دراسة نسب التلوث الميكروبي في مستشفى الحلة التعليمي في محافظة بابل

حيدر قاسم رحيم رقية منذر جليل

جامعة بابل / مركز ابحاث الحمض النووي DNA

haider.qassim@uobabylon.edu.iq

الخلاصة:

في هذه الدراسة تم حساب نسبة التلوث الميكروبي في صالات مستشفى الحلة التعليمي في محافظة بابل وفي مدة خمسة اشهر من شهر تشرين الاول ٢٠١٦ ولغاية شهر شباط ٢٠١٧ حيث ظهرت اعلى نسبة تلوث في صالات الحروق حيث ظهرت ١٠ مسحة ملوثة وبعدها صالات العمليات ٩ مسحة ملوثة وصالات الخدج والانعاش الجراحي ٦ مسحة ملوثة لكل منهما ومسحة ١ ملوثة في صالة الناظور اما بالنسبة لصالات الانعاش الباطني والولادة وفحص العاملين من الملاك التمريضي ومقدمي التغذية لم يثبت وجود اي حالة تلوث ميكروبي. وعند حساب العدد الكلي للمسحات الملوثة لجميع الصالات وجد عددها ٣٢ عينة جاءت *Staphylococcus aureus* بالمرتبة الاولى٢٤ عينة بنسبة٧٥% وبعدها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ٥ عينة بنسبة ١٥,٦% وبعدها *Escherichia coli* ٣ عينة بنسبة٩,٤%. تمت دراسة الصفات الزرعية المختلفة العائدة للمستعمرات النامية بعد جمع المسحات وتم التأكد من تشخيصها بأجراء الفحوصات البيوكميائية المختلفة وتم اختبار حساسية العزلات لخمسة ٥ انواع من المضادات الحياتية Gentamicin،Amikaci ، Meropenem، Ciprofloxacin ، Cefotaxime حيث اظهرت نتائج متغايرة لكل بكتريا وحسب نوع المضاد.

الكلمات المفتاحية: عدوى المستشفيات المكتسبة، اخماج، ممرضات انتهازية، المضادات الحياتية.

Abstract:

During this study, the percentage of microbial contamination was calculated in the halls of Hilla Teaching Hospital during the period of five months from October 2016 to February 2017. We observed the percentage of pollution high in burns hall 10 contaminated swabs, the operating theaters 9 contaminated swabs, preterm infants and surgical resuscitation 6 contaminated swabs and 1 swab in the Nador Hall. In terms of internal rehabilitation and childbirth, screening of nursing staff and nutritionists,no microbial contamination was detected. The total number of polluted swabs was 32, followed by *Staphylococcus aureus* (24), 75%, *Pseudomonas aeruginosa* (5),15.6% and *Escherichia coli* (3), 9.4%. The isolates were tested for five (5) types of antimicrobial agents: Gentamicin, Amikacin, Meropenem, Ciprofloxacin, Cefotaxime, which showed heterozygous results for each bacteria and according to the type of antimicrobial agent.

Key Words: Opportunistic Pathogen ، Infections ,Nosocomial infection , Antibiotic.

المقدمة:

ميزت أنواع العدوى المكتسبة عن طريق المستشفيات قبل أكثر من قرن على انها مشكلة حرجة تؤثر على نوعية الرعاية الصحية المقدمة في المستشفيات حيث يمكن تجنب % 20 من هذه العدوى تتضمن مثل هذه العدوى عدوى جروح العمليات الجراحية والدم والجهاز البولي والتنفسي يعد وجود نسب عالية من الأحياء المجهرية في هواء البيئة الداخلية للمستشفيات عاملاً مقلقاً ومتزايداً وذلك يتعلق بالعديد من الأمراض الحادة والعدوى والحساسية الناجمة عن مثل هذه الأحياء المجهرية، وتعطي هذه النسب مؤشراً عن درجة نظافة البيئة الداخلية للمستشفيات التي تحمل مختلف أنواع الأحياء المجهرية تعد الأبواغ الفطرية أحد أهم أنواع العوامل المرضية التي يمكن أن تنتقل عن طريق الهواء الخارجي والداخلي لبيئة المستشفيات (Mangram *et al.*, 1999).

اضافة الى انتقالها عن طريق الزائرين والمرضى ومكيفات الهواء ان تقييم وتحديد نوع وعدد وتشعب أنواع البكتريا المختلفة المتواجدة في غرف وصالات المستشفيات ولاسيما الوحدات الحساسة منها كصالات

العمليات الجراحية يعد ذو أهمية وقلق كبيرين على المستوى العالمي فقد وجد ان % 10 من العدوى التي تصيب المرضى هي عبارة عن عدوى اكتسبت من قبلهم في اثناء رقودهم في المستشفيات فمثل هذه العدوى قد يكون لها تبعات خطيرة من حيث زيادة نسبة الوفيات ونسبة الإصابة وطول مدة بقاء المرضى الراقدين في المستشفيات بالإضافة الى الزيادة الحاصلة في الكلفة الكلية (Jaeger *et al.*, 1999). يعد تلوث صالات العمليات الجراحية أحد أهم المصادر المهددة لحياة المرضى الراقدين في المستشفيات ولاسيما صالات جراحة القلب وجراحة زراعة الأعضاء وجراحة البروستات وأورام المثانة فقد حددت العديد من المصادر المسؤولة عن تلوث صالات العمليات الجراحية وأنظمة تهويتها ومحاليل التطهير أشارت بعض التقارير الى وجود أنواع من الظروف البيئية الدقيقة المتواجدة في أنظمة تنقية المياه المستخدمة في المختبرات مما يوفر الفرصة لمدى واسع من الملوثات البكتيرية يمثل موظفو الخدمات الطبية مصدراً خارجيا لتلوث صالات العمليات الجراحية، تعد حركة موظفي المستشفيات بين غرف وصالات العمليات الجراحية وأجزاء أخرى منها دون أن يغيروا ملابسهم وأحذيتهم، فضلا عن قدوم المرضى الى صالات العمليات الجراحية دون أن يتنظفوا أو يحلقوا أنفسهم بصورة سوية قبيل دخولهم الى صالات العمليات الجراحية عوامل مهمة جداً في تلوث غرف وصالات العمليات الجراحية والتطور اللاحق للأنواع العدوى المكتسبة في المستشفيات بعد اجراء مختلف العمليات الجراحية تحدث نسبة كبيرة من عدوى المستشفيات المكتسبة نتيجة للتلوث المتصالب وانتقال الأحياء المجهرية من خلال أيدي العاملين في مجال الرعاية الصحية كونه مصدراً رئيساً لانتشار التلوث الميكروبي . (Cupitt, 2000).

تعد بكتريا *Pseudomonas* و *Staphylococcus aureus* و *Klebseilla* sp. ممرضات انتهازية (Opportunistic Pathogen) من النادر إن تسبب المرض في الأشخاص الاصحاء، لكنها عالية الضراوة في المرضى ذوي الميكانيكيات الدفاعية الضعيفة مسببه تجرثم الدم(Bacteremia) واخماج العين (Eye Infections) واخماج الإذن (Ear infections) واخماج الجلد (Skin infections) واخماج الحروق والجروح واخماج الجهاز العصبي المركزي والتهاب شغاف القلب (Endocarditis) واخماج العظم والمفصل (Gorbach *et al.*, 1996). ولذلك فان التلوث الحاصل بالمستشفيات بسبب تلك الممرضات تكون لها التأثير المرضي لتردي حال الراقدين في المستشفيات حيث تعد الاصابات بهذه الملوثات شائعه في جميع المستشفيات وتسبب الكثير من الامراض. إن الغزو الموضعي بفعل الامراضية تكون ذات علاقة متبادلة بين حاله المريض والملوث الميكروبي. وانها من المسببات الهامة للاخماج المكتسبة من المستشفيات (Nosocomial infection) بسبب تواجدها في بيئة المستشفيات خاصة عند وجود الرطوبة وانتشارها من مريض إلى أخر وعلى أيدي العاملين في المستشفيات وإصابتها للمرضى المصابين بالكبت المناعي (immune suppression) أو الذين يعالجون بمضادات الحياة واسعة الطيف *P.aruginosa* . (Millesimo *et al.*, 1996) وكذلك بكتريا *Staphylococcus aureus* تمتلك عدد من الإنزيمات الخارجية أو الذيفانات التي تعمل انتقائيا على أنسجة المضيف المختلفة مثل إنزيمات Alkaline protease ، Alkaline phosphatase Lecithenase ،DNase ،gelatinase،Lipase ،Coagulase ،Elastase Leukocidin, فضلاً عن حاملات الحديد Siderphore والذيفان المعوي (Wilhelm *et al.*, 1999).

المواد وطرق العمل:

الأوساط الزرعية Culture media: حضِّرت الاوساط حسب تعليمات الشركة المجهزة عقمت الأوساط بالمؤصدة بدرجة حرارة 121°م وتحت ضغط 15 باوند/انج^2 لمدة 15 دقيقة.

1. وسط الغراء المغذي (Himedia) Nutrient agar: استخدم الوسط لإغناء العزلات الجرثومية.
2. مرق نقيع القلب والدماغ (Himedia) Brain heart infusion broth: استخدم الوسط لتثبيط العزلات الجرثومية.
3. وسط غراء مولر هنتون (Himedia) Mueller–Hinton agar: استخدم الوسط لاختبار الحساسية الدوائية.
4. أكار الدم (Himedia) Blood base agar: حضِّرت قاعدة الدم الأساسية بحسب تعليمات الشركة، وعقمت بالمؤصدة، بعدها تركت لتبرد بدرجة حرارة 45–50°م ثم أضيف الدم بنسبة 5%، ومزج جيداً بعدها صب الوسط في أطباق معقمة، استخدم الوسط للعزل الأولي للبكتريا المنتجة لإنزيم Hemolysin الحال لكريات الدم الحمر.
5. وسط ماء الببتون Pepton water media: حضِّر بإذابة (2) غم من الببتون و(0.5) غم من كلوريد الصوديوم في 100 مل من الماء المقطر، عقم بالمؤصدة بعد ضبط الأس الهيدروجيني إلى 7، استخدم هذا الوسط للتحري عن إنتاج الإندول.
6. وسط الماكونكي(Himedia) MacConky agar: استعمل الوسط للتفريق والتشخيص الأولي.
7. وسط MR/VP: حضِّر على وفق تعليمات الشركة Himedia.
8. وسط Simmon's Citrate Aga : حضِّرعلى وفق تعليمات الشركة Himedia .

المحاليل والكواشف Reagents and Solutions:

حضرت حسب ما جاء في (MacFaddin, 2000)

أ. المحاليل Solutions:

- محاليل صبغة كرام، جاهزة، استخدمت للتفريق بين البكتريا حسب تقبلها للصبغة.

ب. الكواشف Reagent:

- كاشف إنزيم الكاتاليز Catalase: استعمل محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 3% للتحري عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم الكاتاليز.
- كاشف إنزيم الأوكسيديز Oxidase: استخدمت أقراص الأوكسيديز الجاهزة الصنع للتحري عن إنتاج إنزيم الأوكسيديز.
- كاشف كوفاكس Kovac's: جاهز/ شركة Himedia، استخدم للكشف عن تكوين الإندول.
- كاشف أحمر المثيل Methyl red.

جمع العينات Samples collaction:

أجريت هذه الدراسة للمدة من تشرين الاول ٢٠١٦ – شباط ٢٠١٧ اخذت العينات باستخدام مسحات قطنية معقمة (Sterile swap) ووضعت في داخل انابيب اختبار حاوية على وسط المرق المغذي المعقم (Sterile Nutrient Broth) ونقلت الى المختبر ثم لقحت على وسط غراء الماكونكي (MacConkey agar) ووضعت في الحاضنة مدة ٢٤ ساعة بدرجة حرارة ٣٧ م°.

تشخيص العزلات:

التشخيص المظهري:

شخصت العزلات البكتيرية اعتماداً على ما ورد في (Holt *et al.*, 1994)، إذ شخصت المستعمرات اعتماداً على الصفات المظهرية وتضمنت شكل المستعمرات ولونها وقوامها ورائحتها على وسط أكار الماكونكي، وفحصت الخلايا البكتيرية تحت المجهر الضوئي المركب بعد تصبيغها بصبغة كرام.

الفحوصات الكيموحيوية: شخصت العزلات حسب(MacFaddin, 2000)

حفظ العزلات الجرثومية :

حفظت العزلات الجرثومية المشخصة بتلقيح مائل الغراء المغذي بالعزلات الجرثومية وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة وبعدها حفظت في الثلاجة ٤م° ولحفظ العينات فترة طويلة استخدم وسط نقيع القلب والدماغ المضاف اليه ١٥-٢٠% كليسرول، إذ لقح الوسط بمستعمرة فتية ١٨-٢٤ ساعة وحفظ بالتجميد مع احكام غلق فوهة الانبوبة .

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية: Antibiotic Sensitivity Test

تم اختبار حساسية الجراثيم لـ(٥) انواع من المضادات الحيوية والمجهزة من شركة (**Bioanalyse Turkey**) المذكورة في الجدول (١)، باستخدام طريقة Kirby – Bauer اذ نقلت (٤-٥) مستعمرات نقية من الجراثيم الى وسط المرق المغذي، حضنت المزارع الجرثومية بدرجة (٣٧)°م لمدة (١٤-١٦) ساعة ثم خفف المعلق الجرثومي بالمحلول الملحي الفسلجي مقارنة مع انبوب السيطرة القياسي الذي يعادل(10^8) خلية/ سم^3، بعدها اخذ (٠,١) سم^3 من المعلق الجرثومي ونشر على سطح طبق يحتوي على وسط الاكار المغذي باستعمال مسحة قطنية معقمة، تركت الاطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة (٣٠) دقيقة، ثم ثبتت اقراص المضادات الحيوية التي ذكرت انواعها وتراكيزها في الجدول رقم (١) بوساطة ملقط معقم، حضنت الاطباق بدرجة(٣٧)°م لمدة(٢٤) ساعة، ثم قيست منطقة تثبيط النمو بوحدة(ملم) . (CLSI.2012)

جدول (١): انواع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة وتراكيزها (ملغم/قرص)

نوع المضاد الحيوي	الرمز	التركيز ملغم/قرص
Gentamicin	CN	10
Amikacin	AK	30
Meropenem	MEM	10
Ciprofloxacin	CPR	5
Cefotaxime	CTX	30

النتائج والمناقشة:

نسبة التلوث المايكروبي:

في هذه الدراسة تم حساب نسبة التلوث الميكروبي في صالات مستشفى الحلة التعليمي وفي مدة خمسة اشهر من شهر تشرين الاول ٢٠١٦ ولغاية شهر شباط ٢٠١٧ حيث لاحظنا نسب التلوث في صالات العمليات وفي خمسة اشهر حيث ظهرت اعلى نسبة تلوث في شهر تشهرين الاول حيث بلغت ٠,٥%

والمسبب للتلوث بكتريا *Staphylococcus aureus* وبعدها في شهر كانون الاول حيث بلغت ٠,٢% والمسبب لتلوث بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* اما اقل نسبة تلوث فظهرت في شهر كانون الثاني حيث بلغت ٠,١٤٧% والمسبب كان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* حيث لم تظهر اي حالة تلوث في شهري تشرين الثاني وشباط، اما صالات الانعاش الجراحي فقد ظهرت اعلى نسبة تلوث في شهر كانون الثاني حيث بلغت ٣,٥٧% وكان المسبب للتلوث الميكروبي بكتريا *Pseudomonas aeruginos* و *Staphylococcus aureus* وبعدها شهر كانون الاول حيث بلغت٢,٣٨% والمسبب كانت بكتريا *Staphylococcus aureus* ، اما في شهر شباط قد بلغت ١,١٩% وكان المسبب للتلوث الميكروبي بكتريا *Escherichia coli* و*Pseudomonas aeruginosa*، في حين ظهرت اقل نسبة تلوث في شهر تشرين الثاني حيث بلغت ٠,٠٣% والمسبب للتلوث بكتريا *Staphylococcus aureus* ،في حيث لم تظهر اي نسبة تلوث في شهر تشرين الاول. وعند حساب نسب التلوث في صالات الحروق فقد اظهرت اعلى نسبة في شهر تشرين الاول حيث بلغت ١,٦% والمسبب للتلوث بكتريا *Staphylococcus aureus* و *Escherichia coli*، اما في شهر شباط بلغت ٠,٦% وكان المسبب للتلوث الميكروبي بكتري ا*Staphylococcus aureus* وبعدها شهري كانون الاول والثاني حيث بلغت نسبة التلوث ٠,٣٤% وكان المسبب للتلوث الميكروبي بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* و*Staphylococcus aureus* في حين لم تظهر اي نسبة تلوث في شهر تشرين الثاني. اما صالة الخدج فقد ظهر تلوث بنسبة ٨% في شهر تشرين الاول فقط والمسبب للتلوث ايضا بكتريا *Staphylococcus aureus*. وظهرت صالة الناظور تلوث في شهر كانون الثاني فقط بنسبة ٣,٥٧% والمسبب للتلوث ايضا بكتريا*Staphylococcus aureus* ،اما بالنسبة لصالات الانعاش الباطني والولادة وفحص العاملين من الملاك التمريضي ومقدمي التغذية لم يثبت وجود اي حالة تلوث ميكروبي كما في الجدول(٢).

وعند حساب العدد الكلي للمسحات الملوثة لجميع الصالات وجد عددها(٣٢) عينة جاءت *Staphylococcus aureus* بالمرتبة الاولى(٢٤) عينة بنسبة٧٥% وبعدها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*(٥) عينة بنسبة١٥,٦% وبعدها *Escherichia coli* (٣) عينة بنسبة٩,٤% ولوحظ من مقارنة النتائج التي تم الحصول عليها مع النتائج المحلية والعالمية ان هناك تقارباً واختلافاً في نسبة عزل البكتريا من العينات المختلفة وهذا يرجع لأسباب منها : أماكن العزل كالمستشفيات، ومراكز العناية الفائقة، وقد يعود تباين النسب إلى عدد العينات التي تم جمعها من قبل الباحث وأيضا يرجع إلى درجة الاهتمام بالنظافة ونوع المعقمات والمطهرات المختلفة في المستشفيات لان البكتريا مقاومة لمعظم مواد التعقيم ومضادات الحياة كونها مسببا رئيسا للإصابات المكتسبة من المستشفيات Nosocomial infection (Kiffer *et al.*, 2005) .

جدول (٢): نسبة التلوث الميكروبي في صالات مستشفى الحلة التعليمي وفي مدة خمسة اشهر من شهر تشرين الاول ٢٠١٦ ولغاية شهر شباط ٢٠١٧

صالات المستشفى	شهر / عدد الصالات الملوثة	نسبة الصالات الملوثة من الكلي	عدد المسحات الكلية الشهري	عدد المسحات الملوثة الشهري	نسبة المسحات الملوثات من الكلية	نوع المسبب
صالة عمليات (١٧)	(٣) تشرين الاول ٢٠١٦	%١٧,٦	٨٥٠	٦	%٠,٥	*Staphylococcus aureus*
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٥١٠	-	-	-
	(٢) كانون الاول ٢٠١٦	%١١,٧	٦٨٠	٢	%٠,٢	*Pseudomonas aeruginosa*
	(١) كانون الثاني ٢٠١٧	%٥,٨٨	٦٨٠	١	%٠,١٤٧	*Pseudomonas aeruginosa*
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٦٨٠	-	-	-
صالة الولادة (١)	(-) تشرين الاول ٢٠١٦	-	١٠٥	-	-	-
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٥١٠	-	-	-
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٨٤	-	-	-
	(-) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٨٦	-	-	-
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٦٨٠	-	-	-
صالة خدج (١)	(١) تشرين الاول ٢٠١٦	-	٧٥	٦	%٨	*Staphylococcus aureus*
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٤٥	-	-	-
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٦٠	-	-	-
	(-) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٦٥	-	-	-
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٦٢	-	-	-
صالة الانعاش الجراحي (٢)	(-) تشرين الاول ٢٠١٦	-	١٠٥	-	-	-
	(١) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٦٣	١ ١	%٠,٠٣	*Staphylococcus aureus* *Escherichia coli*
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٨٤	-	-	-
	(١) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٨٤	٣	%٣,٥٧	*Staphylococcus aureus*
	(١) شباط ٢٠١٧	-	٨٤	١	%١,١٩	*Pseudomonas aeruginosa*
صالة الانعاش الباطني (١)	(-) تشرين الاول ٢٠١٦	-	٣٠	-	-	-
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	١٨	-	-	-
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٢٤	-	-	-
	(-) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٣٠	-	-	-
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٢٦	-	-	-
صالة الحروق (٢٣)	(٤) تشرين الاول ٢٠١٦	-	٣٦٥	٤ ٢	%١,٦	*Staphylococcus aureus* *Escherichia col*
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٢١٩	-	-	-
	(١) كانون الاول ٢٠١٦	-	٢٩٢	١	%٠,٣٤	*Staphylococcus aureus*
	(١) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٢٩٢	١	%٠,٣٤	*Pseudomonas aeruginosa*
	شباط ٢٠١٧	-	٢٩٢	٢	%٠,٦	*Staphylococcus aureus*
صالة الناظور	(-) تشرين الاول ٢٠١٦	-	٣٥	-	-	-
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٢١	-	-	-

	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٢٨	-	-	-
	(١) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٢٨	١	%٣,٥٧	*Staphylococcus aureus*
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٢٨	-	-	-
فحص العاملين من الكادر التمريضي	(-) تشرين الاول ٢٠١٦	-	٢٤	-	-	-
	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٢١	-	-	-
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٢٦	-	-	-
	(-) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٢٨	-	-	-
	(-) شباط٢٠١٧	-	٢٤	-	-	-
فحص العاملين مقدمي التغذية	(-) تشرين الثاني ٢٠١٦	-	٦	-	-	-
	(-) كانون الاول ٢٠١٦	-	٦	-	-	-
	(-) كانون الثاني ٢٠١٧	-	٦	-	-	-
	(-) شباط ٢٠١٧	-	٦	-	-	-

تشخيص البكتريا المعزولة

اظهر الفحص المجهري للشرائح الزجاجية المحضرة للعالق الجرثومي الملون بملون غرام بأن الجراثيم تكون بشكل عصيات سالبة لملون غرام لكل من *E.coli, Paeruginosa* اما بكتريا *S. aureus* ظهرت بشكل كريات متجمعة بشكل اشبه بالعناقيد وموجبة لصبغة غرام (Winn *et al*., 2006).

تم التشخيص بالاعتماد على الفحوصات الزرعية والمجهرية، بوصفه تشخيصاً أولياً، إذ اعتمد شكل المستعمرات وقوامها وهيآتها، فضلاً عن قابليتها أوعدم قابليتها على تخمير سكر اللاكتوز على وسط الماكونكي حيث كانت بكتريا *E.*coli تكون مخمرة لسكر لاكتوز وذات لون وردي على الوسط الماكونكي بينما بكتريا *P.aeruginosa* وغير مخمرة لسكر اللاكتوز ذات لون باهت وتعطي رائحه العنب المتعفن وكانت بكتريا S. aureus تنمو على وسط مانتول ومخمره لسكر المانتول حيث تغير لون الوسط الى اللون الذهبي والمستعمرات اخذت اللون الذهبي. أظهرت نتائج الاختبارات الكيموحياتية تطابقاً في جميع العزلات مع صفات الأجناس المشخصة بحسب المصادر المعتمدة، حيث أظهرت فحصاً موجباً لاختبار إنتاج الاوكسديز بعد 12 ثوان وهو من الاختبارات التشخيصية الهامة لبكتريا *S. aureus* و *P.aeruginosa* واما *E.coli* أظهرت نتيجة سالبة. فحصاً موجباً للكاتليز، وقد تم تحديد الصفات الكيميائية الحيوية للبكتريا ومن اختبارات(IMViC Raheem *et al*., 2016) امكن التأكد من نقاوة الاجناس المشخصة فاعطت جميع العزلات نتائج متغايرة لاختبارالاندول والمثيل الاحمر ونتيجة متغيرة لاختبار السترات وفوكس بروسكوروكذلك لفحص الكاتاليز وتحلل الدم. كانت النتائج التشخيصية للاختبارات الكيموحيوية التي أجريت على عزلات الاجناس المنقاة مطابقة لما ورد من أنظمة التشخيص المعتمدة(Koneman *et al*., 1997 ; MacFaddin, 2000., Atlas and Snyder.,2006) كما موضح في جدول (٣).

الجدول (٣): الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص البكتريا

ت	الاختبار	*S. aureus*	*p. aeruginosa*	*E.coli*
1	Gram stain	+	−	−
2	Growth on MacConkey Agar	−	+	+
3	(ß−hemolysis)	+	+	−
4	Indole test	−	−	+
5	Methyl−red	+	−	
6	Simmon's citrate	+	+	+
7	Catalase	+	−	+
8	Oxidase	+	+	−
9	Voges−Proskauer	−	+	−

(−): نتيجة سالبة.

(+): نتيجة موجبة.

اختبار الحساسية الدوائية:

تم اختبار حساسية عزلات لبكتريا تجاه لخمسة(٥) انواع من المضادات الحياتية Gentamicin ، Amikacin، Meropenem، Ciprofloxacin ، Cefotaxime Ciprofloxacin باستخدام طريقة Kirby Bauer – وتم تحديد حساسية البكتريا تجاه المضاد بقياس أقطار مناطق التثبيط حول القرص، ثم قورنت النتائج مع الجداول القياسية العالمية (CLSI.2012)، حيث اظهرت بكتريا *S.aureus* اقطار تثبيط متقاربة لكل من CN 10 µg، AK30 µg ، MEM10 µg، CPR 5 µg ، اما للمضادالحيوي CX30 µg فقدت اعطت اقل قطر تثبيط ١٤ ملم. اما بكتريا *P.aeruginosa* حيث اعطت قطر ٢٥ملم للمضاد الحيوي MEM10 µg واعطت اقطار تثبيط متباينة لبقية المضادات، اما بكتريا *E.coli* اعطت اقطار تثبيط متقاربة لكل منCPR 5 µg, MEM10 µg , AK30 µg حيث تتراوح الاقطار بين ٢٢−٢٤ملم CX30 µg، CN 10 µg كانت ١٩−١٦ ملم حيث اتفقت هذه النتائج مع (Al−Jassani *et al.*, 2017) كما في الجدول(٤).

جدول(٤): حساسية البكتريا المعزولة من المستشفى للمضادات الحياتية

المضاد الحيوي	قطر تثبيط (ملم) بكتريا *S.aureus*	قطر تثبيط(ملم) بكتريا *P.aeruginosa*	قطر تثبيط(ملم) بكتريا *E.coli*
CN 10 µg	٢١	١٧	١٩
MEM10 µg	٢٠	٢٥	٢٤
AK30 µg	٢١	١٦	٢٣
CPR 5 µg	٢٢	٢١	٢٢
CX30 µg	١٤	١٦	١٦

References

Al-Jassani,M,J;Raheem.Q.R., 2017, Anti-bacterial activity of CuO nanoparticles against some pathogenic bacteria .IJCRGG ,vol.10 No2,pp818-822.

Atlas, R. M. and Snyder, J. W., 2006, Handbook of Media for Clinical Microbiology". 2 ed. Taylor and Francis group. CRC press. USA.

Clinical and Laboratory Standards Institute.,2012, Performance Tandards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement . CLSI document M02-A10 and M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Cupitt, J.M.,2000,Microbial contamination of gum elastic bougies. Anaesth.,55: pp.466-468.

Gorbach, S.L.; Bartlett, J.G. and Blacklow, N.R. ,1996, "Infectious Disease". 2nd ed., Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 1824-1837.

Holt, J.C.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H. A., Staley, J.T. and Williams, S.T.,1994, Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed., Williams and Wilkins Comp. USA.

Jaeger, A. D., Litalien, C., Lacroix, J., Guertin, M. C. and Rivard, C. I., 1999, Protected specimen brish or bronchoalveolar lavage to diagnose bacterial nosocomial*Pneumoniain* in ventilated adults : ameta-analysis. Crit. Care. Med., 27,11): pp. 2548-2560.

Kiffer, C.; Hsiung, A.; Oplustil, C.; Sampaio, J.; Sakagami, E.; Turner, p. and Mendes, C.,2005, Antimicrobial susceptibility of Gram – negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC program Brazil 2003. Braz. J. Infect. Dis. 9 (3): 216 – 224.

Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C. and Winn, W. C.,1997, Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J.B. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, U.S.A., pp. 253-274.

MacFaddin, J.F., 2000, Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.

Mangram, A.J., Horan, T.C., Pearson, M.L., Silver, L.C. and Jarvis, W.R., 1999, Guideline for prevention of surgical site infection. Infect. Cont. Hosp. Epidemiol.,20,4): pp.247-280.

Millesimo, M.; Intinis, G. D.; Chirillo, M. G.; Musso, T. and Savoia, D., 1996, *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates: Serotypes, resistance phenotypes and plasmid profiles. European Journal of Epidemiology, 12: 123-129.

Raheem, Q. H; Al-Thahab, A. A .and Abd, F. G., 2016, Different Methods for Detection Sliver Nanoparticles Produced by Proteus mirabilis Bacteria. IJPRIF, 9 (4): 368-376.

Wilhelm, S.; Tommassen, J. and Jaeger, K.E. ,1999, A novel lipolytic enzyme located in the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol., 181(22): 6977-6986.

Winn, W.C.;Allen,S.D.;Janda, W.M.; Koneman,E.W.;Procop, G.W.;Schreckenberger, P.C. and Woods, G.L.,2006, Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA, pp. 234-241.