a large compatibity between production of α- toxin (lecithinase) of isolates with toxicity in laboratory mice.