وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة الفرات الأوسط التقنية

معهد التقني الطبي / القادسية

عزل وتشخيص البكتريا المتواجدة على هواتف النقالة لدى الأشخاص المتواجدين في المعهد تقني طبي القادسية

بحث مقدم إلى جامعة الفرات الأوسط التقنية _ المعهد التقني الطبي _القادسية وهو جزء من متطلبات نيل درجة الدبلوم في صحة المجتمع

من قبل الطالبات

(زينب حسن مزهر , زينب حسن خضير , زينب خضير عباس , زينب سلمان جابر, زينب صلاح صالح)

اشراف الاستاذة

هدى نور حسن

1443هـ **2022م**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

صدق الله العلي العظيم

سورة الإسراء ، آية 85

الاهداء

الى ......

* نبراس الهدى ومعلم الانسانية .....

شفيع الأمة ورسول البشرية

نبينا محمد (ص) ..... إجلالا وتقديراً

* إلى المثل الأعلى والقلب الأغلى ...

والدي الحنون

* إلى من شدت أزري بدعائها المستمر....

أمي الحبيبة

* الى الذين جرت وتجري دماؤهم في عروقي ...

إخوتي وأخواتي

* الى من علمني حرفاً وملكني عبداً ....

أساتذتي الأفاضل

اهدي ثمرة جهدي المتواضع إمتناناً وتقديراً

(زينب حسن مزهر , زينب حسن خضير , زينب خضير عباس , زينب سلمان جابر, زينب صلاح صالح)

شكر وتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على نبينا اشرف الخلق أبي القاسم محمد وعلى اله الطيبين الطاهرين.

اتقدم بوافر الشكر والتقدير إلى أستاذتي ومشرفتي الفاضلة **هدى نور حسن** لاقتراحه موضوع البحث وإشرافه المباشر عليه طوال مدة البحث وفقه الله لدوام الخير والصحة والعافية.

ويسرني أن أقدّم أجمل عبارات الشكر الى رئيس القسم الست فاطمة عبود جلوب المحترمة

أما زملائي فلهم مني كل العرفان والاحترام وأقدّم شكري الجزيل وامتناني لكل من مدَّ لي يد العون وساندني بكلمات التشجيع والدعم المعنوي خلال مدة البحث.

الخلاصة:

جمعت 80 عينة بصورة عشوائية من الأجهزة لنقالة للأشخاص المتواجدين في المعهد التقني في الديوانية , اذ تم اخذ العينات بواسطة مسحات رطبة معقمة(swap) و من شرائح مهنية مختلفة (أساتذة ،طلاب، موظفون و عمال) وبواقع عشرين عينة من كل شريحة وللمدة من 25-11-2021 الى 20 -1- 2022 .

أظهرت النتائج بأن 71 عينة (88.75 %) كانت ملوثة بأنواع مختلفة من البكتريا في حين هناك 9 عينات (11.25%) خالية من النمو البكتيري .

بينت النتائج ان الأجهزة النقالة ملوثة ب6 أنواع بكتيرية مختلفة ،اذ احتلت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* النسبة الأعلى 34.15% (*28*عينة)، جاءت بعدها كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* وبكتريا *Streptococcus* spp. بنسبة 21.25% (18عينة) ثم جاءت بعدها بكتريا *Bacillus* spp. بنسبة 15.58%(13 عزلة) كما تواجدت بكتريا *Escherichia coli* بنسبة *3.66*% (*3* عزلات) في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا *Pseudomonas* spp. بنسبة 2.44% (2عزلة)

كما اظهرت النتائج ان نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لدى شريحة العمال هي الأعلى34.15 % في حين اقل نسبة تواجد للبكتريا على الأجهزة النقالة للأساتذة في حين نسبة تواجد البكتريا على الأجهزة النقالة لشريحتي لموظفين و الطلبة هي 20.30% و 26.83% وعلى التوالي .

قائمة المحتويات

ت	العنوان	رقم الصفحة
1.	الاية	أ
2.	الاهداء	ب
3.	الشكر والتقدير	ج
4.	الخلاصة	د
5.	المقدمة	1-2
6.	**الفصل الاول** **استعراض المراجع Literature Review**	3-6
7.	**الفصل الثاني** **المواد وطرق العمل Materials and Methods**	7-17
8.	**الفصل الثالث** **النتائج و المناقشة Results and Discussion**	18-23
9.	**الفصل الرابع** **الاستنتاجات والتوصيات** **Conclusions and Recommendations**	24-25
10.	**المصادر References**	26-27

المقدمة

Introduction

المقدمة:

أصبحت الهواتف النقالة مؤخراً شائعة في جوانب الحياة اليومية في جميع أنحاء العالم ، والتي تتطلب اتصالا بشريا واسع النطاق. وعلى الرغم من أن الهواتف وسيلة اتصال مهمة الى أن استخدامها على نطاق واسع يثير مخاوف تتعلق بالصحة العامة (Julianet al., 2012) .

فقد بينت العديد من الدراسات ان الهاتف النقال يعتبر اخطر من أرضية الحذاء ومن مقابض الًبواب والمراحيض وذلك لما يحمله من بكتريا ضارة بناءاً على الأماكن التي قد يوضع فيها فقد يوضع على طاولة الطعام وفي جيوبنا وأماكن العمل المختلفة وبالتالي يصبح حامل للبكتريا التي قد تنتقل الى جسم الإنسان دون وعي منه (Tago *et al.*,2011) ان معظم البكتريا قد تنتقل من بشرتنا سواء من ايدينا او وجوهنا عند التحدث بالهاتف والتي قد تحدث إصابات بأنواع مختلفة من البكتريا والتي اخطرها *Staphylococcus aureus* (Zakai *et al*.,2016)

تمثل اليد عاملا مهماً في نقل الميكروبات من خلال تلامس اليد مع اًلجسام الأخرى والتي تحمل العديد من الميكروبات مثل مقابض اًلبواب والكمبيوتر أو أي جسم آخر يحمل ميكروبات كذلك التصافح مع آلخرين كل هذه العوامل تمثل وسيلة لنقل الميكروبات الى اسطح الهواتف النقالة (Tagoe *et al*.,2011) .

ويكون المرضى في المستشفيات اكثر عرضة للإصابة بهذه البكتريا وان الاستعمال المستمر للهواتف من قبل الأطباء والممرضين وغيرهم من العاملين في مجال الرعاية الصحية، يشكل مصدر خطر لنقل الإمراض بما في ذلك عائلة صاحب الهاتف نفسه. لتواجد الهواتف النقالة معنا طوال الوقت وبدون تنظيفها (Julian *et al*.,2012) .

ولكون الهواتف النقالة اكثر الممتلكات الشخصية التي يمتلكها العديد من الناس والتي تكون في متناولهم طوال الوقت والثبات أهمية الهواتف النقالة كأدوات محتملة لنقل البكتريا المرضية , هدف البحث الى:

1. عزل وتشخيص بعض البكتريا المتواجدة على الهواتف النقالة.

2. التنبيه لمخاطر التلوث البكتيري للهواتف النقالة ورفع الوعي الصحي للناس حول الطرق السليمة للتعامل معها.

الفصل الأول

إستعراض المراجع

LitreturesReview

الفصل الاول

استعراض المراجع Literature Review

1-1 بكتريا *Staphylococcus* spp

ينتمي جنس المكورات العنقودية إلى عائلة Micrococcaceae ، وهي مكورات موجبة لصبغة غرام ، غير متحركة ، غير مكونة للسبورات ، تتمو بظروف هوائية ولا هوائية اختيارية وذات قطر يتراوح ما بين 0.5-1.5) مايكروميتر (Goldman and Green, 2009) تتجمع هذه البكتريا بشكل عناقيد وأن سبب هذا التجمع هو انقسامها بأكثر من مستوى وتبقى مرتبطة مع بعضها البعض ، ويمكن مشاهدتها على هيئة مكورات مفردة أو أزواج أو سلاسل قصيرة ولاسيما عند تنميتها في أوساط زرعيه سائلة (Jawets *et al.,* 2004). تنمو على الأوساط الاعتيادية عند درجة حرارة 37مْ، تظهر المستعمرات دائرية رقيقة ولماعة يصل قطر المستعمرة 2-7 ملم ،تنمو في مدى حراري (15-47) مْ ، قادرة على تحمل تركيز ملح NaCl تصل إلى 15% منتجة للصبغات الكاروتينية بتراكيز مختلفة يتراوح من الأصفر الذهبي إلى الأبيض اعتماداً على نوع السلالة وظروف النمو (Goldman and Green, 2009) .

يتضمن جنس العنقوديات ثلاثين نوعاً في الأقل ، منها ثلاثة أنواع رئيسية ذات أهمية طبية وهي *Staph. aureus* ، *Staph. Epidermidis* و *Staph. saprophyticus* . ويتميز النوع *Staph. aureus* بإنتاجه للأنزيم المجلط للبلازما Coagulase لذا يمكن تفريقه عن النوعين الآخرين عند إجراء الاختبار الخاص بهذا الأنزيم (Goldman and Green, 2009)، ويعد النوع *Staph. aureus* من اشد المكورات العنقودية المرضية فهو يمتلك قدرة كبيرة على إحداث الاخماج الانتهازية بالرغم من إنه غالباً ما يكون متعايش بصورة طبيعية في أجسام الحاملين له Carriers كالأنف والبلعوم والقناة الهضمية والتناسلية دون أن تظهر عليهم الأعراض المرضية للإصابة الناصري ، (2002) .

1-2 بكتريا *Streptococcu* spp

يعود هذا الجنس إلى عائلة Streptococcaceae وهي مكورات موجبة لصبغة غ ارم، سالبة لاختباري الكاتاليز Catalase والاوكسيديز Oxidase، تنمو بشكل أزواج أو سلاسل في الم ازرع السائلة واغلب أفرادها لا هوائية اختيارية Anaerobes Facultative (Koneman *et al*., 1997). كما أنها غير متحركة، غير مكونة للابواغ وبعض أنواعها تمتلك المحفظة Capsule ، وتقع بعض أفراد هذه المجموعة ضمن الفلورا الطبيعية للإنسان في حين البعض الآخر يرتبط ببعض الأم ارض المهمة التي تصيب الإنسان، نموها ضعيف على الأوساط الصلبة أو السائلة ما لم يتم إخناؤها بالدم أو السوائل النسيجية، فيتحدد نموها غالباّ بدرجات حرارة تتراوح بين (21-41مْ) ودرجة الحرارة المثلى لها هي 73مْ (Brooks *etal*., 2011) , وضعت عدة تصنيفات للمسبحيات أقدمها التصنيف الذي وضعه Brown في عام 1919الذي يعتمد على نوع تحلل الدم Haemolysis على أوساط آكار الدم الذي صنفت المسبحيات بموجبه إلى ثلاث مجاميع شملت المسبحيات الحالة للدم تحللاً تاماً بيتا (β- haemolytic Streptococci وتتميز بظهور هالة شفافة ومحددة حول مستعمراتها مثل بكتريا *Streptococcus pyogenes* ، والمسبحيات الحالة للدم تحللاً جزئياً الفا (α- haemolytic Streptococci)وتتميز بمستعمرات محاطة بهالة مخضرة مثل بكتريا *S viridans*. و *S .pneumoniae* والمسبحيات الحالة للدم نوع كاما (γ- haemolytic Streptococci) مثل بكتريا *S .salivarius* .

1-3 بكتريا *Bacillus* spp.

ينتمي جنس Bacillus إلى عائلة Bacillccae ، ويتصف بخلايا عصوية الشكل، مستقيمة أو منحنية قليلاً و تظهر بشكل مفردة او أزواج وبعض مستعمراتها بشكل سلاسل وأحياناً تشبه الخيوط الطويلة، ،مكونة للسبورات الداخلية، متحركة بوساطة الأسواط المحيطية peritrichous flagella أو غير متحركة، تنمو بظروف هوائية ولا هوائية اختيارية يتراوح قطرها ما بين (0.1-2) مايكروميتر. معظم أنواعها لا تحتاج إلى أوساط معقدة للنمو وتنمو على الأوساط الاعتيادية مثل الوسط المغذي الصلب Nutrient agar وآكار الدم Blood agar . (Goldman and Green ,2009)

معظم أنواعها تنتج أنزيم الكاتاليز في حين تكون بعض أنواعها موجبة لإنتاج أنزيم الاوكسيديز والأخرى تكون سالبة له، غالباً ما تعزل هذه البكتريا من التربة وبعض البيئات الأخرى مثل الماء والغذاء والعينات الطبية ، تكون سبوراتها مقاومة للحرارة والأشعة والجفاف والمواد المطهرة ويعود سبب هذه المقاومة لاحتوائها على dipicolinic acid بنسبة % 5 - 15 من الوزن الجاف (Logan and DeVo,2009)

1-4 بكتريا *Escherichia coli*

تنتمي هذه البكتريا ايضا إلى العائلة المعوية eaeEnterobacteriac ، وهي عصيات سالبة الصبغة لكرام يبلغ طولها (2-3) مايكروميتر وعرضها 0.6 مايكروميتر غير مكونة للابواغ ، معظم السلالات متحركة وتمتلك اسواطا محيطية ، بعض العتر تكون محفظة وتكون مستعمرات مخاطية عندما تنمو على وسط حاوي على السكر بدرجة (20-51) م. وهي جراثيم هوائية أو لا هوائية اختيارية تنمو على الأوساط الزرعية الاعتيادية بدرجة 73م وتتمكن من النمو بدرجات حرارية تتراوح بين (51-44م) (Colle *et al* 1996). المستعمرات على آكار الماكونكي تكون ملساء، لماعة وردية وعلى وسط اكار الدم تحاط المستعمرات الرمادية لبعض السلالات بنطاق من التحلل الدموي نوع الفا، كما تنتج ظاهرة البريق المعدني عند نموها على الوسط التفريقي Eosien Methylene Blue (EMB) اما النمو في الاوساط السائلة يكون عتمة متجانسة خلال 51 ساعة الاولى ثم

يتكون ارسب كثيف ، وتتميز جميع سلالات جراثيم *E. coli* بإنتاجها للاندول وتكون موجبة لاختبار المثيل الأحمر، سالبة لاختبار الفوكس بروسكاور والسترات ، غير منتجة لأنزيم اليوريز Urease ولا تميع الجيلاتين.

1-5 بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

تقع هذه البكتريا ضمن عائلة Pseudomonadaceae، هي عصيات سالبة لصبغة غ ارم، هوائية مجبرة Obligatory aerobic تظهر الخلايا منفردة أو على هيئة أزواج أو سلاسل قصيرة، غير مكونة للسبورات ولا للكبسولة، متحركة بسوط قطبي واحد أو أكثر موجبة لأنزيمي Catalase و Oxidase (Forbes,1998)، كما تعمل على تحليل الجيلاتين، لا تنتج غاز H_2S وغير مخمرة لسكر اللاكتوز وبقية الكاربوهيدرات الاخرى اذ تستخدم الكلوكوز و الكاربوهيدرات الاخرى بالأكسدة مثل Sucrose ، Arabinose ، Melibiose و mannitol كما انها تكون سالبة لاختبار المثيل الاحمر وفوكس بروسكاور ومتغيرة في اختبار السترات (Holt,1994 *et al*) وتحلل الدم من نوع β-hemolytic على أطباق وسط آكار الدم (Rehm,2008) .

يمكن ان تنمو بكتريا الزوائف الزنجارية على الاوساط الزرعية الاساسية فتظهر المستعمرات على هذه الاوساط خشنة يقارب قطرها 3 مليمتر محاطة بحزام معدني Metallic Sheen ومن خواصها انها تبعث رائحة عفنة مميزة Mustyodor . فضلاً عن إنتاجها الصبغة الزنجارية الخضراء المزرقة في الوسط الزرعي، التي هي عبارة عن صبغتي Pyocyanin الزنجارية وصبغة Fluorescin. اما على وسط الماكونكي MacConcky Agar والوسط المغذي Nutrient Agar فتكون مستعمرات شاحبة وذات صبغة خضراء ، وأفضل وسط زرعي لعزلها هو وسط الزوائف الانتخابي Pseudomonas Selective Agar (Govan *et al* .,1993) .

الفصل الثاني

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

الفصل الثاني

Materials and Methods المواد وطرق العمل

2.1- المواد Materials

2.1.1 – الأجهزة والأدوات المختبرية

جدول (2-1) : الأجهـزة والأدوات المختبريـة المستعملة في الدراسة والشركات المصنِعة لها .

الشركة المصنعة	المادة الكيميائية	
uBiomerx	Oxidase Reagent	كاشف الاوكسيديز
BDH	Ethanol	كحول الايثانول
	Hydrogen Peroxide	بيروكسيد الهيدروجين
	HCl	حامض الهيدروكلوريك
Iraq	Crystal Violate	البلور البنفسجي
	Iodine	الايودين
	Safranine	السفرانين
Promega)USA)	Pepton	بيبتون
	Nephthol	الفا نفثول
Fluka	Glycerol	كليسرول
	H2So4	حامض الكبريتيك
	(Bacl Barium chloride2)	كلوريد الباريوم
	بارا دي مثيل امينو بنزا الديهايد	

(England)Bdh	Cloride Sodium	كلوريد الصوديوم
	Potassium hydroxide	هيدروكسيد البوتاسيوم

2.1.2- المواد الكيميائية المستخدمة

جدول (2-2): المواد الكيميائية المستعملة في الدراسة والشركات المصنِعة لها

الشركة المصنعة	أسم الجهاز	
Memmer	Incubator	الحاضنة
Hiclav	Autoclave	الموصدة
Kern	Sensitive balance	الميزان الحساس
Olymp (Japan)	Microscopic light	المجهر الضوئي
Eriotti	Electric Oven	فرن كهربائي
Concord	Refrigerator	ثلاجة
GFL	Distiller	جهاز تقطير
Lab.Co mpanion (Korea)	Cabient	كابينة الزرع
Hettich (Germany)	Centrfuge	جهاز طرد مركزي
Stuart S	Auto Vortex	مازج
Ino-lab (Germany)	PH Meter	جهاز قياس الحموضة
Himedia(India)	Loop	ناقل
Lebnone	Petri dish	أطباق بتري بلاستيكية
Germany) Slamed	Papite	ماصات دقيقة مختلفة الاحجام
(estar India)	Test tubes	انابيب اختبار

2.1.3-الأوساط الزرعية الجاهزة Standard media

جدول (2-3): الأوساط الزراعية المستعملة في هذه الدراسة والشركات المصنِعة لها

اسم الوسط	الشركة المجهزة
وسط المغذي السائل Nutreint broth	ostic) nMastdiag) USA
وسط سترات سايمون Simmon citrate agar	
وسط تربتون الصويا السائل Tryption Soy broth	Biolife) Italy)
وسط اكار الماكونكي MaCononky agar	(Oxiod) France
وسط المانتول الصلب Mannitol salt agar	Himedia
وسط المغذي الصلب Nutrient agar medium	
وسط مولر هنتون الصلب Muller-Hinton agar	
وسط اغار الدم الصلب Medium Blood agar	

2.1.4-تحضير الأوساط الزرعية Preparation of Culture Media

A- الأوساط الزرعية الجاهزة Standard Culture Media

حضرت الأوساط الزرعية قيد الدراسة ضمن الجدول (3-3) بحسب تعليمات الشركة المصنعة لها وضبط الاس الهيدروجيني لها بحسب الحاجة له بعد ان عقمت بجهاز الاوتوكليف بدرجة حرارة 121 وضغط 1جو لمدة 15 دقيقة وحضنت الاطباق الزرعية بعد صبها في الاطباق او الانابيب حسب متطلبات التجربة بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة للتاكد من عدم تلوثها .

B-الاوساط الزرعية التركيبية Structural Culture Media

تم تحضير الاوساط التالية بالاعتماد على ماورده (Atlas ,.2004) وكما **يأتي**

1-وسط الدم الصلب Medium Blood agar

حظر الوسط بإذابة 40 غرام من Blood agar base في 950 مل ماء مقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى 7.4 واكمل الحجم الى 1000 مل من الماء المقطر ودخل الى جهاز الموصدة بدرجة حرارة 121 م لمدة 20 دقيقة ثم ترك ليبرد الى 55 وأضيف الية دم الانسان نسبة 5% ومزجت جيدا وتركت الاطباق بعد تصلبها في الحاضنة الى اليوم التالي .

2-وسط المانتول الصلب Mannitol salt agar

حظر الوسط بإذابة 111 غرام من الوسط في 950 مل ماء مقطر وعدل الرقم الهيدروجيني الى 7.4 وأكمل الحجم الى 1000 مل ماء مقطر ودخل الى الموصدة بدرجة حرارة 121 م لمدة 20 دقيقة ثم ترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة وصبه.

3- وسط آغار الماكونكي (MacConky Agar Medium):

حضر باذابة 5.2 غم من الوسط في 100 مل من الماء المقطر وعقم بالموصدة ، ثم برد على اطباق بتري معقمة ، حيث استعمل بوصفه وسطا انتخابيا للبكتريا السالبة لملون غرام وللتفريق بين المستعمرات المخمرة وغير المخمرة لسكر اللاكتوز.

4-وسط ماء الببتون (Pepton Water Medium) :

حضر باذابة 2 غم من الببتون بعد اضافة 0.5 غم من NaCl اليه في 100 مل من الماء المقطر وزع في الانابيب بواقع 5 مل لكل انبوب وعقم بالموصدة(**MacFaddin, 2000**).

5- وسط سايمون سترات Simmon citrate :

حضر باذابة 4 غم من الوسط في 100 مل من الماء المقطر، ووزع على الانابيب بواقع 5 مل لكل انبوب ثم عقم بالموصدة ووضعت الانابيب بشكل مائل لحد التصلب. استعمل هذا الوسط للكشف عن قابلية البكتريا على استهلاك السترات بوصفها مصدراً وحيداً للكاربون.

6-كاشف فوكس – بروسكاور (Voges – Proskauer Reagent)

حضر كما يلي :

محلول 40 KOH : VP1 % : حضر باذابة 40 غم من KOH في 100 مل من الماء المقطر.

محلول α-naphthol 5 % : VP2 : حضر باذابة 5 غم من α-naphthol في 100 مل من الايثانول المطلق , حفظ الكاشفان في الثلاجة بعيداً عن الضوء.

7- كاشف احمر المثيل (Methyl Red Reagent) :

حضر باذابة 1.0 غم من احمر المثيل في 250 مل من كحول الايثانول بتركيز 95% ، ثم اكمل الحجم 500 مل باضافة الماء المقطر .

8- وسط اختبار الحركة (Motility Semisolid Medium) :

حضر باذابة 0.8 غم من المرق المغذي و 0.4 غم من اغار – اغار في 100 مل من الماء المقطر ووزع على الانابيب ثم عقم بالموصدة.

2.1.5-طرائق التعقيم Sterilization Methods

2.1.5.1 التعقيم بالحرارة الرطبة Wet hot sterilization

عُقمت جميع الاوساط الزرعية الجاهزة والتركيبية بجهاز الموصدة (Autoclave) بدرجة (121) وضغط (1.5)جو لمدة (15) دقيقة.

2.1.5.2 التعقيم بالحرارة الجافة Dry hot sterilization

عُقمت الزجاجيات المستعملة في الفرن الكهربائي (Oven) بدرجة حرارة (168) مْ ولمدة ساعة ونصف.

2.2- الكواشف و المحاليل والصبغات Reagent,Solution and Stain

2.2.1 الكاتليز Catalase reagent

تم الحصول عليه بصورة جاهزة المتكون من مادة بيروكسيد الهيدر وجين بتركيز(3%) حيث يقوم هذا الكاشف بالكشف عن انزيم الكاتاليز المهم في تحليل بيروكسيد الهيدروجين السام الى اوكسجين وماء .

2.2.2 كاشف الاوكسيديز Oxidase Reagent

يتكون هذا الكاشف من محلول Tetramethyl-P-Phenlenediamine dihydrochloride بتركيز 1% وتم الحصول عليه بصورة جاهزة الذي حيث يقوم هذا الكاشف بالكشف عن انزيم الاوكسديز.

2.2.3 كاشف كوفاكس Reagent Kovac :

حضر باذابة 5 غم من P-dimethyl amino benzylaldehyde في 75 مل من كحول Isoamyalcohol و 25 مل من حامض HCl المركز. حفظ الكاشف لحين الاستعمال في قنينة معتمة في الثلاجة ، استعمل في اختبار انتاج الاندول.

2.2.4 صبغة كرام Gram Stain

تم الحصول على صبغة كرام بمحاليلها بصورة جاهزة في صبغ بكتريا لغرض التاكد من ترتيب الخلايا وحجمها وشكلها ولونها .

2.2.5 المحلول الملحي الفسلجيNormal Saline Solution

تم الحصول عليه بصورة جاهزة حيث استخدم هذا المحلول لاجراء التجارب المختبرية واعداد اللقاح البكتيري .

2.2.6 جمع العينات

جمعت 80 عينة بصورة عشوائية من الاجهزة النقالة من الاشخاص المتواجدين في المعهد التقني طبي القادسية اخذت العينات باستخدام مسحات رطبة معقمة ومن اماكن مختلفة من شرائح مهنية مختلفة (اساتذة ,موظفون, طلاب وعمال) وبواقع 20 عينة من كل فئة وقد سجل كل مسحة المعلومات الخاصة بها ونقلت العينات مباشرة الى المختبر لاجراء الفحوصات البكتريولوجية عليها .

2.2.7-العزل والتشخيص Isolation and identification

2.2.8 زرع العينات

زرعت المسحات بطريقة التخطيط على الوسط التفريقي الماكونكي اكار ووسط اغار الدم لعزل البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام ,ثم حظنت الاطباق الملقحة بدرجة حرارة 37 م لمدة 24-48 ساعة .بعدها تم زرع المستعمرة على وسط الماكونكي واغار الدم للحصول على مزارع نقية .

2.2.9 – الصفات الزرعية والمجهرية roscopical and Cultural Characters

اجري التشخيص الاولي بالاعتماد على الصفات المظهرية تتضمن الشكل واللون وقوام المستعمرات النامية على الوسط الزرعي واخضعت العزلات الى الفحص المجهري اذ تم تحضير مسحات من المستعمرات النقية وصبغت بصبغة كرام وفحصت تحت العدسة الزيتية للتميز الخلايا السالبة للصبغة وشكل البكتريا وطرق تجمعها .

2.2.10 الأختبارات الكيموحيوية Biochemical test

أجري عدد من الاختبارات الكيموحيوية التالية لتشخيص البكتريا اعتمادا على كل من (Benson 2002) و (Alexander et al.,2004) . .

2.2.11 اختبار الاوكسيديز Oxidase test

أجري هذا الاختبار من خلال نقل جزء من مستعمرة فتية بواسطة عود خشبي معقم بعمر 18 -24ساعة الى ورقة ترشيح مشبعة بكاشف الاوكسيديز، وان تكون خلال 10 ثوان لون بنفسجي دليل على ان نتيجة موجبة للاختبار

2.2.12 اختبار الكتاليز tCatalase tes

تم هذا الاختبار بواسطة نقل جزء من مستعمرة بعمر 24 ساعة بواسطة عود خشبي معقم الى شريحة زجاجية وتم اضافة قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين تركيز 3% ،وان تكون فقاعات من غاز الاوكسجين يعتبر نتيجة موجبة .

2.2.13 اختبار انتاج انزيم مخثر الدم الكواكليز Coagulase test

تم التحري عن إنتاج إنزيم المخثر للبلازما بطريقة الانبوبة (Tube test), حيث أجري من خلال اضافة 2.5مل بلازما دم الانسان الى انابيب اختبار حاوية على 2.5مل من وسط المغذي السائل الملقح بالعزلات البكتيرية المراد الكشف عنها وحظنت أنابيب الاختبار في حمام مائي في درجة حرارة 37م مدة 4 ساعات وتم مراقبة الانابيب ،وان تكون الخثرة دليلا على ايجابية الفحص والانابيب التي لاتظهر نتيجة تركت في الحاظنة مدة 24 ساعة للتاكد من النتيجة.

2.2.14 اختبار استهلاك السترات Simmon citrate :

لغرض اختبار قدرة البكتريا المعزولة على استخدام السترات كمصدر وحيد للكاربون والطاقة لقحت وسط السترات المائل بالبكتريا وحضن بدرجة 37م ولمدة 24 ساعة اذ يعد تغيير لون البروموثايمول من اللون الاخضر الى اللون الازرق نتيجة زيادة الاس الهايدروجيني دليل على ايجابية التفاعل .

2.2.15 اختبار فوكس بروسكاور Voges – Proskauer test :

استعمل هذا الوسط للتحري عن قدرة البكتريا لتكوين ناتج نهائي هو (Acetoin) Acetyl methyl carbinol من تخمر سكر الكلوكوز ، وبوجود هيدروكسيد البوتاسيوم يتأكسد الـ Acetoin ويعطي Diacetyl.

لقح وسط MR–VP المحضر بالبكتريا المنماة على وسط اغار الماكونكي وحضن لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 مْ ثم اضيف 1 مل من محلول KOH، و 3 مل من محلول α–naphthol . يعد تحول لون الوسط من الاصفر الى الوردي نتيجة موجبة.

2.2.16 اختبار احمر المثيل (Methyl red test) :

لقح وسط MR–VP المحضر بالبكتريا المنماة على وسط اغار الماكونكي وحضن لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 مْ ثم اضيف اليه كاشف احمر المثيل (0.5 مل) يعد تحول لون الوسط الى الاحمر القاني نتيجة موجبة.

2.2.17 اختبار انتاج الاندول Indol test

لقح وسط ماء الببتون بالمستعمرات بكترية المنماة على وسط اغار الماكونكي ، حضن بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة ، ثم اضيف قطرة او قطرتين من كاشف كوفاكس المحضرومزج جيدا. ظهور حلقة حمراء بعد مرور دقيقة الى ثلاث دقائق يعد نتيجة موجبة اي تحول الحامض الاميني التربتوفان وتحوله الى الاندول .

2.3 حفظ وادامة العزلات البكتيرية

2.3.1 الحفظ قصير الامد

حفظ لشهر واحد , أجري من خلال تلقيح الانابيب الحاوية على وسط المغذي الصلب المائل بالبكتريا المراد حفظها وتحظن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة واستخدمت هذه الطريقة لتجديد حيوية العزلات وتجنب حدوث تلوثها .

2.3.2 حفظ متوسط الامد

لقح وسط الاكار المغذي بالعزلات المراد حفظها ثم حظن درجة 37 م لمدة 24 ساعة بعد ذلك احيطت سدادات الانابيب بشريط شمع لاصق وحفظت بالثلاجة بدرجة حرارة 4م لمدرة تتراوح بين 1−4 اشهر

2−4 التحليل الإحصائي

حللت جميع نتائج الدراسة الحالية إحصائيا وأستخدم لهذا الغرض البرنامج الاحصائي وقيمة مستوى الاحتمالية أقل من 0.05 ($P<0.05$) .

الفصل الثالث

النتائج والمناقشة

Results and Discussion

الفصل الثالث

النتائج و المناقشة Results and Discussion

3.1- العزل وتشخيص العينات

3.1.1- العزل

أظهرت النتائج وكما في الجدول (3-1) أن 71 عينة من العينات الكلية البالغة 80 عينة كانت ملوثة بأنواع مختلفة من البكتريا وبنسبة 88.75 %، في حين كانت هناك 9 عينات (11.25%) خالية من النمو البكتيري.

جدول (3-1) : التلوث البكتيري للأجهزة النقالة

ت	الشريحة الاجتماعية	عدد الاجهزة النقالة المختبرة	عدد الاجهزة النقالة الملوثة	النسبة المئوية
1	اساتذة	20	16	%80
2	موظفين	20	18	%90
3	طلبة	20	17	%85
4	عمال	20	20	%100
المجموع		80	17	%88.75

نلاحظ من الجدول (1.3) ارتفاع نسبة التلوث للأجهزة النقالة وقد يرجع ذلك لكونها تعتبر من الاجهزة الشخصية وتواجدها المستمر وقربها من اجسامنا وتعرضها لاماكن تواجد الميكروبات مثل الوجوه والاذنين

والشفتين وايدي المستخدمين لذا اصبحت وسائل ناقلة للمسببات المرضية التي قد تؤدي لامراض مختلفة (Kilic et al., 2009).

بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية ب الشرائح الاجتماعية من حيث وجود وعدم وجود النمو البكتيري عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة (0.0223) وهو أكبر من 0.05 .

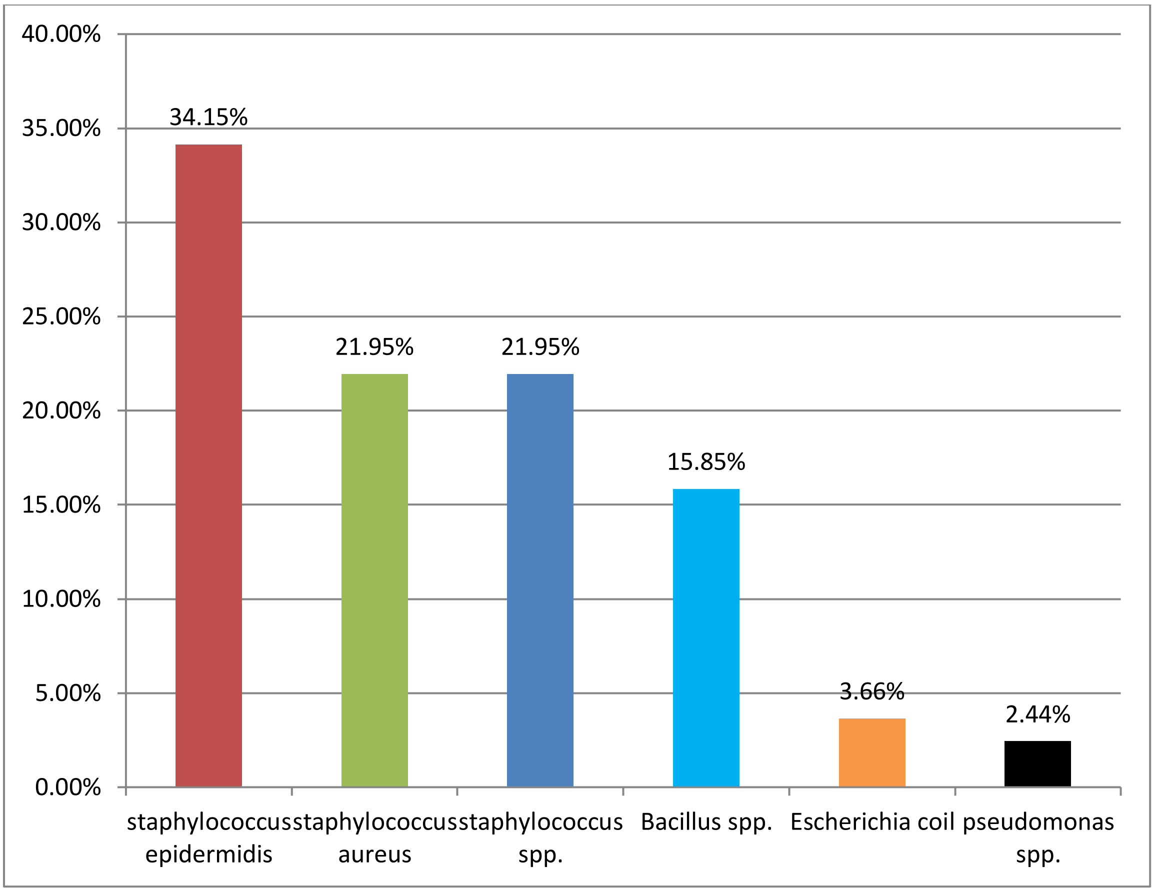
3.2 تشخيص العزلات البكتيرية

تم تشخيص البكتريا اعتماداً على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية التي أوردها كل من Benson (2002) و Alexander وجماعته (2004).

بينت نتائج الدراسة الحصول على 82 عزلة بكتيرية مختلفة من الحالات المشمولة بالدراسة ، وأظهرت نتائج التشخيص أن تلك العزلات توزعت على ستة أنواع بكتيرية وبنسب مختلفة وكما يظهر الجدول (3-2) .

جدول (3-2) : العزلات البكتيرية المعزولة من الاجهزة النقالة

العزلات البكتيرية	الشريحة الاجتماعية				العدد الكلي %
	اساتذة العدد%	الموظفين العدد%	الطلبة العدد %	عمال العدد %	
Staphylococcus epidermidis	5 (17.86)	7 (25)	7 (25)	9 (32.14)	28 (34.15)
Staphylococcus aureus	3 (16.67)	4 (22.22)	4 (22.22)	7 (38.89)	18 (21.95)
Staphylococcus Spp.	5 (27.78)	5 (27.78)	5 (27.78)	3 (16.67)	18 (21.95)
Bacillus Spp.	2 (15.38)	3 (23.08)	3 (23.08)	5 (38.46)	13 (15.85)
E .coli	1 33.33	0 (0)	1 (33.33)	1 (33.33)	3 (3.66)
Pseudomonas Spp.	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	2 (2.44)
العدد الكلي (%)	17 (18.29)	19 (20.73)	20 (26.83)	26 (34.15)	82 (100)



الشكل (3-1) : النسبة المئوية للعزلات البكتيرية الملوثة للاجهزة النقالة

يتضح من الجدول (3-2) و الشكل (3-1) أن الاجهزة النقالة ملوثة بـ 6 أنواع بكتيرية مختلفة، إذ احتلت بكتريا Staphylococcus epidermidis النسبة الأعلى 34.15% (28 عزلة)، جاءت بعدها كل من بكتريا Staphylococcus aureus و بكتريا spp. Streptococcus بنسبة 21.95% (18 عزلة)، ثم جاءت بعدها بكتريا .Bacillus spp بنسبة 15.85 % (13 عزلة)، كما تواجدت بكتريا Escherichia coli بنسبة 3.66 % (3 عزلات)، في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا .Pseudomonas spp وهي 2.44 % (2 عزلة).

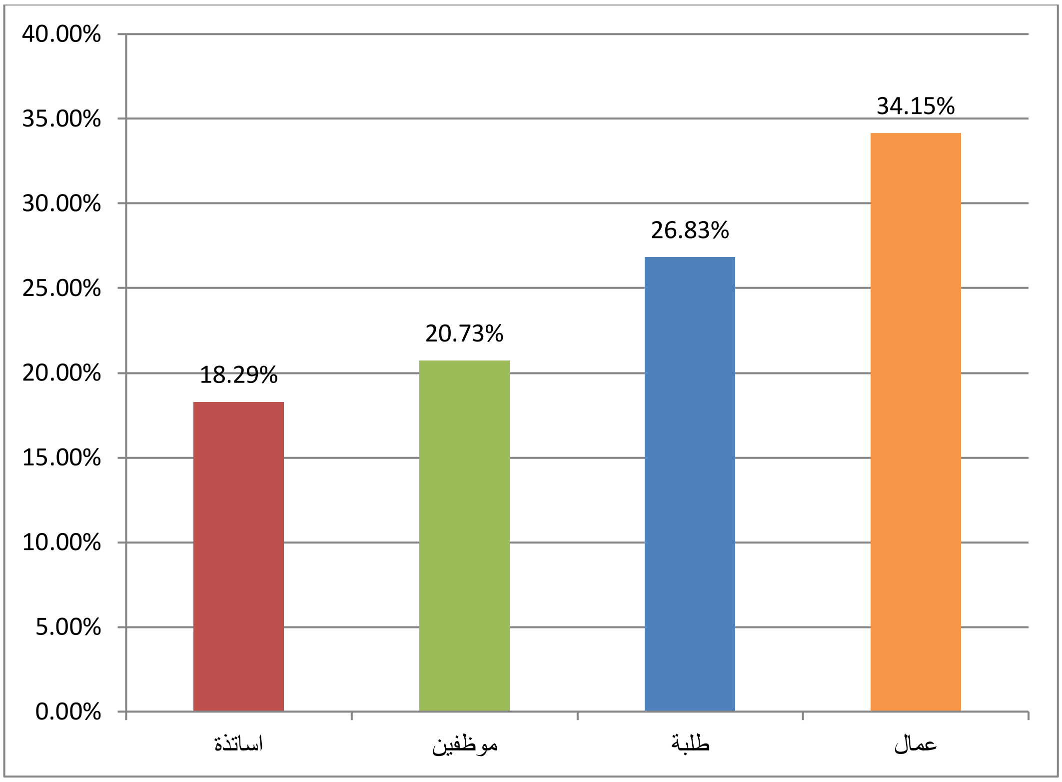
من الجدول (3-2) و الشكل (3-1) نلاحظ أن بكتريا Staph. epidermicdis جاءت في المرتبة الأولى من ناحية العزل34.15% (28 عزلة)، وهذا يتفق مع (Sepehri et al.,2009) في دراستهم التي أجريت في ايران حيث كانت بكتريا Staph epidermicdis هي السائدة من بين الجراثيم المعزولة.

جنس الـ Staphylococci ساكن طبيعي لجسم الإنسان Normal flora فهي تتواجد على الجلد، الأنف، الفم والأمعاء كما أنها تتواجد في الهواء والماء والمجاري، ويمكن أن تنتقل إلى الاجهزة النقالة عن طريق الايدي أو الرذاذ المتطاير من الفم أو الأنف خلال السعال أو العطاس أو التحدث (Goktas, 1992 and Oktay).

إن تواجد بكتريا .Bacillus spp بنسبة عالية أمر متوقع كون هذه البكتريا واسعة الانتشار بينيا فهي تعيش في التربة وتعتبر ملوث سطحي ويمكن أن تنتقل إلى الأجهزة النقالة عن طريق تلوثها بالتراب أو الغبار أو وضعها في الأماكن الملوثة أو تماسها مع الأيدي القذرة .(Tartora and Funke, 2003)

بينت نتائج البحث في الجدول (3-2) و الشكل (3-1) ان نسبة تلوث العملات الورقية بالبكتريا المعوية .E coli و .Pseudomonas spp كانت 3.66 % و 2.67 % (3 و 2) عزلات على التوالي، تواجد هذه البكتريا على الأجهزة النقالة دليل على التلوث البرازي للأيدي بسبب عدم غسل اليدين جيدا بعد استعمال دورات المياه مما يعتبر عامل مهم في تلوث الاجهزة النقالة بهذه البكتريا وبأنواع أخرى تعود إلى العائلة المعوية والتي تتواجد بصورة طبيعية في أمعاء الإنسان (Goktas and Oktay, 1992) .

بيئت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الأنواع البكتيرية المعزولة عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة 0.000 وهو أقل من 0.05.



الشكل (3−2) : النسبة المئوية لتواجد العزلات البكتيرية حسب الشريحة الاجتماعية

يتضح من الشكل (3−2) أن نسبة تواجد البكتريا كانت عالية في شريحة العمال 34.15%، وقد يعود سبب ذلك الى ان هذه الشريحة كثيرة التعرض للملوثات بسبب طبيعة عملهم فضلا عن المستوى الثقافي والوعي الصحي. وبينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الأنواع البكتيرية المعزولة بالنسبة للشريحة الاجتماعية عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة 0.533 وهي أكبر من 0.05.

الفصل الرابع

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الفصل الرابع

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

الاستنتاجات:

1.أظهرت النتائج ان 71 عينة من العينات الكلية البالغة 80 عينة كانت ملوثة بانواع مختلفة من البكتريا وبنسبة 88.75 % .

2.بينت النتائج ان الاجهزة النقالة ملوثة ب 6 انواع بكتيرية مختلفة , اذ احتلت بكتريا S.epdermidis النسبة الاعلى 34.15 % (28 عزلة) , جاءت بعدها كل من بكتريا S.aureus وبكتريا Staphylococcus Spp. بنسبة 21.95 %(18 عزلة) ,ثم جاءت بعدها بكتريا Bacillus Spp. بنسبة 15.85% (13 عزلة), كما تواجدت بكتريا E.coli بنسبة 3.66%(3عزلات) ,في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا Pseudomonas Spp. وهي 2.44% (2 عزلة) .

3. كما أظهرت النتائج ان نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لدى شريحة العمال كانت هي الاعلى 34.15 % , في حين كانت اقل نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة للأساتذة 18.29 % ,بينما كانت نسبة تواجد البكتريا على الاجهز النقالة للشريحتي الموظفين والطلبة هي 20.73 % و26.83 % على التوالي .

التوصيات

1.اجراء فحص الحساسية الدوائية للبكتريا المعزولة من الاجهزة النقالة لمعرفة مدى تلوثها بالعزلات المقاومة للمضادات الحيوية .

2.اجراء دراسة موسعة على تواجد الأحياء المجهرية الاخرى كالفطريات ,فايروسات والطفيليات على الاجهزة النقالة .

3.تجنب اعطاء الاجهزة النقالة للاطفال بأعمار صغيرة لان الطفل الصغير يعمل على لعقها مما يشكل خطراً صحيا عليه .

4. ضرورة الاهتمام بعملية التعقيم لاجهزتنا النقالة بأستخدام الكحول الاثيلي مرة واحدة على الاقل يوميا

لتقليل الكائنات المجهرية المتواجدة عليها .

5 . يجب الحذر من مسألة وضع اجهزتنا النقالة في أماكن ملوثة كالحمات او المختبرات وغيرها لتجنب تلوثها بالبكتريا المرضية .

المصادر

References

References :المصادر

1. **Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A., & Jawetz, M. (2007).** Adelberg's medical microbiology. *Sultan Qaboos Univ. Med. J*, *7*, 273
2. **Collee, J. G., Miles, R. S., & Watt, B. (1996).** Tests for identification of bacteria. *Mackie and McCartney practical medical microbiology*, *14*, 131-49.
3. **Forbes, B. A., Sahm, D. F., & Weissfeld, A. S. (2007).** *Diagnostic microbiology*. St Louis: Mosby
4. **. Göktaş, P., & Oktay, G. (1992).** Bacteriological examination of paper money. *Mikrobiyoloji bulteni*, *26*(4), 344-348.
5. Alexander, S. K., Strete, D., & Niles, M. J. (2004). *Laboratory exercises in organismal and molecular microbiology*. McGraw-Hill.
6. **Ananthanarayan, R. & Paniker, C. K. (1997).** Textbook of Microbiology. 5th ed., Orient Longman. pp. 187-197. Atlas, R. M. (2004). Handbook of Microbiological Media . 3ed ed . CRC Press LLC . USA .–
7. **Goldman, E., & Green, L. H. (Eds.). (2015**). *Practical handbook of microbiology*. CRC press.
8. **Govan, J. R., Doherty, C. J., Nelson, J. W., Brown, P. H., Greening, A. P., Maddison, J., ... & Webb, A. K. (1993)**. Evidence for transmission of Pseudomonas cepacia by social contact in cystic fibrosis. *The lancet*, *342*(8862), 15-19.
9. **Holt, J. G., Krieg, N. R., & Sneath, P. H. (1994).** Bergey's manual of determinative bacterology.
10. **Jassim, A. A., Khalaf, A. T., & Muaffaq, A. (2020)**. BACTERIAL CONTAMINATION OF SMALL PAPER CURRENCIES IN THE CITY OF SAMARRA, IRAQ. *Plant Archives*, *20*(2), 1509-1511.

11. **Jawetz, M. and Adelberg's, E.A. (2009).** Medical Microbiology. 27th ed., The McGraw-Hill Companies, Inc., New Yourk, USA.
12. **Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (1997).** Diagnostic microbiology. *The nonfermentative gram-negative bacilli. Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers*, 253-320.
13. **Logan, N. A., & De Vos, P. (2009)**. Genus Bacillus in: Bergeys Manual of Systematic Bacteriology, 2nd, Vol. 3.
14. **Minnerath, J. M., Roland, J. M., Rossi, L. C., Weishalla, S. R., & Wolf, M. M. (2009)**. A comparison of heat versus methanol fixation for gram staining bacteria. *Bioscene: Journal of College Biology Teaching*, *35*(2), 36-41.
15. **Morse, S. A. (2004).** Medical Microbiology. 23rd ed. Appelton and Longe. USA
16. **Rehm, B. H. (Ed.). (2008).** *Pseudomonas: model organism, pathogen, cell factory*. John Wiley & Sons.
17. **Tagoe, D. N., Gyande, V. K., & Ansah, E. O. (2011)**. Bacterial contamination of mobile phones: when your mobile phone could transmit more than just a call.
18. **Zakai, S., Mashat, A., Abumohssin, A., Samarkandi, A., Almaghrabi, B., Barradah, H., & Jiman-Fatani, A. (2016)**. Bacterial contamination of cell phones of medical students at King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia. .*Journal of Microscopy and Ultrastructure*, *4*(3), 143-146