جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى– كليـة التربيـة للعلـوم الصرفـة

دراسة عن الملوثات الميكروبية لعدسات العيون اللاصقة

رسالة مقدمه إلى

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة / الأحياء المجهرية

من قبل

سهاد ياسين عبد علي الفيلي

بكالوريوس علوم حياة / جامعة ديالى(2004)

بـــأشـراف

أ . د . عباس عبود فرحان

أ . د . ماجد محمد محمود

ذو القعدة /1434

أيلول / 2012

بسم الله الرحمن الرحيم

وعنده مفاتح الغيب لا يعلمها إلا هو ويعلم ما في البر والبحر

وما تسقط من ورقة إلا يعلمها ولا حبة في ظلمات الأرض ولا

رطب ولا يابس إلا في كتاب مبين

صدق الله العظيم

سورة الأنعام / الآيه (59)

أقرار المشرفين على الرسالة

نشهد أن أعداد هذه الرسالة الموسومة بـ(**دراســـة عن الملوثات الميكروبية لعدســـات العيون اللاصقة**) التي قدمتها (**سهاد ياسين عبد**) قد جرى تحت أشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / أحياء مجهرية .

التوقيع :

المشرف : د . عباس عبود فرحان

اللقب العلمي : أستاذ

العنوان : جامعة ديالى /كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ : / /2012

التوقيع :

المشرف : د . ماجد محمد محمود

اللقب العلمي : أستاذ

العنوان : الجامعة ألمستنصريه/كلية العلوم

التاريخ : / / 2012

توصية رئيس قســم علوم الحياة

بناءا على التوجيهات المتوافرة نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :-

الاسم :- د . نجم عبد الله جمعه

اللقب العلمي :-

التاريخ: / /2012

الإهـــداء

إلى من رزقني الهدايه والعلم الخالق الأجل

ولنبيه الرسول الأكمل

وللمؤمنين سائرهم الأفضل

إلى

كل شيء جميل يتنفس على تراب وطني المؤصل

إلى

أمـي وأبـي مـلاذي الأول

إلى

زوجي وابني العزيز مستقبلي الافضل

إلى

أخواني وأخواتي ساكنة قلبي الأجمل

اهدي لهم ثمرة جهدي المتواضع..... سماد

شكر وتقدير

الحمد لله الذي هدانا لهذا وماكنا لنهتدي لولا أن هدانا الله فله الشكر في مبتغاه وفي أوله ومنتهاه .

لايسعني وأنا انهي رسالتي هذه ألا أن أتقدم بشكري وتقديري بإجلال المحبة والاحترام الى أستاذي الفاضلين، المربي والأستاذ الفاضل الدكتور عباس عبود فرحان، والمشرف بأستبانة رأيه الدكتور ماجد محمد محمود لاقتراحهما موضوع البحث وسعة صدرهما ومتابعتهما المستمرة وتوجيهاتهما الاكاديميه القيمة.

وأتقدم بالشكر الى عمادة كلية التربية للعلوم الصرفة و رئاسة قسم علوم الحياة في واخص بالشكر الدكتور نجم عبد الله رئيس القسم.

وعميق شكري وتقديري الى مستشفى ابن الهيثم لأمراض العيون برائعة مدراءها وخاصة الدكتور خضير عباس جاسم الطائي/اختصاص طب وجراحة العيون لجهوده الكبيرة والقيمة التي بذلها طيلة فترة البحث وتشجيعه المستمر لي .

والى أطبائها الأجلاء وكافة منتسبيها الكرام .بالأخص كوادر مختبراتها الأوفياء واخص بالشكر البكتريولوجي الاختصاص قاسم محمد مسؤول المختبر، والبكتريولوجي احمد محمد , والسيد وسام قاسم.

وأود أن أقدم شكري وتقديري واعتزازي الشديد لأختي وصديقة عمري شهله ثامر التي كانت معرفتي بها كنز اعتز به.وعميق شكري واحترامي الى الدكتور محمد فرج والدكتور هادي رحمن الطائي لمساعدتي في انهاء رسالتي.

ولا انسى أن أتقدم بشكري وتقديري لزملائي الأعزاء من طلبة الدراسات العليا وتمنياتي لهم بالموفقيه ولكل من أعانني في البحث والإتيان .

ماحييت شكري وتقديري لهذه النخبة جميعا ...

سهاد

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education
And Scientific Research
Diyala university
College of Education For Pure Science

A study of microbial contaminants of contact eye lenses

A Thesis
Submitted to the college of Education for pure Science of Diyala University in partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Biology/ Microbiology.

By

Suhad Yassein Abd AL – Fayli
B. Sc . Biology – Diyala University (2004)

Supervised by:
Dr.Abbas Abud Farhan (Professor)
Dr.Majid Mohammed Mahmood (Professor)

Abstract

This study included the isolation and diagnosis of microbial causes complications within using contacte lenses . Samples of infected eyes were gathered from 102 infected patients in which 64 case are diagnosed clinically and by labrotary also represnt 62.7 % from to totol number of positive results of microbial cultures . The positive microbe Gram stain represented great rate in the isolation 48.5% prevailing the types of *Staphylococcus spp.* , while the types of *Pseudomonas spp.* were prevailing as Gram stain negative bacteria.

The filamentous fungal type *Aspergillus spp.* were prevailing in the rate of isolating 5.9% from the total of the infected cases. The number of the diagnoses cases clinically *Acanthamoeba spp*. were only 4 with percentage 3.9%.

It was noticed that there was possible increase of infection in age 11-20 years . Also the study showed that the rate of infection with complications due to using contact lenses was great in corneal abrasion at the percentage of 41.2% ، followed by 26.5% of Microbial Keratitis.

The percentage of both regarding Sterile Keratitis and Allergic conjunctive was 12.4% for each one .The lowest percentage was of corneal erosion due to use of contact lenses at 6.9% .

Regarding effective factors upon the infected through complications of using contact lenses, the results showed that the highest percentage was 88.2% of soft contact lenses (daily extended wear) out of cases total who were included within the study . The period of using the lenses before the appearance the syndrome was the highest at the period of 10 minutes to one hour.

The infection among housewives were the highest 63.7% , followed by the student class about 24.5%, while the percentage of infection among others like(employees)were 11.8%. The highest percentage of infection in the history of the patients were for reproductive system infection at the percentage of 42.2% , followed by seasonal allergy at the percentage of 18.9 % , while diabetes at the rate of 4.5% . the medical drugs were contraceptive at the percentage 5.9% . Distribution of the infections in the smokers' environment were the highest percentage 63.7% was among thes smoker compared with non smokers .

The results of the study revealed that microbe *Pseudomonas aeurginosa* is the most contacted to the surfaces of all kinds of lenses during different periods of incubation , while the fungus *Aspergillus niger* was the less contacted. The time period of 24 hours incubation was the highest percentage for the contact of microbial cell that reach its peak for formation of the Biofilm.

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

الاستنتاجات

والتوصيات

المصادر

الملاحق

الخلاصـــــة

تضمنت هذه الدراسة عزل وتشخيص الجراثيم المسببة لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقه .تم جمع النماذج المرضية من 102 مصاب ، اعطت 64 حاله مشخصه سريريا ومختبريا بنسبه 62.7% نتيجة موجبة للزرع الميكروبي، وشكلت البكتريا الموجبة لصبغة كرام اعلى نسبة في العزل 48.5% سادت فيها انواع جنس المكورات العنقوديه *Staphylococcus spp.*، في حين كانت انواع جنس الزوائف *Pseudomonas spp.* هي السائدة بالنسبة للعزلات البكتيريه السالبة لكرام.

فيما كانت انواع الفطريات الخيطية من نوع *Aspergillus spp.* هي السائدة في عزلات الفطريات بنسبه 5.9 % لـ من مجموع حالات الاصابة .

اما عدد الحالات المشخصة سريريا فقط 4 حالات منها بنسبة 3.9% عائدة لجنس *Acanthamoeba* المسبب لالتهاب القرنية الاميبي .

لوحظ الاصابة بالمدى العمري 11-20 سنة هي السائدة. كما أظهرت الدراسة ان نسب الاصابه بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة كانت 41.2% في حالة تخدش القرنية ، تلتها 26.5% لالتهاب القرنية الجرثومي,أما تقرح القرنية الغير جرثومي وحساسية الملتحمة فكانت نسبة كل منهما 12.4%, أما النسبة الأقل عددا فكانت لتأكل القرنية بفعل استخدام العدسات اللاصقة بنسبة 6.9%.

أما العوامل المؤثرة على الاصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة بينت النتائج ان اعلى نسبه 88.2% كانت للعدسات اللاصقة اللينة اليومية والممتدة الاستعمال من مجموع حالات التي تضمنتها الدراسة.

وان الفترة الزمنية لاستخدام العدسة قبل ظهور اعراض الاصابة كانت النسبة الاعلى للفترة من 10 دقائق– 1 ساعه .

اظهرت النتائج ان بيئة المستخدم والمستوى التعليمي له فكانت نسبة الاصابة بين ربات البيوت هي الاكبر 63.7% . تليها فئة الطلبه نسبة 42.5% ، فيما كانت النسبة الادنى للاصابة 11.8% لفئة المهن الاخرى(موظفين) .

اظهرت نتائج الدراسة للتاريخ المرضي ان اعلى نسبة كانت لاخماج الجهاز التناسلي42.1%, تلتها الحساسية الموسمية بنسبة 18.6% فيما كان داء السكري بنسبة 4.9% ،اما نسب الاصابات في المرضى المتعاطين العقاقير الطبية قبل الاصابة فكانت موانع الحمل هي الاعلى بنسبة 5.8%. اما نسب توزيع الاصابات في بيئة المدخنين هي الاكثر تأثيرا بالإصابات 63.7% من مجموع حالات الدراسه فيما سجلت أدنى نسبة للاصابه 36.3% لغير المدخنين .بينت نتائج الدراسة ان القابيلية الالتصاقية للخلايا الميكروبية ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي الاكثر التصاقاً بأسطح العدسات بكافة انواعها خلال الفترات الزمنية المختلفة للحضن، فيما كان فطر *Aspergullis niger* الاقل التصاقاً، وان الفترة الزمنية 24 ساعة حضن هي اعلى نسبة التصاق للخلايا الميكروبية بأسطح العدسات اللاصقة.

قائمـة المحتويـات

رقم الفقرة	الموضوع	الصفحة
	الخلاصة	I
	قائمة المحتويات	III
	قائمة الأشكال	VIII
	قائمة الجداول	X
	قائمة المختصرات	XI
الفصل الأول : المقدمة		
1	المقدمة	1
الفصل الثاني : استعراض المراجع		
1.2	تشريح العين	4
1.1.2	القرنية	5
1.1.1.2	وظائف القرنية الدفاعية	6
2.1.2	الملتحمة	8
1.2.1.2	وظائف الملتحمة الدفاعية	9
3.1.2	الاجفان	10
1.3.1.2	وظائف الاجفان	10
2.2	الجهاز الدمعي	10
1.2.2	الغدد الدمعية	11
2.2.2	الغدد الدمعية الاضافية	11
3.2.2	السائل الدمعي Tear Film	13

1.3.2.2	تركيب السائل الدمعي	13
2.3.2.2	المركبات الكيميائيه للسائل الدمعي	15
3.3.2.2	وظائف السائل الدمعي الدفاعية	16
4.3.2.2	الية تجميع وتعريف الدموع	17
3.2	النبيت الطبيعي في العين	17
4.2	العدسات اللاصقة Contact lenses	18
1.4.2	انواع العدسات اللاصقة	19
2.4.2	مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة	21
1.2.4.2	التهاب القرنية المايكروبي	23
1.1.2.4.2	التهاب القرنية البكتيري	23
2.1.2.4.2	التهاب القرنية الفطري	27
3.1.2.1.2	التهاب القرنية الاميبي	29
5.2	قابلية الالتصاق المايكروبي على العدسات اللاصقة والعوامل المؤثرة في الالتصاق	32
الفصل الثالث : ألمواد وطرائق العمل		
1.3	الاجهزة والمواد المستخدمة	35
1.1.3	الاجهزة المستخدمة	35
2.1.3	الماواد الكيمياوية	36
3.1.3	المواد المستخدمة في العزل العام للاحياء المجهرية وتشخيصها	37
1.3.1.3	الاوساط الزرعية	37
1.1.3.1.3	الاوساط الزرعية الجاهزة	37

2.1.3.1.3	الاوساط الزرعيه التركيبية	38
2.1.3.1.3	وسط اختبار الحركة	38
2.1.3.1.3	وسط تخمر السكريات	38
2.1.3.1.3	وسط الجلاتين	38
2.3.1.3	المحاليل والدوارئ والكواشف	39
1.2.3.1.3	صبغات ومحاليل كرام	39
2.2.3.1.3	محلول كيمزا	39
3.2.3.1.3	محلول كاشف الاوكسديز	39
4.2.3.1.3	صبغة اللاكتوفينول الزرقاء	39
5.2.3.1.3	محلول كاشف الكاتليز (3%)	39
6.2.3.1.3	محلول كاشف احمر المثيل (20%)	40
7.2.3.1.3	محلول كاشف فوكس بروسكاوس	40
8.2.3.1.3	محلول ثابت العكرة	40
9.2.3.1.3	كاشف كوفاكس	40
10.2.3.1.3	دارئ الفوسفات	41
11.2.3.1.3	كاشف احمر الفينول	41
12.2.3.1.3	محلول بلازما الدم للارانب	41
2.3	مجاميع الدراسة وطرائق العمل	41
1.2.3	مجاميع الدراسة	41
1.1.2.3	مجموعة المرضى	41
2.1.2.3	مجموعة السيطرة	42
2.2.3	جمع النماذج	42

1.2.2.3	جمع النماذج للزرع	42
2.2.2.3	جمع النماذج لعد كريات الدم البيض (PMNS)/التشخيص الخلوي	43
3.2.3	عزل الجراثيم وتنقيتها	43
4.2.3	تشخيص العزلات المايكروبية	44
1.4.2.3	تشخيص عزلات المكورات العنقودية	44
2.4.2.3	تشخيص عزلات المسبحيات	45
3.4.2.3	تشخيص عزلات الزوائف	46
4.4.2.3	تشخيص عزلات العصيات	47
5.4.2.3	تشخيص عزلات البكتريا العائلة المعوية	48
6.4.2.3	تشخيص عزلات الفطريات	48
7.4.2.3	تشخيص الطفيليات	50
5.2.3	طرائق التعقيم	52
6.2.3	حفظ العزلات البكتيرية	52
7.2.3	اختبار قابلية العزلات المايكروبية على الالتصاق بالعدسات اللاصقة خارج الحي	53
1.7.2.3	العدسات اللاصقة	53
2.7.2.3	الدموع الصناعية	54
3.7.2.3	العزلات المايكروبية المنتخبة وشروط النمو	54
4.7.2.3	اختبار الالتصاق	55
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		
1.4	خصائص النماذج المرضية لمضاعفات استخدام	56

	العدسات اللاصقة	
2.4	عزل وتشخيص الجراثيم المسببة لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة	59
3.4	العوامل المؤثرة في مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة	64
1.3.4	نوع العدسات ومدة استخدامها(الجدول الزمني)	64
2.3.4	التاريخ المرضي	67
3.3.4	بيئة المستخدم ومستوي التعلم	68
4.3.4	التدخين	70
4.4	تحليل قابلية الالتصاق للعزلات المايكروبية بالعدسات اللاصقة وتأثير بعض العوامل فيها	72
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات	80
	التوصيات	81
	المصادر	82

قائمـــة الأشكـــال

رقم الفقرة	العنـوان	الصفحة
1-2	تشريح عين الانسان	4
2-2	عين مريض مصاب بالتهاب القرنية البكتيري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة (مأخوذه لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم).	26
1-3	عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الفطري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ، المسبب فطريات خيطية (مأخوذه لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم).	49
2-3	عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الفطري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ، المسبب الخمائر الشبيه بالفطريات (مأخوذه لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم).	50
3-3	عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الأميبي بمراحلة المبكرة المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ، (مأخوذه لاحدى الاصابات في المرضية في مستشفى ابن الهيثم).	51
4-3	عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الاميبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة (مأخوذه لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم).	51
1-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب العمر والجنس	56

2-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب نوع الاصابة	57
3-4	النسبة المئوية للجراثيم المعزولة حسب التصبيغ لصبغة (كرام,لاكتوفينول الزرقاء)	59
4-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب نوع العدسات	65
5-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات حسب مدة الاستخدام	65
6-4	توزيع الاصابات حسب التاريخ المرضي (عقاقير طبية,امراض)	67
7-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات حسب بيئة المستخدم ومستوى التعليم	69
8-4	توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب تأثير التدخين	71
9-4	الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات الحضن المختلفة لنوع (*Pseudmonas aeruginosa*)	73
10-4	الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة لفترات الحضن المختلفة لنوع (*Staphylococcus epidermidis*)	74
11-4	الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات حضن مختلفة لنوع (*Staphylococcus aureus)*	74
12-4	الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات حضن مختلفة لنوع (*Aspergillus niger*)	75

قائمـــة الجـــداول

رقم الفقرة	العـنوان	الصفحة
1-2	انواع الغدد في العين ومواقعها ونوع الافراز	12
2-2	الوظائف والمركبات الفارزة لكل من طبقات الدموع الثلاثة	14
1-3	اهم الخصائص للعدسات اللاصقة	53
1-4	الاعداد والنسب المئوية للعزلات المايكروبية المعزولة من مرضى مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة	61
2-4	نتائج قياس الكثافة الضوئية (O.D) للعزلات الميكروبية الملتصقة بالعدسات اللاصقة واعداد (PMNs) لكل نوع مايكروبي	76

قائمة المختصرات

المختصر	الاسم الكامل
C.L	contact lenses
S.C.L	Soft contact lenses
R.C.L	Rigid contact lenses
D.W	Daily wear
E.W	Extended wear
Secretory IgA	Seretory immunoglobulin-A
LPs	Lipopolysaccaride
DNose	Deoxyribonuclease
pH	Negative logarithmic of hydrogen lon concentration
Spp	Species
F.K	Fungal keratitis
M.K	Microbial keratitis
A.K	Acanthamoeba keratitis
B.K	Bacterial keratitis
HEMA	Hydroxyethylmethacrylate
H.C.L	Hydrogel contact lenses
Cocl	Cosmetic contact lenses

1 . المقدمـــة...

تتكون العين من عدة تراكيب داخليه وخارجية تشمل الجفون ، المنظمة ، صلبة العين ، القرنية ، الشبكية والغدد الدمعية .تتنوع إصابات العين وأسبابها وأهمها التهابات الجفون ، المنظمة ، القرنية الناتجة من استخدام العدسات اللاصقة.

وتعد الإصابات الناتجة عن العدسات اللاصقة من الأمراض المهمة التي تحدث للعين إذ تعود أهميتها إلى حقيقة كونها تؤدي في الغالب إلى مضاعفات خطرة مما ينتج حدوث عتمة في العين وخفض حدة البصر .

وعلى رغم من استخدام العدسات اللاصقة في مجالات عدة منها الطبية ، العلاجية ،التجميلية وغيرها حيث ازداد استخدامها بصورة واسعة في الوقت الحاضر، وأكثر مستخدميها من النساء لأغراض تجمليه Barr ,2005.

إن استخدام العدسات اللاصقة يغير من الخصائص الفيزياويه للقرنية نتيجة قلة كمية الأوكسجين الممتص مما يسبب تغير ميكانيكية السائل الدمعي لتصبح القرنية بيئة مجهدة مهيئة للاصابة بإحدى مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة وان حوالي 5% من مستخدميها يتعرضون سنويا الى أحدى مضاعفات استخدام العدسات اللاصقه ,

وان اغلب مضاعفات العدسات ترافق استخدام العدسات اللينة الممتدة الاستعمال وأحيانا اللينة ذات الاستعمال الواحد , حيث تلعب المادة الداخلة في صناعتها دورا مهما في ظهور إحدى المضاعفات الشائعة .

توجد عدة عوامل تزيد من ظهور مضاعفات العدسات اللاصقة منها ما يرتبط بالأشخاص أنفسهم مثل قلة الامتثال للظروف الصحية او الاصابة باحدى الأمراض المثبطة لكفاءة الجهاز المناعي او عوامل مرتبطة ببيئة المستخدم Stephen ,2005 .

تتراوح مضاعفات العدسات اللاصقة بين البسيطة و الخطرة تؤثر على طبقات القرنية المختلفة .

ومن أكثر مضاعفات استخدام العدسات اللاصقه شيوعا هو خدش القرنية corneal abrasion والناتج من المبالغة في ارتداء العدسات اللاصقة او دخول جسم غريب فوق القرنية تحت العدسه اللاصقة .

عادة ما تشفى الخدوش تلقائيا الا ان تطورها يؤدي الى التهابات خطيرة قد ينتج عنه فقدان البصر وقد يرافق هذه الالتهابات تعقيدات تنتهي الى تقرح القرنية الجرثومي الناتج من تحطم مكوناتها وتراكيبها بفعل الملوثات المايكروبية المختلفة للعدسات اللاصقة (بكتريا ، فطريات ، طفيليات) الملتصقة على اسطحها وتكوين الغشاء الحيوي الذي يتأثر بعدة عوامل اهمها مواد العدسات اللاصقة وشحنة اسطحها وكذلك نوع المسبب المايكروبي حيث تختلف قابلية الالتصاق من جنس الى اخر واحيانا من سلاله الى اخرى في المسبب المايكروبي .

ولذلك قد يتطلب علاج التهاب القرنية الجرثومي الى دخول المريض المستشفى او اجراء عملية جراحيه لزراعت القرنية لاعادة الرؤية للعين بسبب الاصابة Alasteir and Phili ,2009 ،اذ يعد التهاب القرنية الجرثومي من اخطر المضاعفات المدمرة للبصر Yi-chiao *et al* .,2006.

جرت عدة دراسات وابحاث في العديد من الدول ، شملت التحري عن المسببات الميكروبية لحدوث الاخماج والعوامل المؤثرة في الاخماج القرنية الجرثومي Microbial Keratitis والبحث عن طرق كفوءه لتشخيصة، لان التشخيص السريع والصحيح له يعد خطوة مهمة في طريق العلاج والشفاء وبما ان طبيعة مسببات هذا الالتهاب والعوامل المؤثرة فيه تختلف الى حد ما بأختلاف التوزيع الجغرافي لمناطق الاصابة والعمر وبيئة المستخدم.

ولقلة المعلومات والأبحاث المتعلقة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة ومسبباتها الجرثومية في القطر وشحة البحوث المتعلقة بتحليل القابلية الالتصاقية ودورها في تطور الاصابة .

لذا هدفت الدراسة الى:-

1 – عزل وتشخيص الملوثات المايكروبية المختلفة للاصابات المرافقة لاستخدام العدسات اللاصقة من نماذج دموع العيون للمصابين من المراجعين لمستشفى ابن الهيثم التخصصي التعليمي لامراض العيون .

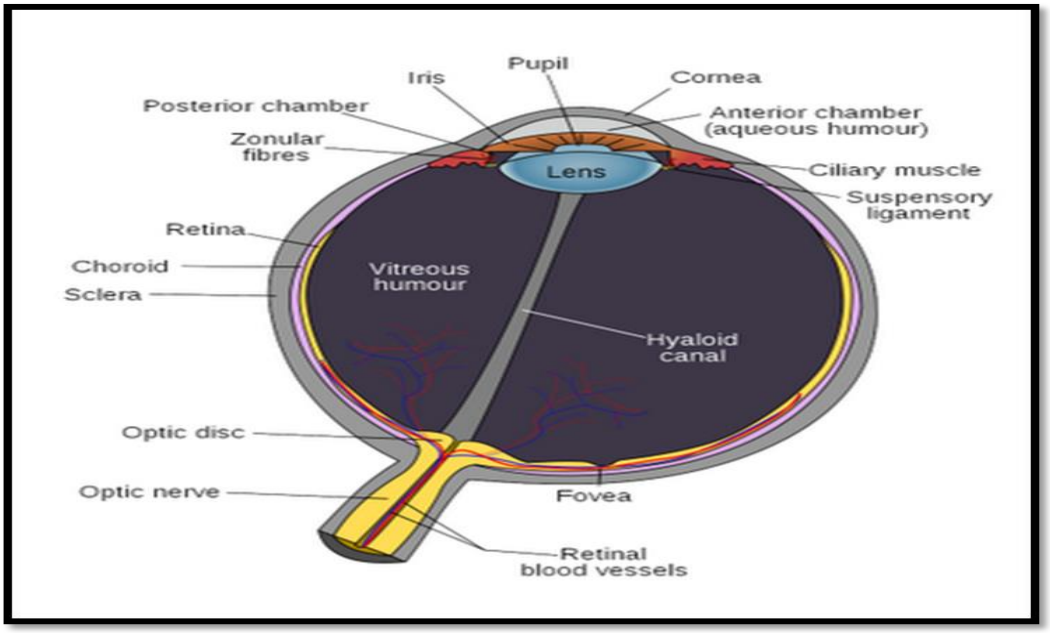
2 – دراسة العوامل المؤثرة والمهيئة لحدوث مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة المتعلقة بعوامل العمر ، الجنس ، التاريخ المرضي ، بيئة المستخدم والمستوى التعليمي ، التدخين .

3 – تحليل القابلية الالتصاقية للعزلات المايكروبية المنتخبة لفترات زمنية مختلفة وانواع عدسات لاصقة مختلفة الخصائص.

2. **استعراض المراجع** :

2. 1 **تشريح العين** : Eye anatomy

تتركب العين من أجزاء عدة، إلا ان جزءاً صغيراً منها يتعرض للمحيط الخارجي، وإن حوالي خمسة أسداس كرة العين Eye ball يكون مغموراً في محجر العين Boney orbit لتأخذ شكلاً هرمياً رباعي الأوجه. تتألف الأجزاء الخارجية للعين من الجفون Eye Lids، المنظمة Conjunctive والقرنية Cornea كما في الشكل (2-1).



شكل (2-1) تشريح عين الإنسان (Acharya *et al* ., 2008)

أما كرة العين فتتألف نسيجياً من ثلاث طبقات من الخارج إلى الداخل صلبة العين Sclera مشيمة العين Choroid، الشبكية Retina ، ويكون نسيج الصلبة كثيف القوام، ابيض ويحتوي انسجة ليفية تمثل بياض العين وإلى الداخل وبأتجاه الامام توجد القرنية، التي تعد جزءاً من صلبة العين وتكون شفافة Transparen وتخلو من الاوعية الدموية.

فيما تكون المنظمة عبارة عن غشاء مخاطي، أما الجفون فتمثل الخطوط الخارجية والغلاف الذي يحيط بالعين نفسها Alastair and Philip , 2009; Renu, 2009

يقسم الفراغ الداخلي لكرة العين إلى قسمين :-

الأول يطلق عليه بالتجويف الامامي Anterior Cavity الذي يكون مملوءاً بمواد مائية تسمى بالسائل أو الخلط المائي Aqueous humor ,أما القسم الثاني فيشمل التجاويف الخلفية Posterior Cavity التي تملآ عادة بمادة رقيقة تشبه الجلاتين يطلق عليها السائل الزجاجي Vitreous Humor كما تحتوي العين على جهاز الدموع Lacrimal Apparatus الذي يحوي الغدة الدمعيةLacrimal gland ، القنوات الدمعية Lacrmal ducts وكيس الدمع Lacrimal Sac .

2. 1.1 **القرنية** The Cornea :

تمثل القرنية غالبية الجزء الامامي للعين،وتعتبر نسيجاً متخصصاً له القابلية على كسر الضوء الذي يمر خلاله ونقله مباشرة الى الشبكية.

عند أخذ مقطع مستعرض للقرنية يلاحظ بأنها تتألف من خمس طبقات مكثفة من الامام الى الخلف وكما يلي .Khuran and Indu, 2006; Kanski, 2011 :

1.**النسيج ألطـــلائي** Epithelium :

تتألف الطبقات الاولى من خلايا حرشفية مطبقه Stratified Squamous المؤلفة من ثلاث انواع من الخلايا القاعدية Basal cells من 2-3 طبقات من الخلايا المجنحة والخلايا السطحية Winged cells and Surface cells وتستطيع هذه الطبقة أن تجدد خلاياها اذا ما تعرضت للضرر خلال (7) أيام .

2. **غشاء بومان** Bowman Membrana :

طبقة لا خلوية مكثفة بألياف الكولاجين Collagen Fibrils ويعد هذا الغشاء مقاوماً للالتهابات لكنه حين تمزقه لا يمكن أن يتجدد ويؤدي إلى حدوث عتمة في اماكن فقدانه.

3. **نسيج المادة المصاحبة للقرنية** The Stroma :

نؤلف حوالي90% من مكونات القرنية ويكون اكثر شفافية من الانسجة الضامة الاخرى. يتكون بالدرجة الاساس من بروتين يعرف بالكولاجين Collagen المرتبط بالبروتوكلايكان Protoglycan او الكلايكوبروتين Glycoproten الذائب، وتتوزع بين الطبقات الرقيقة خلايا القرنية المسطحة وبعض كريات الدم البيض.

4. **غشاء ديسمنت أو الصفيحة المرنة الخلفية** :

Posterior elastic Lamina Or Decement membrane

وهي طبقة رقيقة قوية مرنة، تستطيع ان تتجدد بعد تعرضها للضرر.

5.**النسيج الطلائي الداخلي** The Endothelium :

عبارة عن طبقة مفردة من الخلايا قليلة التكعب، تتناقص اعداد هذه الخلايا بتقدم العمر مما يجعلها رقيقة وضعيفة كما انها لا تجدد نفسها.

1.1.1.2**وظائف القرنية الدفاعية** Function of the Cornea :

القرنية عضو لا وعائي، إلا أنها تمتلك وسائل دفاعية مناعية استثنائية لحماية التراكيب الرقيقة الامامية للعين من أي مواد ضارة السموم Toxins او ميكروبات Microbes موجودة في البيئة.

صنفت دفاعات العين بصورة عامة إلى اليات دفاعية ذاتية أوغير متخصصة native or nonspe scific defense, واليات دفاعية متخصصة مكتسبة acquired-specific defense.

فالحواجز الفيزياوية مثل محجر العين، الجفون، والعناصر الخلوية والجزيئية مثل الدموع Tears ، اعصاب القرنية Cornea nerves ، وفعالية الخلايا الطلائية للقرنية، وبعض الحركيات الخلوية Cytokines ، وكريات الدم البيض المتعددة اشكال النوى،PolymorPhonuclsecells(PMNs) Tran *et al* ., 2002 .وكلها مركبات مناعية ذاتية تعمل كخط دفاعي أول ضد الاصابات المايكروبية والالتهابات البسيطة.عند إصابة الطبقة الطلائية للقرنية بأي ضرر تتحرر عوامل Thymocytes الفعالة محفزة على استجابة مناعية موقعية متضمنة (PMNs)، خلايا ليفية Fibroblast Nassif, 1996.

حيث تضم PMN كلاً من الخلايا العدلة Nutrophil، القعدة Basophil والحمضةEosinophil . إلا أن الخلايا العدلة تعتبر من أهم الخلايا المناعية لحماية سطح القرنية من المكروبات الغازية مثل فطريات *Fusarium, Aspergillus, candida* والبكتريا.

توجد خلايا (PMNs) طبيعياً في القرنية إذ تتحرك من خلال إرتباطها بمستقبلات الخلايا الداخلية للاوعية الدموية بعملية الانسلال diapedesis ، ولها أيضاً دور كبير في عملية البعملة Phagocytosis وقتل الاحياء المجهرية.
Burg and Phillinger, 2001; Cullor *et al*, 1990
حيث يلاحظ وجودها بأعداد كبيرة في منطقة الاصابة المايكروبية بمراحلها المبكرة في التهاب القرنية الجرثومي Microbial Keratitis وعادة تحفز خلال ساعات قليلة كأستجابة مناعية للاصابة المايكروبية Mannis and Smolin, 1996
يوجد ايضا مركبات مناعية اخرى مختلفة منها (IgM, IgA) المتمركزة في محيط القرنية أكثر من مركزها بالاضافة إلى مركبات المتمم complement وايضا خلايا لانكرهانز Langerhans cell المتمركزة في محيط الطبقة الطلائية للقرنية.

2.1.2 **الملتحمة** conjunctive :

غشاء مخاطي mucousmenbran رقيق شفاف يغطي السطح الداخلي للاجفان palpebral conjunctive ويغطي الجزء الامامي من الصلبة Bulbar conjunctive وتنقسم إلى قسمين:

أ. القسم الجفني: يغطي الجفن من الداخل.

ب. القسم العيني: يغطي كرة العين فوق الصلبة، ويتصل هذان الجزءان بطية من الاعلى والاسفل بقبو الملتحمة fornix .

نسيجاً تتألف من ثلاث طبقات اساسية Kanski, 2011 :-

1.**الطبقة السطحية** Epithelium :

تتكون من عدة طبقات من الخلايا العمودية، تحتوي على الخلايا القدحية Goblet cells، الفارزة للمخاط وتكثر في جيب الملتحمة السفلي.

2.**الطبقة الشبه غددية** Adenoid layer :

تحتوي بالاضافة الى الانسجة اللمفاوية مجموعة الخلايا وحيدة النواة.

3. **الطبقـــة السفليـــــة** :

ليفية مرنة، كذلك تحتوي على الغدد الدمعية المساعدة Accessory Lacrimal glands وإن كلاً من الطبقة الغددية والليفية تدعى بالطبقة الاساسية للملتحمة.

1.2.1.2 **وظائف الملتحمة الدفاعية** :

تمثل الملتحمة حاجزاً تشريحياً دفاعياً وظيفياً ضد الخمج Fedukowicz and Stenson, 1985 .وتؤدي الملتحمة عدداً من الوظائف المهمة حيث تسهم في الافرازات التي تكون الدمع فتوفر أيضاً سطح حماية مانع لاختراق الجراثيم للعين، كما وتحتوي على خلايا فارزة للمخاط التي تعمل على ترطيب العين بافرازاتها ، وكذلك طرد الجراثيم الخارجية Exogenous خارج العين.إن وجود النبيت الطبيعي Normal flora بصورة مستمرة ربما يجنب اصابات القرنية الناتجة عن الاحياء المجهرية الممرضة الغازية الأخرى cogen *et al*., 2008; palmer, 2007

تكون الملتحمة محمية بشبكة من الاوعية الدموية والتراكيب اللمفاوية، فالملتحمة مرافقة للانسجة اللمفاوية الغنية بالخلايا اللمفاوية (البائية والتائية) فعند التعرض لمستضد موقعي تنبثق إلى منطقة العقد اللمفاوية لتتمايز الخلايا البائية إلى خلايا بلازمية plasma cells وعبر مجرى الدم تصل إلى الملتحمة لتنتج الكلوبين المناعي صنف A (chandler and Gillett , 1983) .

3.1.2 **الاجفان** Eye Lids :

تعد الاجفان العلوية والسفلية السد الواقي لكرة العين من الجهة الامامية تتألف من:

أ. جلد الجفن :

يختلف الجلد الذي يغطي الاجفان عن جلد الجسم بكونه أقل سمكاً، مرناً واختفاء الدهن من طبقة الادمة.

ب. حافة الجفن Eye lid margins

توجد في حافة الجفن الاهداب cilia وهو شعر قصير قوي مائل إلى الخارج تحتوي جذورها على غدد دهنية تدعى غدة زايز Zeis gland وغدد عرقية في حافة الاهداب تدعى غدة مول Moll gland بحيث تفتح قنوات الاخيرة في جذور الاهداب أو في غدة زايز الدهنية وليس إلى الخارج مباشرة كغدد العرقية،

وإن لشكل الاجفان الامامي الدائري والخلفي الحاد الزاوية دور في توزيع الافرازات الدمعية والدهنية بصورة جيدة على القرنية Khuran and Indu, 2006.

1.3.1.2 **وظائف الأجفان** :

تمتلك الجفون وسائل آلية لطرد الاجسام الغربية عنها منها الاهداب فضلاً عن الافرازات الدمعية التي تقوم بطرد وإزالة المواد الغريبة وعدم دخولها إلى العين.

كما ان لجلد الجفون وسائل دفاعية من خلال افرازاته التي لها تأثير ضد الاحياء المجهرية الممرضة لوجود غدة دهنية فارزة لحامض اللاكتيك Lactic acid والاحماض الذهنية fatty acid المثبطة لتضاعف البكتريا بسبب انخفاض pH .

أيضاً حركة الاجفان المستمرة تعمل على نشر الدمع على سطح الملتحمة والقرنية كما إن وجود النبت الطبيعي في الاجفان يعمل على مزاحمة الاحياء الممرضة ليجنب تكوّن المستعمرات المايكروبية الممرضة.fredrickson, 1969

2.2 **الجهاز الدمعي** The Lacrimal apparatus :

يتألف الجهاز الدمعي لكل عين من مكونات افرازية Secrotory components ومكونات افراغية Excrotory componea (Renu, 2009) وهي :

1. المكونات الافرازية.

مسؤولة عن انتاج وتكوين الدمع وتتكون من:

أ . الغدد الدمعية

ب . الغدد الدمعية المساعدة أو الاضافية.

2.المكونات الافراغية الناقلة

مسؤولة عن جمع وتصريف الدمع وتتكون من المركبات التالية:

أ. القنية الدمعية العلوية والسفلية Lacrimal canaliculi

ب. الكيس الدمعي Lacrimal duct

ج. الثقب الدمعي Lacrimal puncta

1.2.2 **الغدد الدمعية** :

تقع الغدد الدمعية في الخسفة الموجودة في سطح المحجر. يمكن مشاهدة الغدة الدمعية في الجزء الخارجي لقبو الملتحمة بعد رفع الجفن العلوي إلى الخارج والأعلى.

إن الوظيفة الرئيسية للغدد الدمعية هو افراز الطبقة المائية للسائل الدمعي تتألف الغدد الدمعية من ثلاث خلايا رئيسة مسؤولة عن انتاج المركبات الضرورية في تغذية وحماية الاسطح البصرية وهي خلايا طلائية epithelial، قنوية ductal وعنبية acinar .الخلايا العنبية مسؤولية عن انتاج المركبات البروتينة اللاكتوفيرين Lactoferrin، الانزيم الحال Lysozyme و Lipocalin(Tiffany, 2008).

أما الكلوبين المناعي صنف A فينتج من قبل الخلايا البلازمية لينقل إلى الخلايا القنوية والعنبية، لتفرز من قبل الخلايا الطلائية Ziexhut *et al*., 2002. هناك انواع اخرى من الخلايا المناعية في الغدد الدمعية مثل خلايا (البائية والتائية), اللمفاوية والخلايا البلعمية والخلايا البدنية mast cell .

2.2.2 **الغدد الدمعية الاضافية** :

وهي غدد صغيرة جداً مشابهة في تركيبها النسيجي للغدد الدمعية وان حوالي 10% من كتلة الإفرازات الدمعية تكون عن طريق هذه الغدد Renu, 2009 .

وهي نوعان:

أ. غدد كروز Gland of Krous

توجد حولي 20 منها في الجفن العلوي upper lid ، و8 في الجفن السفلي Lower lid

ب. غدة ولفرنك Gland of Wolfring

توجد في الملتحمة واللحمية uirancle وقرب الصفيحة الغضروفيةTarsal plate .

جدول (2-1) أنواع الغدد في العين ومواقعها ونوع الافراز

الغدد Gland	الموقع Location	نوع الافراز Secration	المحتويات Contents
الغدد الدمعية	Orbital gland	افراز خارجي Exocrin	مائي Aqueous

الغدد الدمعية الاضافية	Palpebral gland	افراز خارجي Exocrin	مائي Aqueous
غدد كروز	الجفون	افراز خارجي Exocrin	مائي Aqueous
غدد ولفرنك	الجفون	افراز خارجي Exocrin	مائي Aqueous
مايبومين	الصفيحة الغضروفية	افراز تجويف Holocrinc	دهني oily
زايز	الاهداب، الجفون، اللحمية	افراز تجويف Holocrinc	دهني oily
مول	الجفون	Eccrine	عرقية sweat
خلايا كاسية	الجفون	Holocrin	مخاطي mucous

(Khuran and Indu, 2006)

3.2.2 **السائل الدمعي** :

يفرز من الغدد الدمعية، وهو سائل معتدل القاعدية ويتكون بصورة رئيسة من الماء، أملاح مثل كلوريد الصوديوم ، سكر، يوريا، بروتينات، وانزيمات قاتلة للبكتريا bactericidal enzyme.(Renu, 2009).

يمتاز بكونه سائل صاف إلا أنه يصبح معتماً أو ذا رغوة بسبب الافرازات الدهنية من غدد مايبوميان، وزايز والافرازات المخاطية من غدد الملتحمة.

هناك ثلاثة انواع من الدموع والتي تختلف في نسب تواجد بعض المركبات الضرورية وهي:

أ.الدموع الاساسية Basictesrs :

تفرز بصورة مستمرة للحفاظ على الاسطح البصرية وترطيبها وتغذيتها بمعدل 0.57–1 غرام في 24 ساعة، وتحتوي على العديد من المركبات المناعية.

ب. الدموع الانعكاسية Reflertesrs

تفرز من التحسس لجسم غريب عند دخوله العين أو لروائح ومواد كيميائية قوية وتكون فيها كلونينات المناعية من صنف E و M أعلى مما في الدموع الاساسية.

ج. الدموع النفسية psychicears

تنتج عندما تتحفز الغدد الدمعية لمشاعر قوية(فرح، حزن) وتحتوي على هرمونات وبروتينات بنسب أعلى مما موجود في الدموع (الاساسية والانعكاسية) مثل هرمون Adrenocorticotropic و بروﻻكتين Prolactin و ليوسين Leucine .

1.3.2.2 **تركيب السائل الدمعي** Structure of tear film :

يعد العالم ولوف wolff عام (1946) أول من وصف بصورة دقيقة وتفصيلية السائل الدمعي Khurana and Indu, 2006. **إذ يتألف من ثلاث طبقات سمكها حوالي (5–8) مايكروميتر وهي:**

1. الطبقة الدهنية Lipid Layer.
2. الطبقة المائية Aqueous Layer
3. الطبقة المخاطية فوق القرنية مباشرة Mucus Layer

جدول (2-2):وظائف والمركبات الفارزة لكل من الطبقات الثلاث

الطبقة	المحتويات Contener (s)	المركبات الفارزة Secretors	الوظائف Function
الطبقة الدهنية	دهون مثل Phosphlipids	غدد: 1.مايبوميان 2. زايز	1. تغطي الطبقة المائية فتقلل من تبخرها. 2. تجنب تدفق الدموع على الخد. 3. تمنع الاستقرارية بزيادة الشد السطحي للدمع.
الطبقة المائية	ماء، بروتينات مثل [اللاكتوفيرين الانزيم الحال،حركيات الخلوية وكلوبين مناعي صنف (أ)	غدد: دمعية كروز ولفرنك	1. تحفز على انتشار الدمع. 2. تنظيم ضغط العين. 3. السيطرة على الاصابات من خلال حماية الاسطح البصرية لاحتوائها مركبات مناعية.
الطبقة المخاطية	مخاط	خلايا كأسية للملتحمة غدد مانيز	1. ترطيب وتزييت الاسطح البصرية

(Alastair and Philip, 2009; Kanski, 2011)

2.3.2.2 **المركبات الكيمياوية للسائل الدمعي** :

Chemical compositions of tear film

يعد الدمع من العوامل المهمة في المناعة الذاتية. لما تحتويه من مركبات كيميائية مهمة ضد الاخماج المختلفة. حيث تتشابه مكوناته مع ما موجود في بلازما الدم ولكن بنسب أقل فأن نسبة الماء فيه 98.2% ، أما البروتينات بنسب قليلة جداً نحو 0.6–2 ملغم / 100 مللتر، وعلى الرغم من قلة البروتينات إلا أنها كافية لتقليل الشد

السطحي وترطيب الخلايا السطحية مكونة طبقة حقيقة فوق القرنية تمنع الانعكاسات غير المنتظمة للقرنية. يوجد ما يقارب 500 نوع من البروتينات بتراكيز قليلة جداً. بإستثناء اربعة انواع توجد بتراكيز عالية في الدمع وهي:
الانزيم الحال، اللاكتوفيرين، Lipocalin، والكلوبين المناعي الافرازي صنف (A) الذي يستمر افرازه حتى اثناء النوم Zierhut *et al*., 2002.

وتعتير المركبات الانزيمية الثلاثة الاولى على التوالي من المركبات المناعية الذاتية الغير المتخصصة، إلا أن الكلوبين المناعي صنف (A) من المركبات المناعية المكتسبة المتخصصة Tiffany, 2008.

وان تركيز الانزيم الحال في الدمع المنعكس أعلى مما هو عليه في الدمع الطبيعي وبنسبة 22.9%:17.9% على التوالي . إن تركيز الاسس الهيدروجيني pH للدموع يقارب 7.14-7.82 أي يميل إلى القاعدية ليعمل على معادلة المواد السمية Mannis and Smolin, 1996 .كذلك يتضمن الاحماض الامينية والدهون وأنزيم Collagenase الذي يعمل على تحليل مركز collagen اثناء حدوث تقرح القرنية نتيجة الخمج.

3.3.2.2 **وظائف السائل الدمعي الدفاعية** :

تدفق الدمع المستمر على الاسطح البصرية الامامية يعمل على منع التصاق الاحياء المجهرية المهاجمة لينقلها إلى تركيبات الافراغية في الجهاز الدمعي.

وتوجد مادة mucin في الطبقة المخاطية تساعد على اقتناص المواد الغريبة إذ اشار كلاً من Butrus and Klotz, 1986 إن لمادة المخاط تأثير على منع التصاق كلاً من خميرة *Candida spp*. والاحياء المجهرية بالعدسات اللاصقة.

يحتوي السائل الدمعي على العديد من المركبات المناعية ذات الوظائف المختلفة مما جعل من السائل الدمعي أهم التركيبات المناعية الذاتية حيث يعمل على نقل هذه التركيبات إلى الاسطح البصرية ليجنبها الخمج Mannis and Smolin, 1996. فمركب اللاكتوفيرين يعمل على كبح نمو الاحياء المجهرية المختلفة Bacteriostatic ، أما الانزيم الحال يؤثر على جدار الخلية البكترية المهاجمة الموجبة لصبغة كرام ، بينما يحلل انزيم B-Lysin المكونات الخلوية للاحياء المجهرية المقاومة لعمل الانزيم الحال من خلال استهداف غشاء الخلية الميكروبية. وبسبب احتواء الدمع على العديد من الكلوبيولينات المناعية Immunoglobulins المختلفة من صنف (A,G,E,M) فقد تعزز القابلية المناعية ضد الاخماج المختلفة من الاحياء المجهرية.

إذ يوجد الكلوبيولين المناعي صنف (A) بتراكيز عالية في الدمع أكثر مما في بلازما الدم إذ يعمل على الارتباط بالبكتريا مجنباً إلتصاقها بالطبقة الطلائية للقرنية ، أما صنف (IgG) فأنه يعمل على معادلة بعض الفايروسات ويترابط بالبكتريا لهذا السبب يلعب دوراً في دفاعات القرنية ضد الاخماج.

4.3.2.2 **آلية تجميع وتصريف الدمع** :

يفرز الدمع من الغدد الدمعية ليطرح عن طريق القنوات الدمعية الموجودة في الجهة الخارجية العليا وقسم منها في الجهة الخارجية السفلى لجيب الملتحمة وبحركة الاجفان يتوزع الدمع ليغسل وينظف القرنية والملتحمة.ويتجمع الدمع في الجهة الداخلية السفلى لجيب الملتحمة الاسفل في منطقة تدعى بجيب الدمع الموجود حول حليمة الملتحمة . لا يتسرب الدمع خارج حافة الاجفان بسبب الافرازات الدهنية. وأن تصريف الدمع يتم بثلاثة طرق فيزياوية يساعد بعضها البعض الآخر وهي:

1. طريقة السحب الشعيري
2. التخلخل الضغطي.
3. الجاذبية الارضية.

ان اشتراك هذه الطرق الثلاثة يساعد على تصريف الدمع بسهولة.

3.2 **النبيت الطبيعي في العين** Eye Normal Flora :

يستوطن النبيت الطبيعي العين منذ الولادة ويستمر طيلة فترة حياة الإنسان وفي بعض الاحيان تكون الملتحمة خالية من النبيت الطبيعي Sterile إلا أن الغالبية يحملون هذه الجراثيم بصورة طبيعية Brinser and Burd, 1986. ان أكثر الجراثيم انتشاراً العنقودية البشروية *Staphlococcus epidermidis*، وبكتريا *Lactobacillus spp*. وأحياناً توجد بكتريا لاهوائية anaerobic bacteria مثل *proplonibacterium* ، أما العنقودية الذهبية *Seaphylococcus aureus* فتوجد بنسبة 30%، تليها جراثيم *Haemophilus influenza* بنسبة 0.4-25%.

يوجد كل من الانواع البكترية التالية باعداد قليلة جداً مثل *Moroxella catarrhalis* وانواع من العائلة المعوية *Enterobacteriacceae* انواع من العقديات *Streptococcus* مثل العقدية القيحية *Streptococcus pyogens* والعقدية الرئوية *Streptococeus pneumoniae*. كذلك العقديات المسببة لتحلل الدم نوع الفا– وكاما Alpha and gamma-homolyticforms (Betty *et al*., 2007)

بينت بعض الدراسات الفطريات تكون جزءا من النبيت الطبيعي في العين1968 ,Rao and Rao. K, 1972; Willamson *et al*. . إلا أن هناك عدة عوامل تؤثر في نسب تواجد النبيت الطبيعي في البيئة البصرية منها العمر، العقاقير المثبطة للمناعة،استخدام العدسات اللاصقة، جفاف العين، والتهابات العمليات الجراحية للعيون، البيئة والمناخ، وكذلك النظافة العامة Rao and Rao.K.1972;Thiel and Schumacher, 1994; copriotti *et al*., 2009

اشارت بعض الدراسات أنه لا يوجد اختلاف في النبيت الطبيعي بين عيون الذكور والاناث، أو بين العين اليمنى أو اليسرى، وأيضاً لا يوجد تغاير موسمي سوى زيادة العقدية الرئوية في الربيع والصيف إلا ان هذه الزيادة غير معنوية Brinser and Burd, 1986.إن للنبيت الطبيعي دوراً مهماً في المحافظة على الاسطح البصرية من الاخماج فقد تنتج موادا كيمياوية مختلفة تحافظ على الاستقرار المتجانس للاسطح البصرية وأيضاً مزاحمة الممرضات على المغذيات المتوفرة بالعين،

Palmer, 2007;Cogen *et al*., 2008 .كما اثبتت بعض الدراسات العلمية انه يمكن للنبيت الطبيعي ان يساهم في اصلاح مناطق الجروح الامامية للاسطح البصرية، وكذلك المساعدة في عمل الجهاز المناعيMiller and Iovieno, 2009 .

تسبب هذه الاحياء الدقيقة في اخماج العين لذلك يمكن اعتبارها عوامل حماية من ناحية ومسببة للاخماج من ناحية أخرى Jesse and Joseph, 2010.

4.2 **العدسات اللاصقة** Contact lenses :

هي عبارة عن نظارة ملتصقة على العين إذ صممت لتستند على القرينة الصلبة وحسب نوع العدسة، بحيث تلتصق على السائل الدمعي الرقيق بصورة طبيعية، فأذا ما تحركت الاجفان بصورة طبيعية بعملية الرمش Blinking فأن مقداراً من هذا السائل الدمعي سوف يتحرك بين القرنية والعدسة اللاصقة فتستمر

عملية تغذية وترطيب سطح القرنية.يعد الفنان ليناردو دافينشي Lenardo Davinici(1508) أول من أوحى بفكرة العدسات اللاصقة ليس لتصحيح البصر وإنما لتعلم آلية تكيّف العينHeilz and Enoch, 1987 .وقد مرت العدسات اللاصقة بسلسلة من التطورات في صناعتها لجعلها أكثر راحة وأقل خطورة للمستخدم.

تستخدم العدسات اللاصقة في مجالات عدة منها الطبية، علاجية، تجميلية،أو حتى في مجال الابحاث او التشخيص Alastair and Philip, 2009.

إزداد استخدام العدسات اللاصقة في الوقت الحاضر بمدى واسع، ففي عام2004 قُدر عدد مستخدمي العدسات اللاصقة في العالم نحو 125 مليون شخص منهم 28-38 مليون في الولايات المتحدة الامريكية Barr, 2005 .

تم تقدير كلفة استخدام العدسات اللاصقة عام 2010 في العالم حوالي 601$ بيليون. ومنها 201$ في الولايات المتحدة ، وسوف تبلغ في عام 2015 تكلفة الاستخدام نحو 11.7$ بيليون Nichols and Jason,2001.أما معدل اعمار مستخدمي العدسات اللاصقة هو31 سنة وأن نحو ثلثي المستخدمين من النساء2001 ,Morgan *et al*. .

1.4.2 **أنوع العدسات اللاصقة** Type of contact Lenses :

صنفت العدسات اللاصقة بطرق عدة الى عدت انواع منها ما صنف على اساس الوظيفة، المادة الداخلة في صناعتها أو مدة استخدامها وكألاتي:

أ. الوظيفة

وتضم العدسات الطبية medical contact Lenses فقد تستخدم لتصحيح اخطاء البصر مثل قصر البصر Myopia أو معالجة نقص لون معين X-chrom Lens (Hartenbaum and stack, 1997).وهناك عدسات علاجية Theraputic C.L. تستخدم في علاج امراض عدة منها ما يدعى Bandage. C.L لحماية القرنية المتضررة من الاحتكاك الناتج من عملية الرمش للجفون. وأيضاً تستخدم في مجال الابحاث أو التشخيص مثل تشخيص بعض امراض العيون كمحفزات داء الزرقاء ارتفاع ضغط العين الطفولي (Glacoma).

أما العدسات اللاصقة المستخدمة لاغراض التجميل فهي الاكثر استخداماً، ففي احصائية لعام 2004 وجد نحو 3% من الانواع المستخدمة في العالم يعود لهذا النوع Morgan *et al*., 2005.

ب . المادة الداخلة في صناعة العدسات اللاصقة

تصنع جميع انواع العدسات اللاصقة من مادة بوليمير Polymer إلا أن إضافة مواد أخرى لهذه المادة هو ما يحدد نوع العدسة وتشمل:

1. العدسات اللينة Soft contact Lenes

تصنع من مادة بلاستيكية تمتاز بالنعومة والمطاطية مثل مادة Hydroxythel methacryate(HEMA) وتضاف اليها مواد أخرى. تمتاز بامكانية امتصاص اكبر كمية من الماء عادة ما يتراوح المحتوى المائي لها 30–80% .

أما عيونها لا تستخدم عادة لتصحيح اللابؤرية الاستكماتزم، ومنها ما يستخدم للاستعمال اليومي daily wear (D.W) او المستمر Extended wear (E.W).

2. العدسات الصلبة Rigid or Hard C.L

تصنع من مادة بلاستيكية برسبكس Perspex ،تمتاز بأعطائها رؤية واضحة وتستعمل لعدة سنوات، عيوبها اقل الانواع راحة للعين لعدم سماحها بنفاذية الاوكسجين من خلالها للقرنية،اهم انواعهاRigidgas-permeableL (RGP) اذ تعتبر جيل جديد من هذا النوع من العدسات اكثر راحة عند استخدامها لسماحها بنفاذ الاوكسجين .

2.4.2 مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة

Contact lenses complication

يتعرض نحو5% من مستخدمي العدسات اللاصقة اللينة سنوياً إلى احدى مضاعفات العدسات وان لاستخدام العدسات اللاصقة الصلبة (R.C. L) لفترات طويلة مضاعفات أيضاً، إذ يمكـن ان يؤثر على وظائف القرنية وليس على شفافيتها Khuran and Indu, 2006. وقد يؤدي إلى قلة كثافة خلايا القرنية وزيادة خلايا الانكرهانز الطلائية Epithelial Langorhans cell (Zhivov *et al.*,2007).

أما اغلب مضاعفات الاصابة بلعدسات ترافق استخدام العدسات اللاصقة اللينة الممتدة الاستعمال (E.w.) واحياناً اللينة ذات الاستعمال الواحد Disposibal. S. C. L حيث تلعب المادة التي تدخل في صناعة العدسات دوراً مهماً في ظهور أحد المضاعفات.

هناك عدة عوامل تزيد من ظهور مضاعفات الاصابة بلعدسات اللاصقة منها ما يتعلق بقلة أو عدم الامثال للظروف الصحية hygienic condition ،او عوامل مرتبطة بالاشخاص أنفسهم مثل الاصابة بأحدى امراض العيون المثبطة لكفاءة الجهاز المناعي، أو عوامل مرتبطة ببيئة المستخدم من ارتفاع درجات الحرارة والرطوبة وغيرها Stephen *et al*,. 2005 .

إن ارتداء العدسات اللاصقة اكثر من الوقت المحدد لها او المبالغ فيه يؤدي إلى مضاعفات تتراوح من بسيطة كالشعور بألم واحمرار العين نتيجة الوزن الاضافي للعدسة اللاصقة على القرنية إلى خطرة تؤثر على طبقات القرنية المختلفة (نسيج المادة المصاحبة للقرنية Stroma) ،أونسيج الطبقة الطلائية الداخلية الناتج من اختزال العدسة اللاصقة لكمية الاوكسجين الجوي الممتص من قبل القرنية عن طريق السائل الدمعي والضروري لعملية التمثيل الغذائي فتزداد الحامضية Acidosis لزيادة مستوى حامض اللاكتيت Lactate إلىالضعف John, 2004; Khuran and Indu, 2006 . وإن من المضاعفات الشائعة الظهور عند مستخدمي العدسات اللاصقة هو جفاف العين Dry eye حيث تعمل العدسة على زيادة تبخر السائل الدمعي وبالتالي يقل سمك السائل الدمعي فيزداد الضغط الازموزي ويزداد الشعور بعدم الراحة Nichols and sinnott, 2006 .

أظهرت احصائية في سنغافورا إن نحو نصف الـ(35مليون) من مستخدمي العدسات اللاصقة يعانون من اعراض جفاف العين وعدم الراحة اثناء لبس العدسات اللاصقة Fonn, 2007. يؤدي التفاعل الحاصل بين مواد العدسات اللاصقة وبعض محاليل المنظفات والمعقمات للعدسات اللاصقة قد يؤدي إلى حكة في العين ناتجة من تفاعلات الحساسية . ان ترسب بروتينات للسائل الدمعي على أو داخل مواد العدسات اللاصقة خلال ساعات قليلة من ارتداء العدسات يؤدي إلى زيادة الافرازات المخاطية وحكة واحمراء وهي اعراض لمرض Contact lens-associted papillary conjunctivitis (CLPC) Skotnitsky *et al*., 2002; Kanski, 2011 .

يؤثر احيانا استخدام العدسات اللاصقة على الجفون مسببة استرخاء الجفن العلوي، أما خدش القرنية corneal abrasion فهو من اكثر مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة شيوعاً والناتجة عن المبالغة في استخدام العدسات اللاصقة، او من دخول جسم غريب فوق القرنية تحت العدسة اللاصقة، أو حتى من عدم ثبات العدسة اللاصقة بصورة جيدة على القرنية .

عادةً ما تشفى الخدوش تلقائياً إلا أن تطورها يؤدي إلى التهابات خطيرة تؤدي لفقدان البصر لتطور الاصابة إلى تقرح القرنية أو التهاب القرنية الجرثومي الناتج من تلوث العدسات بالميكروبات المختلفة بكتريا، فطريات، طفليات مؤدية إلى تلوث القرنية المتضررة بالاحياء المجهرية الممرضة.

إذ يحتاج علاجها اغلب الاحيان إلى دخول المريض المستشفى أو إجراء عملية جراحية لزراعة القرنية لإعادة النظر المفقود بسبب الاصابةAlastair and Philip, 2009 .

1.2.4.2**التهاب القرنية المايكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة** : Microbial Keratitis associated contact lenses wear

يعد التهاب القرنية المايكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة من أخطر المضاعفات المرافقة لاستخدام العدسات اللاصقة المدمرة للبصر عند حدوث الاصابة. التهاب القرنية الميكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ينتج عادة من تلوث العدسات اللاصقة بالميكروبات المختلفة اذ تعد العدسات اللاصقة العامل المساعد لنقل الاحياء المجهرية المتعايشة في حافة الجفن الملتحمة وكذلك الممرضة منها على الالتصاق ومن ثم الانتقال إلى الاسطح البصرية، فقد وجد بأن نحو 10% من العدسات اللاصقة تعتبر ملجأ للبكتريا السالبة والممرضات الاخرى، ففي دراسة اجريت في اسكتلندا وجد نحو 81% من العدسات اللاصقة التجميلية ملوثة بمختلف انواع المايكروبات Yi-chiao *et al*., 2006; Szctka *et al*., 2010

وإن أهم المسببات المايكروبية لالتهاب القرنية المكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة الملوثة قد تكون ناتجة عن الاصابة البكترية أو الفطرية أو طفليات وكما يلي:

1.1.2.4.2 **التهاب القرنية البكتيري** :

Bacterial Keratitis associated contact lenses Wear :

يبدأ التهاب القرنية البكتيري بالتصاق الخلايا البكترية الملتصقة على العدسات اللاصقة بالانسجة المحطمة لطبقة الخلايا الطلائية الخارجية والـ(Stroma) خصوصاً بعد تحطمها او تعرضها للضرر بفعل عوامل مختلفة التي من أهمها التعرض لضربة أو خدش ، اذ تقوم البكتريا الملتصقة بالعدسة اللاصقة بالدخول لهذه الانسجة وافراز السموم والانزيمات لتساعدها على استعمار الخلايا اذ يلاحظ في هذه المرحلة وجود كريات الدم البيض العدلة (Neutrophil) باعداد كبيرة في منطقة الاصابة الميكروبية بمراحلها المبكرة والتي تصل اليها عن طريق الدمع وعادة ماتحفز خلال ساعات قليلة كأستجابة مناعية للاصابة الميكروبية . فتصبح هذه الانسجة رقيقة ورخوة فضلاً عن ظهور اعراض الاصابة في القرنية وأن هذا الالتهاب قد يتطور سريعاً مسبباً تقرح القرنية مع احتمالية كبيرة لفقدان البصر بسبب قدرة بعض الانواع البكتيرية مثل *Pseudomonas aeruginosa* أو *Staphylococcus aureus* على احداث ثقب كبير في القرنية في اقل من 24 ساعة من الاصابة Ostler, 1993 .

تختلف شدة التقرح من حالة إلى أخرى اعتماداً على مكانه وحجمه وعمقه وبالتالي مدى تأثيره على الرؤيا Burd,1994 شكل (2-2).

وإن أهم المسببات البكتيرية وأكثرها شيوعاً هي:

Pseudomonas aeruginosa, Streptococcu spp, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis وأقلها *Bacillus.spp*، البكتريا المعوية *Enterobacteria*، أما *Haemopillus influenza* و *Neisseria gonrrhaeae* فتستطيع اختراق الطبقة الطلائية حتى وان كانت سليمة Kanski, 2011.

فقد وجد في بعض الدراسات ان بكتريا *staphylococcus aureus* هي المسبب الرئيسي لأحداث التهاب القرنية البكتيري لامتلاكها عوامل ضراوه منها collagen binding protein وانتاج طبقة مخاطية لاصقة، اما انتاجها لسم الفا Alpha toxin فيتعبر من العوامل المهمة لاحداث التهاب القرنية البكتيري. يعمل على تدمير خلايا المضيف. إن لهذه البكتريا القابلية على الارتباط بالمركب الرئيسي للقرنية كولاجين لذلك تعتبر اكثر ضراوة من السلالات غير المنتجة له. كما ويعد انتاج أنزيم التجلط Coagulase من العوامل الرئيسة التي تتميز بها *Staphylococcus aureus* وعلى الرغم من ان معظم العوامل المرضية سموم، محفظة و انزيمات تكونها العنقوديات المنتجة لانزيم Coagulase إلا أن الانواع الغير منتجة لهذا الانزيم ربما تنتج عوامل فعالة بايولوجيا كالمحفظة المقاومة لعملية البلعمة (Marcus *et al*., 2000 ; AL-yousuf ,2009)

Antiphagocytic capsule فضلاً عن امتلاكها بروتينات في أسطح الخلايا مثل بروتين (A) Fibronectin (Protein – A) والتي تعتبر من عوامل الضراوة المهمة المساعدة في التصاق البكتريا المنتجة لها بأسطح خلايا المضيف واستعمارها مثل *Staphylococcus epidermidis*.

أما في دراسة أخرى فقد وجد أن الانواع البكتيرية الاكثر شيوعاً والمعزولة من مرضى المصابين بالتهاب القرنية البكتيري المرافقة لاستخدام العدسات اللاصقة هي بكتريا *Psedumonas aeruginesa* والتي تعتبر من الممرضات الانتهازية في الإنسان Palleroni,2008 لأمتلاكها العديد من عوامل الضراوة مثل السموم الخارجية ExotoxinA والانزيمات خارج خلوية Exoenzyme وعديد السكريد الشحميLipopolysaccharide (LPS) والاهداب والاسواط Flagella، كذلك سموم داخلية Endotoxin تساهم جميعها في احداث الاصابة wagner *et al*., 2008 ،

وجد بأن تأثير السموم لهذه البكتريا ولاسيما السموم الخارجية Exotoxin A على القرنية تأثير سام وأن هذا السم يفوق تأثير السم الداخلي عند حقنه في قرنيات

الارانب wagner *et al.*, 2008 ،كذلك وجود الانزيم الحال للانسجة المرنة Elastase وهو نوع من protease يمتاز بقابلية على تدمير كولاجين خلايا القرنية مسبباً تقرح أثناء الاصابة بهذه البكتريا Nasar *et al.*, 1993 .

بينت العديد من الدراسات ان لهذه البكتريا القابلية على الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي Biofilm على مختلف الاسطح الحية وغير الحية ولاسيما العدسات اللاصقة من خلال انتاجها للطبقة اللاصقة وتلويثها لمحاليل حفظ العدسات ومحاليل فحص القرنية مثل الفلورسين وحتى القطرات المستخدمة للعلاج

.Micallef and Cuschieri, 2001; Touhami *et al* ., 2006

بالنسبة للمسببات الاقل عزلاً وشيوعاً في التهاب القرنية البكتيري المرافق لاستخدام العدسات مثل.*Bacillus Spp* فتمتاز بقابلية انتاج سموم وانزيمات حالة للبروتينات وسم الهيمولايسين.

اما بكتريا *Streptococcus* من نوع *Strep.viridans* لها القابلية على احداث اصابات العين المختلفة منها الاستعمار على طبقة Stroma إلا أنها تمتلك عوامل ضراوة اقل من *Strp. Pneumonia* اذ لها القابلية على انتاج عوامل ضراوة مختلفة منها Hemolysin-O يساعد على اختراق الانسجة وكذلك انتاجها للمحفظة التي تثبط عملية البلعمة Betty *et al.*, 2007.

أما النوع *Sterp. Pyogenes* من المسببات المهمة لالتهابات العين حيث تمتلك العديد من عوامل الضراوة منها انتاج بروتين F المساعدة على الالتصاق بالخلايا الطلائية وبروتين M المساعد على تدمير أنسجة المضيف.

شكل (2-2)عين مريض مصاب بالتهاب القرنية البكتيري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة (مأخوذة لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم)

2.1.2.4.2 **التهاب القرنية الفطري** Fungal Keratitis (F.K) :

على الرغم من اصابات العيون (بصورة عامة) وأصابة القرنية خصوصاً غالباً ما يكون سببها الشائع بكتريا أو فيروسات. ألا أن الاصابة بالفطريات تؤدي إلى نتائج وخيمة ولاسيما عند إرتباطها مع الاصابات البكتيرية إذ تؤدي إلى العمى.
Thomas, 2003; Margolis and Whitcher, 2006 إذ يعتبر التهاب القرنية الفطري من أكثر أنواع التهاب القرنية البكتيري تحدياً للأطباء عند التشخيص والمعالجة .Uno, 2008

إن استخدام العدسات اللاصقة والضرر الميكانيكي من العوامل الرئيسة التي تزيد تلقائياً من الاصابة بالتهاب القرنية الفطري ، فقد وجد في دراسة اجريت قبل 2005 إن نسبة 40% من الإصابة بالتهاب القرنية الفطري ناتج من العدسات اللاصقة و51% بعد التعرض لضربة، أما بعد سنة 2005 فقد لوحظ ان 52% ناتج من استخدام العدسات اللاصقة و 29% من التعرض لضربة Lyer *et al*., 2006.

ومن العوامل الاخرى التي تزيد من قابلية الإصابة بالتهاب القرنية الفطري بصورة عامة هو استخدام القطرات المطهرة للعين اثناء استخدام العدسات اللاصقة وكذلك جفاف العين والتعرض لضربة مثل LASIK او استخدام العقارات المثبطة للمناعة Alfonso *et al*., 2006; Nuo, 2008 ; Alastiar and Philip, 2009 ،

وان للظروف البيئية نصيب في تحديد قابلية الاصابة بالتهاب القرنية الفطري ففي بعض المناطق المعتدلة temperate climatic عادة ما تكون نادرة، إلا أنها السبب الرئيسي لفقدان البصر في المناطق الاستوائية tropical climatic وذات الرطوبة إذ تصل إلى 50% من مجموع الاصابات الفطرية للعيون .

إن للأعراض السريرية clinical symptoms اهمية في تشخيص نوع الفطر المسبب للاصابة والتي تختلف باختلاف المسبب الفطري لتساعد في اعتماد العلاج المستخدم، فاذا كان المسبب فطريات خيطية يلاحظ راشح أخضر إلى أصفر بطبقة الـ(strom) ووجود تقيح في الحجرة الامامية hypopyon ،

اما عند الاصابة بخمائر *Candida* فيلاحظ راشح أصفر إلى ابيض وتقيح كثيف Denes suppuration(Kanski, 2011).وهناك نوعين من الفطريات المسببة لتهاب القرنية الفطري والشائعة في مرضى مستخدمي العدسات اللاصقة هما:

الفطريات الخيطية Filamentous أو mold عفنيات وخصوصا جنس *Aspergullis spp.* او جنس *Fusarium spp.* ، و الخمائر الشبيهة بالفطريات yeast وأهمها جنس*Candida spp.* (Ajayi *et al.*,1986; Lyen *et al.*2006).

لاحظ uno,2008 إن جنس *Candida spp.* هو المسبب الرئيسي والشائع في التهاب القرنية الفطري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة والتي يوجد عاده بصورة طبيعية في الأسطح البصرية ويمتاز بفاعليته على انتاج خيوط hyphae أوخيوط كاذبة وتكثر عادة في المناطق المعتدلة Betty *et al.*, 2007، اما نوع *C. albicans* فان قدرته على الاصابة ناتجة من قابليته على الالتصاق بالانسجة الطلائية بواسطة الخيوط وكذلك انتاج انزيم الـ(protease) بانواعه الثلاثة التي تلعب دوراً مميزاً في احداث الاصابة، إن لشحنة سطح جدار هذا الفطرhydrophopic دوراً وثيقاً وقوياً في المساعدة على الالتصاق بالاسطح المختلفه، لذلك يكون الغشاء الحيوي الناتج من هذا النوع قوياً وثابتاً على التواجد بشكل الخمائر والخيوط.

اما فطر *C. parapsilosis* فيختلف عن *C. albicans* كونه ليس ممرضا اجباريا، إلا أنه يمتلك عوامل ضراوة تمكنه من إحداث الإصابة واستعمار خلايا المضيف،و نسبة عزله من مرضى التهاب القرنية الفطري تكون عادة اقل من *C. albicans* .

ان جنس *Fusarium spp.* و*Aspergullis spp.* هي الأعلى نسبة عزل من مرضى مستخدمي العدسات اللاصقة,يليها جنس *Candida spp.* Lyer *et al.*,2006. ينتج جنس *Aspergullis spp.* سموما عديدة أهمها نوع الفا alphatoxin وكذلك إنتاج الخيوط المساعدة على الالتصاق بأسطح المواد المختلف.

يُعد جنس *Fusarium spp.* من العفنيات التي تستطيع غزو كلاً من العدسة والقزحية والقرنية مباشره لامتلاكها عوامل ضراوة تمكنها من ذلك، حيث تكثر في المناطق الاستوائية Donnio *et al.*,2007.

3.1.2.1.2 **التهاب القرنية الاميبي** Amebic Keralitis (A.K) :

تعد اصابة العين بالطفيليات من الاصابات المضعفة والمدمرة للقرنية والمؤدية إلى العمى في اغلب الاحيان Awwad *et al.*, 2007; Hammermith, 2006 .

يعد التهاب القرنية الاميبي من الانواع النادرة الحصول اذ بلغت نسبة الاصابة في اوكرانيا عام 1996 نحو0.14% لكل مليون شخص Alastair and Philip, 2009 . الا انه في السنوات الاخيره ازدادت الاصابة بالتهاب القرنية الاميبي بنسبة 80% من اعداد مستخدمي العدسات اللاصقة المتزايد Kosik-Bogacka *et al.*, 2010 .

يعد استخدام العدسات الاصقة بكافه انواعها وخاصه التجميليه cosmatic العامل الرئيسي لاحداث الاصابه بالتهاب القرنية الاميبي Agia *et al.*, 2005 لما توفره من بيئة مجهدة للقرنية من خلال اختزالها كمية الاوكسجين الممتص hypoxia كما تؤثر على المكونات المناعية المختلفة للسائل الدمعي المساهمة في اختزال نسبة الاصابة بالطفيليات ومن أهم هذه المكونات Anit-Acanthamoeba immunoglobulin A, IgA .

وهناك مركبات أخرى غير معتمدة على IgA تساعد على اختزال الاصابة بالتهاب القرنية الاميبي إلا أن استخدام العدسات تغير من فعالية هذه المركبات
. Niederkon *et al*., 2002; Helen *et al*, 2008; Zhiyi *et al*., 2008

من العوامل الاخرى التي تزيد من معدل الإصابة عند مستخدمي العدسات اللاصقة هو قلة الامتثال للشروط الصحية فيما يتعلق بكيفية تنظيفها ومحاليل حفظها كاستخدام مياه الحنفية أو مصادر مياه أخرى بدل من محاليل التنظيف والتعقيم أوالسباحة في البرك أو الاستحمام اثناء لبس العدسات اللاصقة Lindsay *et al*., 2007; Alastiar and Philip, 2009

يعتبر جنس*Aconthamaeba spp.* من اكثر الطفيليات عزلاً من مرضى التهاب القرنية الاميبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة. يتواجد هذا الطفيلي في بيئات مختلفة ومتنوعة وباعداد غزيرة اذ تم عزله من التربة، الماء، الغبار،كذلك برك السباحة ومن المياه المالحة أيضاً وغيرها من البيئات القاسية حتى تلك التي تتوافر بها العناصر المناعية الفعالةJosline and McMahon, 2006، وذلك لامتلاكه العديد من عوامل الضراوة التي تمكنه من مقاومة الظروف القاسية منها تركيب جداره وقابليته على الالتصاق بالاسطح ودخوله طور التكيس cysts إذ يمر هذا الطفلي في دورة حياتة بمرحلتين هما:

1. طور الخضري Trophozite :

يتواجد هذا الطور في البيئات الملائمة ذات الظروف الطبيعية ويمتاز بنواته الكبيرة طوله نحو 10–25 مايكرومتر وقطره نحو 8–12 مايكرومتر. يتغذى هذا الطور طبيعياً على بعض انواع البكتريا او الخمائر مثل *Pseudomonas paucimobilis* و *E. coil* التي تحفز نمو الطفيلي عند التواجد معه في نفس البيئة Gray *et al*., 1995 . كما اشارت العديد من الدراسات ان الاحياء المجهرية المتواجده بصوره متعايشه في جفون العين والملتحمة دورا في تعزيز الاصابة بالتهاب القرنية الاميبي Larkin *et al*.,1990 .

2. طور التكيس Cysts:

يتحول الطفيلي إلى هذا الطور عند وجوده في بيئات متطرفة مثل ارتفاع في درجات الحرارة العالية، pH متطرف، أو ضغط ازموزي عالي Hyper osmolatrity ،ويتكون جداره من مركبات تمكنه تحمل درجات Alastiar and Philip,2009 الانجماد أو التعرض لاشعاعات بجرع عالية مثل كاما، فوق البنفسجية.يعد هذا الجنس من اكثر الاجناس المهمة طبياً لأنها تتمكن من احداث اصابات خطرة ومميتة بفترات قصيرة ، منها قابليته على غزو الجهاز العصبي المركزي والجلد والعيون إلا أن اصابات القرنية عدت من أهمها وبائياً لأنها تؤدي إلى العمى في أغلب الاحيان Schaumberg *et al*, 1998 ، من أهم عوامل ضراوة هذا الطفيلي هو انتاجه بروتينات خارج خلوية protease المدمرة لطبقات القرنية، كذلك قابليته على تكوين الغشاء الحيوي عند الالتصاق بأسطح المواد المختلفة Anger and Laly, 2008 .

اثبتت بعض الدراسات امكانية تواجد هذا الطفيلي في اسطح العيون السليمة بصورة نبيت طبيعي إلا أنها تغزو الانسجة الطلائية عند تعرضها للضرر، يمكن عزل هذا الطفيلي من الاغشية المخاطية للأنف و البلعوم للاشخاص الاصحاء ومن المصابين بامراض الجهاز التنفسي العلوي1984 ,.Riverra *et al* .

إن الاصابة بجنس*Acanthamoeba spp.* وظهور اعراض المرض يمر بسلسلة متعاقبة تبدأ باستخدام العدسات اللاصقة الملوثة به Anisah *et al*., 2005، وبوجود عوامل المساعدة اخرى كالضربة أو خدش في القرنية يلتصق الطفيلي بخلايا الطبقة الطلائية للقرنية المتضررة، وسرعان ما يغزو طبقة بومان ليحللها ويدمر طبقة الـ(Stroma)من خلال انتاجه لثلاثة انواع مختلفة من الاحماض الامنية وهي Elastase, Cystcinase, protease المدمرة لمركب الكولاجين الاساسي لطبقة الـ (stroma) وايضا لمواد خارج خلوية فتظهر اعراض الاصابة بمرض Cytopathic effects (CPE)لقابلية انتشار الطفيلي السريع الى مواقع بصرية اخرى بفترات قصيرة جدا واحداث الاصابات داخل بصرية Intraocular infeetion لذا يتوجب التشخيص

السريع للاصابه وان تأخر التشخيص يبقى هو السبب الرئيس لتطور الاصابة بالتهاب القرنية الاميبي Clarke and Nieder,2006; Zhiyi *et al*., 2008

إلا أنه يبقى التشخيص و العلاج لالتهاب القرنية الاميبي يمتاز بالصعوبة في مراحله المبكرة لتشابه اعراضه مع اعراض انواع أخرى من التهاب القرنية الميكروبي المتسببة بفعل الفايروسات أوحتى الفطريات فيشخص كالتهاب القرنية الفيروسي Herpes simplex virus (HSV) إلا أن الألم الحاد واستخدام العدسات اللاصقة مع ملاحظة خسارة خلايا مركز القرنية اثناء الفحص، ووجود بقعة معتمة في طبقة stroma. مع نتائج الزرع للعينات المختلفة من العدسات ومحاليلها وكذلك عينات الانسجة المتضررة للقرنية cornea piopsy كلها تساعد في سرعة التشخيص الصحيح الذي يمكن ان يغير النتيجة المحتملة للاصابة وهي العمى Agia *et al*., 2005; Lindsay *et al*., 2007; Kosik-Bogacka *et al*., 2010

5.2 **قابلية الالتصاق الميكروبي على العدسات اللاصقة والعوامل المؤثرة في الالتصاق**:

Adhesion Microbial on contact lenses and Facters Effecting in adhesion

يمكن للميكروبات الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي على الاسطح الحية وغير الحية في البيئات المختلفة Hall-stoodly *et al*., 2004; Lear *et al*., 2012 .

يكون التصاق الميكروبات بالعدسات اللاصقة وتكوين الغشاء الحيوي يكون على السطح الداخلي للعدسة (الجزء المقعر) منها, مع عدم وجود ميكروبات ملتصقة على الأسطح الأمامية للعدسات اللاصقة لتأثرها بعملية غسل الدموع المتدفقة بصورة مستمرة وحركة الأجفان الميكانيكية لتولد الاحتكاك بين سطح العدسة الأمامي والميكروبات المتواجدة فتزال الميكروبات بسهولة من الأسطح الأمامية للعدسات اللاصقة.

إن الامتثال للشروط الصحية من العناية بالعدسات ونوع المحاليل المستخدمة لحفظ وتنظيف وتعقيم العدسات يختزل التصاق الميكروبات وتكوين الغشاء الحيوي على اسطح العدسات اللاصقة، لذلك يعد عملية تكوين الغشاء الحيوي عملية معقدة لاختلاف علامته وكذلك للعوامل الكثيرة المتداخلة في تكوين الغشاء الحيوي على العدسات اللاصقة Tam *et al*., 2010. اذ ان محاليل متعددة الاغراض تعقيم، تنظيف، وتطهير العدسات اللاصقة يعد محدود الفعالية ضد الالتصاق الميكروبي وتكوين الغشاء الحيوي وأنه غير قادر على اختزال الغشاء الحيوي الناضج المتكون في محاليل حفظ العدسات Morgan and Efron, 2006 ،وإن له تأثير سمي على أسطح الطبقة الطلائية للقرنية مغيراً من قابليته النفاذية للطبقة مما يعزز تكوين الغشاء الحيوي للمايكروبات وخاصة البكتريا Robertson *et al*, 2008 .

هناك عوامل اخرى مهمة تزيد من الالتصاق المكروبي و عملية تكوين الغشاء الحيوي للمايكروبات على العدسات اللاصقة منها نوع العدسة اللاصقة المستخدمة، خاصية كره الماء hydrophobcity لأسطح العدسات اللاصقة تزيد من نسب التصاق البكتريا بالعدسات من نوع المحب للماء hydrophilicity ، أما خصائص مادة البوليمر من محتوى مائي، water content والشحنة الايونية Ionicity للمادة الاساس الداخلة في صناعة العدسة اللاصقة وهي (HEMA) فأنها تؤثر بصورة مباشرة على التصاق البكتريا وتكوين الغشاء الحيويYoshifum *et al*., 2007; Debarun *et al*, 2012 .يلعب السائل الدمعي دوراً سلبياً بعملية الالتصاق وتكوين الغشاء الحيوي بالعدسات اللاصقة واستخدامها ، إذ بروتيناته تترسب خلال ساعات قليلة من ارتداء العدسات اللاصقة على أو داخل مواد العدسة Jones *et al*. 2000 ليكون له تأثير مباشر على تكوين الغشاء الحيوي والتصاق البكتريا.

فمثلا عند ترسب بروتين من نوع mucin على أسطح العدسات يزداد عدد المايكروبات الملتصقة لقابلية الميكروبات على الارتباط بهذا المركب على عكس دورة داخل العين *invivo* الذي يعمل على طرح الاحياء من العين

Aristotel and Willcox, 2001 . يلاحظ عادة اختلاف في نسب الالتصاق للمايكروبات باختلاف المايكروب وانواع الاسطح المتكون عليها الغشاء الحيوي.

ان وجود كريات الدم البيض العدلة بكميات وافرة في منطقة الاصابة تلعب دوراً مهماً في زيادة تكوين الغشاء الحيوي والتصاق البكتريا اثناء الاصابة بالتهاب القرنية الجرثومية وخاصة عندما يكون المسبب بكتريا *Ps. aerugenosa* لذلك لوحظ ان هناك علاقة كمية بين عدد خلايا العدلة أو المرتشحة وضرر القرنية ومقدار الالتصاق المايكروبي Walker *et al*, 2005 ;Willcox, 2007 .

فعند موت الخلايا Neutrophil وتحرر مركبات F-actin,DNA الخيطية السالبة الشحنة لترتبط بالشحنة الموجبة لسطح البكتريا Cations،Histones مكونة الغشاء الحيوي ليبدأ عوامل تكوّن التهاب القرنية الميكروبي .

وإن من أهم الانواع المايكروبية المستخدمة كنماذج منتخبة في الابحاث العلمية لدراسة قابلية المايكروبات على الالتصاق بالاسطح المختلفة وخاصة العدسات هي:

بكتريا *Ps.aerugnosa* لما تمتلكه من خصائص فيزياوية تمكنها من البقاء حية عند التعرض لإنزيمات التنظيف في محاليل العدسات اللاصقة.

أما الفطريات تعتبر الاجناس *Fusarium spp.* و*Candida spp.* وخاصة *Candida albicans* ،هي الاكثر قابلية على تكوين الغشاء الحيوي،إلا أن الغشاء المتكون من قبل *C. albicans* أكثر ثباتاً وتعقيداً من الغشاء الحيوي المتكون من قبل *Fusarium* وذلك لقابلية *C. albiacns* على التواجد بشكل yeast و hypha. أما *Fusarium* فتوجد فقط بشكل hypha.

وإن كلاً من الفعاليات الايضة وسمك الغشاء الحيوي يعتمد على نوع العدسة المستخدمة Banin *et al*., 2006 ;Yoshifumi *et al* ., 2007

3. **المواد وطرائق العمل** Materials and Methods :

1.3 الأجهزة والمراد المستخدمة

1.1.3الأجهزة المستخدمة

استخدمت في هذه الدراسة كل من الاجهزة التالي:

المنشأ	الشركة المصنعة	Equipment	اسم الجهاز
England	Gallen Kamp	Incubator	حاضنة
Germany	Alp	Autoclave	موصدة
Turkey	BEKo	Refrigerator	ثلاجة
England	Gallen Kamp	Electric oven	فرن كهربائي
Japan	Olympus	Light microscope	مجهر ضوئي
Swiss	Sartorious	Sensitive balance	ميزان حساس
France	CECil	Spectro Photometer	المطياف الضوئي
Germany	Neubaur	Neubaur Counting Camber	شريحة نيوباور للعدد
Denmark	Radiometer	PH- meter	مقياس الرقم الهيدرجيني
India	Super star	Glass slids	شرائح زجاجية
India	Super star	Glass Coverslips	غطاء سلايد
Chaina	Huawer	Micro piptite sitter	ماصات دقيقة باحجام مختلفة
UK	Seientific	Vortex	مازج (جهاز الرج)
England	Gallen Kamp	Water distillater	جهاز تقطير
Germany Turker	1-Nove, NF_{815} 2-Hettich Haemathrit	Centrifuge: 1-Tube centrifuge 2-Capillery centrifuge	جهاز النبذ المركزي

قطرات زجاجية	Glass droper		
عدسات لاصقة	Contact lenser	--	--
حمام مائي	Water bath	Gallen kamp	England

2.1.3 **المواد الكيمياوية** :

استخدمت في هذه الدراسة كلاً من المواد الكيميائية الآتية:

المادة الكيمائية	Chemicals	الشركة المصنعة	المنشأ
كليسيرول	Glycerol		
جلاتين	Gelatin		
احمر الفينول	Phenolred	Difco	U.S.A
احمر المثيل	Methylerd		
مالتوز	Maltos		
ايثانول	Ethanol		
سكروز	Sucrose	BDH	England
زايلوز	Xylose		
بيروكسيد الهيدروجين	Hydrogen peroxide		
صبغة تولدين الزرقاء	Tolidin blue		
كلوكوز	Gluose	Fluka	Switzerland
لاكتوز	Lactose		

3.1.3المواد المستخدمة في العزل العام للأحياء المجهرية وتشخيصها

1.3.1.3الأوساط الزرعية .

1.1.3.1.3الأوساط الزراعية الجاهزة

المنشأ	الشركة المصنعة	Medium	الوسط
		Nutrient broth	المرق المغذي
		Nutrient agar	الاكار المغذي
		Brain- heart infusion broth	مرق نقيع الدماغ والقلب
		DNase agar	اكار أنزيم محلل للدنا
England	Oxoid	Agar- agar	اكار – اكار
		Tripticase Soy broth	مرق تربتيكيز الصويا
		Simmon’s citrate agar	اكار سيمون السترات
		Methyl red- voges proskaur	احمر المثيل فوكس بروسكاور
England	Oxoid	Blood agar base	اكار الدم الاساس
England	BDH	MecConkeg agar	اكار الماكونكي
		Mannital salt agar	اكار المانيتول المحلي
		Triple-Sugar iron agar	اكار السكريات الثلاثية
England	Oxoid	Urea-base agar	اكار اليوريا الاساس
		Sabouraud dextrose agar	اكار سابيورايد

حضرت هذه الاوساط وفقاً للتعليمات الموصوفة من قبل الشركة المجهزة والمثبتة على العبوة. وعقمت بالموصدة. تركت بعدها الاوساط لتبرد حتى درجة حرارة 45–50مْ، ثم صب في اطباق بتري المعقمة أو وزعت في انابيب اختبار حسب نوع التجربة .

2.1.3.1.3 **الاوساط الزرعية التركيبة** :

*** أولاً: وسط اختبار الحركة Motility test medium**

حضر هذا الوسط بإضافة 0.4غم من الاكار إلى 100مل من المرق المغذي ووزع في انابيب اختبار،ثم عقم بالموصدة، استخدم للكشف عن حركة البكتريا Cruikshank *et al*.,1975

*** ثانياً: وسط تخمر السكريات Sugar fermentation medium**

يتكون هذا الوسط من الآتي:

المكون	التركيز (غم/ لتر)
بيتون	1
كلوريد الصوديوم	0.5
الفينول الاحمر	0.08

حضر هذا الوسط وفقا لمل موصوف من قبل Macfoddin2000 وذلك بإذابة المكونات جميعها في 950 مل من الماء المقطر، عدل الرقم الهيدروجيني إلى 7.0 ومن ثم أكمل الحجم إلى 1000مل من الماء المقطر.

حضرت السكريات (لاكتوز، سكروز، كلوكوز) بصورة منفصلة وذلك بإذابة 1غم من السكر في 100مل ما مقطر وعقمت بالموصدة لمدة 10دقائق.

*** ثالثاً: وسط الجلاتين Gelatin medium**

حضر هذا الوسط بإذابة 12غم من الجلاتين في80 مل من المرق المغذي وبعدها أكمل الحجم إلى 100مل بالمرق المغذي، ووزع في انابيب اختبار،وعقم بالموصدة Collel *et al*., 1996.

2.3.1.3**المحاليل والدوارئ والكواشف** Solution, Buffer and regents:

1.2.3.1.3**صبغات ومحاليل كرام** Gram staining :

استعملت بصبغتها(البلور البنفسجي Cryatalvidolet، السفرانين Safranin) المجهز من قبل شركة (Fluka) الالمانية ومحلولي اليود والكحول المثبت كما وصفت من قبل Treagan and Pulliam, 1982

2.2.3.1.3**محلول كيمزا** Giemsas staining :

حضرت الصبغة بإذابة0.5غم من مسحوق الصبغة في 33 مليتر من الكليسرول بدرجة حرارة 50-60مْ ولمدة نصف ساعة إلى ساعتين بعد ذلك أضيف لها 33ملم من الميثانول المطلق الخالي من الاستيول، مزج الخليط جيداً وخزن بدرجة حرارة الغرفة كمحلول خزين للصبغة.

3.2.3.1.3**محلول كاشف الاوكسديز** (1٪) Oxidase test :

حضر هذا الكاشف آنياً بإذابة 1غم من مادة رباعي مثيل بارافيل، ثنائي امين ثنائي هيدروكلوريد Tetraraegthyl-P- Phenylediaminedihydrechre chloride) في 100مل من الماء المقطر في قنينة معقمة وحفظ في درجة حرارة (4مْ) لحين الاستخدام Atlas *et al*., 1995.

4.2.3.1.3**صبغة لاكتوفينول الزرقاء** :

حضرت كما موصوف من قبل (Betty *et al*, 2007).

5.2.3.1.3 **محلول كاشف الكاتليز** (3٪) .

حضر كاشف بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) بتركيز 3% من محلول بيروكسيد الهيدروجين الخزين 22% (Atlas *et al*., 1995).

6.2.3.1.3**محلول كاشف احمر المثيل** (20٪) :

حضر هذا المحلول بإذابة 20 مغلم من احمر المثيل في 60 مل من الايثانول المطلق وأكمل الحجم إلى 100مل من الماء المقطر، مزج المحلول جيداً وحفظ بدرجة حرارة 4مْ لحين الاستعمال Collel *et al*., 1996 .

7.2.3.1.3**محلول كاشف فوكس بروسكاوس** Voges- proskaure reagent

حضر هذا الكاشف ليتكون من محلولين كما موصوف من قبلCollel *et al*., 1996

المحلول (أ): حضر بإذابة 40غم من هيدروكسيد البوتاسيوم في 80مل من الماء المقطر ثم أكمل الحجم إلى 100مل بالماء المقطر وحفظ بدرجة 4مْ لحين الاستعمال.

المحلول (ب): حضر بإذابة 5غم من الفانافنول في 100مل من الكحول الاثيلي المطلق وحفظ في 4مْ لحين الاستعمال.

8.2.3.1.3**محلول ثابت العكرة القياسي** Macfarland standerd :

حضر هذا المحلول وفقاً لما موصوف من قبل Forves وآخرين 2002 ليتكون من محلولين:

المحلول (أ) : حصر بإذابة 1.175غم من كلوريد الباريوم في 100مل من الماء المقطر.

المحلول (ب) : حضر بإضافة 1مل من حامض الكبريتك المركز إلى 100مل من الماء المقطر اضيف0.05 مل من محلول (أ) إلى 9.95 مل من محلول (ب) رج المحلول بقوة اغلقت الانبوبة بأحكام وحفظت في درجة حرارة الغرفة في الظلام مع مراعاة رج المزيج قبل الاستخدام ، حيث يستخدم لمعيارية الخلايا البكتيرية.

9.2.3.1.3 **كاشف كوفاكس** Kovacs reagent :

حضر من خلط:

- 150 مل من الكحول الايزاميلي (Isoarayla;cohol)(BDH).
- 10غم من ثنائي المثيل- امين بنزالديهايد P-dimethy L-amino benZaldehyd
- 50 مل من حامض الهيدروكلوريك المركز (BDH).

10.2.3.1.3**دارىء الفوسفات** Phosphate buffer :

حضر هذا الدارىء بإذابة 2غم من فوسفات الصوديوم ثنائية الهيدروجين و0.6 غم من فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين و7غم من كلوريد الصوديوم في لتر من الماء المقطر، عدل الرقم الهيدروجين إلى 7.2 وعقم بالموصدة1972 ,.Good and Izawa.

11.2.3.1.3**كاشف أحمر الفينول** Phenol red :

استخدم ككاشف في اختبار تخمر السكريات باستخدام وسط غراء مستخلص حضر محلول خزين للكاشف بتركيز 0.2% وعقم بالموصدة.

للاستخدام أضيف 5ملم من محلول الكاشف لكل 0.4 مل من الوسط ليصبح تركيزه النهائي 0.01% يكون لون الكاشف أصفر عند الاس الهيدروجني 6.8 ووردي عند الاس الهيدروجيني 8.4 .

12.2.3.1.3 **محلول بلازما الدم للأرانب** Rabbit Plasma :

حضر وفق تعليمات الشركة المنتجة (الرازي)، بإذابة محتويات العبوة الواحدة في 1.5مل من الماء المعطر المعقم واستعمل للكشف عن قدرة عزلات المكورات العنقودية على انتاج انزيم مخثر البلازما Coagulase

2.3 **مجاميع الدراسة وطرائق العمل**

1.2.3**مجاميع الدراسة**

1.1.2.3**مجموعة المرضى** Pateint goup :

شملت هذه الدراسة 102 (مريضاً 5 ذكور،97 أناث) يعانون من احدى مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة، ومن الذين راجعوا مستشفى ابن الهيثم التخصصي لأمراض العيون في بغداد.وبأعمار تراوحت ما بين 15–45 سنة، خلال الفترة الواقعة مابين شهر (شباط 2011– أذار2012)،وكانوا يتوزعون في محافظات القطر ومن مناطق ومستويات معيشية ودراسية مختلفة.

اعتمد التشخيص على نتائج الفحص السريري Clinical examination لكل مريض من قبل الطبيب المختص، والفحص المايكروبي Microbiological examinetion

.أما المعلومات الاساسية Baseline infermation والضرورية فقد جمعت من خلال جزئين رئيسيين:

الاولى المعلومات المتحصل عليها من الفحص السريري لكل مريض من قبل الطبيب المختص.

والأخرى من طرح مجموعة من الاسئلة الخاصة بالمريض من قبل الباحثة وقد تضمنت هذه الاسئلة من قبل المشرف . ملحق (1).

2.1..2.3 **مجموعة السيطرة** The control group

شملت مجموعة السيطرة 25 شخصاً اختيروا بصورة عشوائية من(5 رجال، 20 أناث) بعد ان خضع كل شخص للفحص السريري من قبل الطبيب المختص للعيون لتأكيد خلوهم من أي مرض بصري. وقد طرح عليهم مجموعة من الاسئلة للتأكد من تاريخهم المرضيMedical history حيث تراوحت اعمارهم من 15–45 سنة وهي كانت مقاربة لاعمار مجاميع المرضى. جمعت نماذج السيطرة خلال شهر آذار لعام2012.

2.2.3**جمع النماذج** Specimen collection

1.2.2.3**جمع النماذج للزرع** Collection samples for culture

تم لهذا الغرض أخذ نماذج دموع Tears من كل مريض وشخص سليم شملته الدراسة بطريقة غسل الدموع (Tears washing) وقد جمعت النماذج على وفق ما وصف من قبل Argueso *et al.*,2002 .

وذلك بتقطير 60 ميكرولتر محلول الملح الاعتيادي Sterial saline على الاسطح البصرية وبدون تخدير ويُطلب من الاشخاص بتحريك العين وبدون رمش العين لضمان الامتزاج مع محتويات السائل الدمع المفرز من قبل الغدد الدمعية Lacrimal glands وبعد دقيقة واحدة من الوقت تجمع الدموع بواسطة انبوبة شعرية capillary tube من منطقة ملتحمة الجفن السفلي للعين المصابة فقط وبالنسبة للمرضى وذلك لتشكي المريض.بينما جمعت نماذج السيطرة من كلتا العينين.

ثم زرعت النماذج في اوساط العزل الاولية المتمثلة باوساط مرق نقيع الدماغ والقلب واكار الدم.

2.2.2.3جمع النماذج لعد كريات الدم البيض (PMNs)/ التشخيص الخلوي

اعتماد أعلى طريقةAgrueso *et al*-2002الموصوفة سابقا في فقرة(1.2.2.3)جمعت النماذج من كل شخص شملته الدراسة من زاوية ملتحمة الجفن السفلي للعين المصابة بالنسبة للمرضى، بينما جمعت من كلتا العينين لمجاميع السيطرة، بواسطة انبوبة شعرية ، ثم نقلت الى جهاز النبذ المركزي Capillary centerifugation بواقع 1400دورة في 30 دقيقة، ودرجة 4مْ. للحصول على الخلايا المتراكمة من الدموع المخففة بمحلول الملح الاعتيادي المعقم كما ذكر في الفقرة (1.2.2.3)، واعتماداً على طريقة كوفن Coffin, 1957 استخدمت شريحة Neubauer counting chamber لعد الخلايا المتراكمة المتحصل عليها حيث أضيفت إلى طرفي شريحة العد بواسطة الانبوبة الشعرية ثم تم حساب معدل العدد في مربع كبير واحد وضرب في 1000 لايجاد عدد خلايا كريات الدم البيض Neutrophil ومعرفة الانواع اثناء الفحص في 1مليلتر من المعلق المتحصل عليه للخلايا الاصلية.

3.2.3عزل الجراثيم وتنقيتها :

زرعت النماذج مباشرة بعد جمعها كما وصف في الفقرة (1.2.2.3) في اوساط العزل الاولية المتمثلة بأوساط مرق نقيع الدماغ والقلب واكار الدم.

والتي حضنت هوائياً بدرجة حرارة 35مْ . وبعد انتهاء فترة الحضن نقلت النماذج الموجبة النامية في وسط (BHI) بواسطة ناقل معقم وخططت على اوساط اكار الدم والجوكليت والماكونكي، حيث حضنت هذه الاوساط هوائياً 35مْ لمدة 24 ساعة. بينما وضعت اطباق الجوكليت في مرطبان الشمع candal jar لتوفير5-10% ثنائي اوكسيد الكاربون ورطوبة.

أما وسط اكار السابيورايد فقد حضن هوائياً بدرجة 25مْ لمدة اسبوعين اذ يتم فحص الاطباق يومياً. وبعد انتهاء فترة الحضن، يتم فحص النماذج من حيث الشكل الخارجي للمستعمرات وحجمها وقابيلتها على تكوين مناطق تحلل للدم على وسط اكار الدم، ثم تنقل مستعمرة واحدة من كل شكل من اشكال المستعمرات النامية وخططت على وسط اكار الجوكليت لغرض تنقيتها واستمرت عملية اعادة الزرع على هذا الوسط إلى ان تم الحصول على زرع نقي والذي تم التأكد من نقاوته بعمل مسحة للزرع النامي على شريحة زجاجية وتصبيغها بملون كرام وفحصها بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة وملاحظة اشكال الخلايا وتجمعاتها وتفاعلها مع الصبغة Liescgang and Forster, 1980

4.2.3 **تشخيص العزلات المايكروبية** :

استناداً إلى نتائج العزل الاولي والتصبيغ بصبغة كرام، وصبغة اللاكتوفنيول الزرقاء تم تشخيص جميع العزلات بالرجوع إلى الاختبارات البايوكيميائية المعتمدة في مختبرات التشخيص الكترويلوجي وحسب ما ورد في Collee *et al*.,1996; Forbes *et al*., 2002 وكالآتي:

1.4.2.3**تشخيص عزلات المكورات العنقودية** (*Staphylococcus*) :

شخصت العزلات المشكوك بها اعتماداً على ما توفر من اوساط زرعية ومواد كيميائية والتي تضمنت.

أ. اختبار أنزيم الكاتليز Catalase test :

بإضافة قطرة من 3% بيروكسيد الهيدروجين إلى النمو البكتري على شريحة زجاجية إذ أن تكون فقاعات دلالة على قدرة العزلة على انتاج أنزيم الكاتليز.

ب. اختبار مختبر البلازما Coagulase test

يستخدم لتفريق بكتريا *S. aureus* عن بقية الانواع العائدة للجنس نفسه، أجري الاختبار بإضافة 0.1 مل من المزروع البكتري بعمر 8 ساعة إلى انبوبة اختبار معقمة حاوية على 0.4 مل من بلازما مخففة بنسبة 5:1 من محلول دارىء الفوسفات Phasphate buffer saline ، وحضنت الانابيب بدرجة 35مْ وفحصت دورياً كل نصف ساعة لغاية 4 ساعات.

ج. اختبار انتاج الأنزيم الحال للدم Hemolysin

تم بزراعة العزلات البكتيرية على وسط اكار الدم، والحضن بحرارة 35م لمدة 24 ساعة تحت ظروف هوائية. ويدل ظهور منطقة التحلل التام تحلل نوع بيتا حول المستعمرات على احتمالية كون البكتريا العنقودية تعود للنوع *S. aureus*.

د. النمو على وسط اكار المانيتول الملحي Mannitol Salt agar

جرى هذا الاختبار بزرع العزلات هوائياً على وسط المانيتول الملحي وحضنت الاطباق هوائياً 35مْ لمدة 24ساعة. ويدل نحو لون الوسط إلى اللون الاصفر على قدرة نمو البكتريا في هذا الوسط وتخميرها لسكر المانيتول.

وقد استخدم هذا الوسط للتأكيد من العزلة تعو إلى العنقوديات من خلال قدرتها على النمو بوجود هذا التركيز الملحي العالي 75% كذلك للتميز العنقودية الذهبية عن العنقودية البشروية.

2.4.2.3 **تشخيص المسبحيات** *Streptococcus*

شخص العزلات مبدئياً باعتماد صبغة كرام والمظهر الخارجي للمتغيرات النامية على اوساط اكار الدم والجوكليت، تضمنت طريقة التشخيص الاختبارات التالية:

أ. اختبار الكاتاليز Catalase test

جرى هذا الاختبار كما ورد في الفقرة (1.4.2.3 – أ). ان تكون الفقاعات هو دلالة قدرة البكتريا على انتاج أنزيم الكاتاليز.

ب. أختبار انتاج الانزيم الحال للدم Hemolysin

أيضاً كما ورد في الفقرة (1.4.2.3 – ج). بإستثناء الحضن كونه قد تم بوجود 5-10% من غاز ثنائي أوكسيد الكاربون. وأن ظهور منطقة تحلل جزئي أخضر اللون لماع حول المستعمرات، يدل على كون تحلل نوع الفا هو دلالة على أنه نوع *Strp. pneumonia*

ج. اختبار الحساسية للأوبتوجين Optochin Senstivity

تم اجراء هذا الاختبار بوضع قرص الابتوجين Oxoid الذي يحتوي على 5مكغم من مادة Ethylhudro ، في وسط طبق اكار الدم المزروع بالعزلة النقية المراد اختبارها، ومن حضن الطبق بحرارة 35مْ بوجود5-10% من غاز ثنائي أوكسيد الكاربون لمدة 24ساعة.واستدل على النتيجة الموجبة بظهور منطقة تبيض تامة حول القرص لا يقل قطرها عن 5 ملم. استخدم للتميز بين العقدية الرئوية *Strp. pneumonia* عن العقديات الأخرى المسببة لتحلل الدم من نوع الفا.

3.4.2.3 **تشخيص عزلات الزوائف** *Pseudomonas*

أعتمد شكل المستعمرات، رائحتها وانتاجها للصبغات ، اضافة إلى نتائج التصبيغ بصبغة كرام للتشخيص الاولي لهذا الجنس. وتم تحديد أنواعه بالاختبارات الآتية:

أ. اختبار انتاج أنزيم الاوكسدير Oxidase test

تم الاختبار بنقل مستعمرة نامية من هذا الجنس على وسط الاكار المغذي إلى ورقة ترشيح مبللة بالكاشف (1% رباعي المثيل – بارافيلين – ثنائي امين – ثناني هيدروكلوريد). في حال تغير لون ورقة الترشيح إلى البنفسجي خلال 10-30 ثانية بعد الاختبار إيجابياً Collel *et al*., 1996 .

ب. اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization

لقح الوسط اكار المائل لسترات سايمون Simmo citrate بطريقة الطعن بالعزلة البكترية النقية. وتم حضن بدرجة حرارة 35مْ لمدة 24ساعة واستدل على النتيجة الموجبة من خلال تحول لون الوسط الاخضر إلى أزرق1996 ,*et al*.Collel

ج. النمو بدرجة حرارة (42مْ):

يتم الاختبار بزرع طبقين حاويين على الاكار المغذي بالعزلة البكترية المواد اختبارها. احدهما تحضن بجردة 42مْ والأخرى 4مْ ولمدة 24ساعة. ثم يتم فحص النمو لكل درجة Holt *et al*., 1994 .

4.4.2.3 **تشخيص عزلات العصيات** *Bacillus* :

شخصت الانواع التابعة لهذا الجنس بالاعتماد على شكل المستعمرات الخارجي، موقع السبور، ظروف النمو وقابلية العزلة على تحليل الدم والجلاتين، واختبار انتاجها لأنزيم الليشيز Lecithinase على وسط اكار مع البيض Egg- Yolk Agar الذي تم اجراؤه كالآتي:

أ. اختبار تحلل الجلاتين Gelatin Hydrolysis

تم بتلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط بالعزلة المراد تشخيصها ثم حضنها بحرارة 35مْ لمدة 2-3 أيام. بعد ذلك وضعت الأنابيب بحرارة 4مْ لمدة 30 ثانية، للكشف عن تحلل الوسط. واستدل على النتيجة الموجبة من خلال قدرة البكتريا على تسييل الجلاتين لامتلاكها نزيم الجلاتينيز.

ب. اختبار انتاج انزيم الليسثينيز Lecithinase

لقح وسط اكار المح للبيض بالعزلة البكترية النقية ثم حضن بحرارة 35مْ لمدة (24) ساعة. بعد ظهور العتمة البراقة حول المستعمرات نتيجة موجبة.

5.4.2.3 **تشخيص عزلات البكتريا العائلة المعوية** *Enterobacteriaceae* :

تم التشخيص الاولي لافرادها بالاعتماد على بعض الاختبارات البايوكيميائية التي تم اجراؤها كالآتي:

أ. النمو على وسط اكار الماكونكي MoCconkey agar

لقح الوسط بالعزلة البكترية ،تم حضن بحرارة 35مْ لمدة 24ساعة لاختبار قابلية العزلة على تخمير سكر اللاكتور. إذ تكون المستعمرات المغمرة له وردية اللون.

ب. اختبار الاندول Indol test

لقح وسط ماء البيتون بالعزلة البكترية وحضن بدرجة حرارة 35مْ لمدة 24ساعة بعد إضافة 0.5 مل من كاشف كوفاكس والرج لمدة دقيقة دل تكون حلقة الاندول الحمراء كنتيجة موجبة للاختبار.

ج. استهلاك السكريات الثلاثة وانتاج الهيدروجين H_2S

لقحت انابيب الوسط بطريقة الطعن والتخطيط على سائل الوسط بمستعمرات العزلة البكترية، ثم حضنت بدرجة حرارة 35مْ لمدة 24-48ساعة ولوحظت النتيجة من خلال تحول الوسط الاحمر إلى الاصفر وتكون غاز. كما لوحظت قابلية العزلة على انتاج H_2S من خلال تكون راسب أسود.

5.4.2.3 **تشخيص عزلات الفطريات** Fungal :

تم التشخيص بالاعتماد على الأعراض السريرية (clinical symptoms) ونتائج الفحص الطبي من قبل الطبيب المختص بجهاز Slit-lamp (Kanski,2011)، لما لها من اهمية في تشخيص نوع الفطر المسبب للاصابة والتي تختلف باختلاف المسبب الفطري ، فاذا كان المسبب فطريات خيطية يلاحظ راشح أخضر إلى أصفر بطبقة الـ(strom) ووجود تقيح في الحجرة الامامية hypopyon وقد تم تصوير هذه الحالة لاحدى المصابات كما موضح في الشكل(3-1) ،

اما عند الاصابة بخمائر *candida* فيلاحظ راشح أصفر إلى ابيض وتقيح كثيف Denes suppuration شكل (3-2).

وكذلك التشخيص مختبريا بالاعتماد على نتيجة التصبيغ للمستعمرات النامية بصبغة لاكتوفينول الزرقاء، وشكل المستعمرات الفطرية على وسط السابيورايد والتاكيد على بالاختبارات البايوكيميائية المتوفرة ونظام آبي فيما يخص خميرة الكانديدا.

أ. انتاج الانبوب الجرثومي Germ tube production

1. أخذ كمية صغيرة من مستعمرات وتمزج في 0.5 مل من بلازما اللبائن(بلازما الإنسان) في أنبوبة اختبار قياس 2 سم.

2. تحضن لمدة لا تتجاوز 3ساعات بدرجة حرارة 35 مْ .

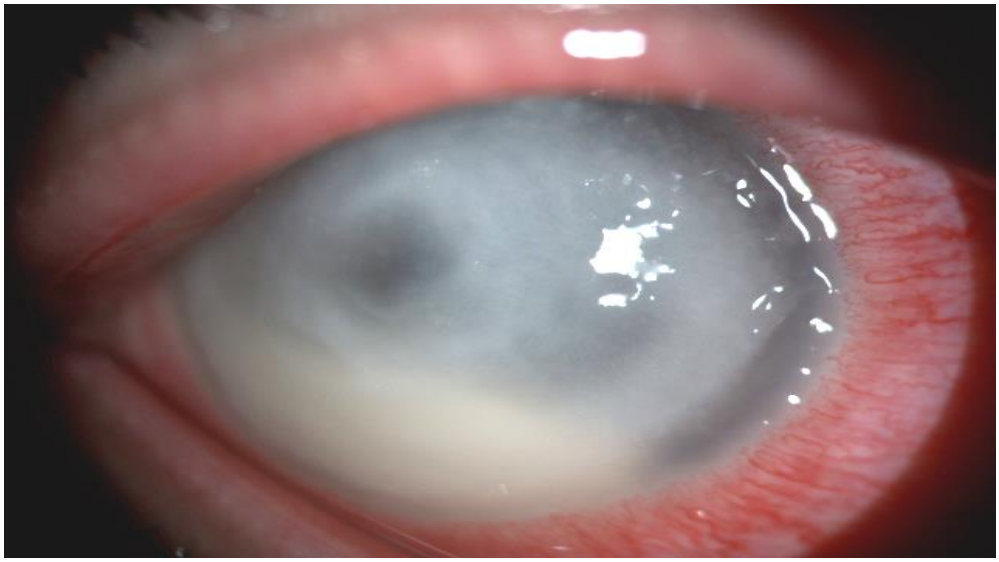
3. بعد فترة الحضن نأخذ قطرة من العالق وتفحص تحت المجهر الضوئي المركب .

إن وجود الانبوب الجرثومي الصغير ممتد من الخلايا هو دلالة على ايجابية الاختبار Betty *et al.*,2007 .

ب. نظام آبي API System

استخدم نظام آبي API *Candida* لتشخيص انواع من جنس *Candida* وفقاً لتعليمات الشركة الفرنسية المجهزة Bio Merieax .

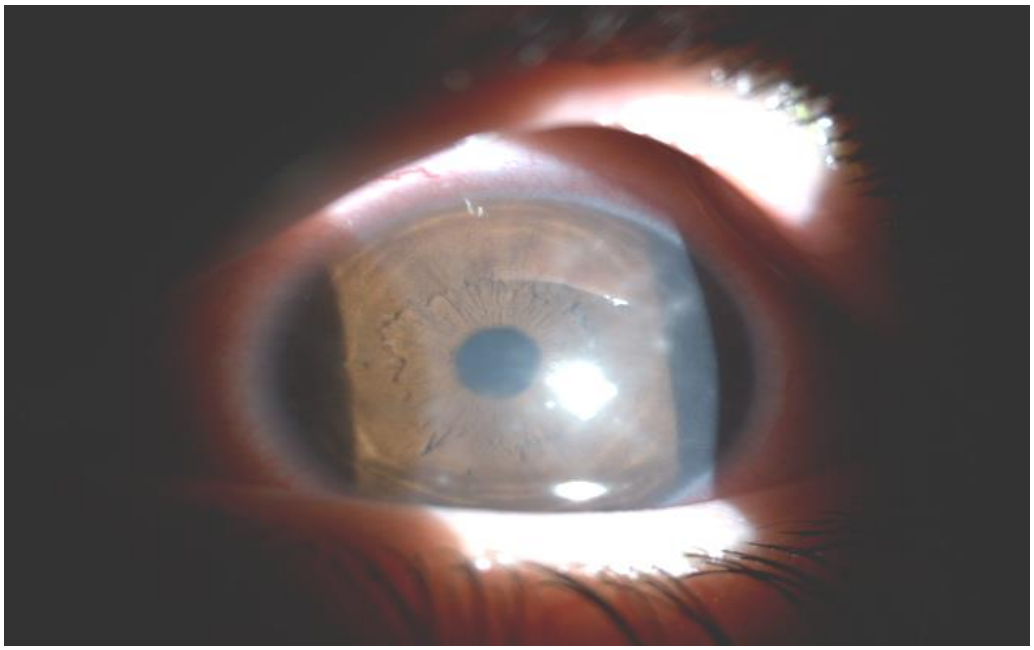
شكل (3-1)عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الفطري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ,المسبب فطريات خيطية
(مأخوذة لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم)



شكل (3-2)عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الفطري المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة المسبب خمائر الشبيهة بالفطريات
(مأخوذة لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم)

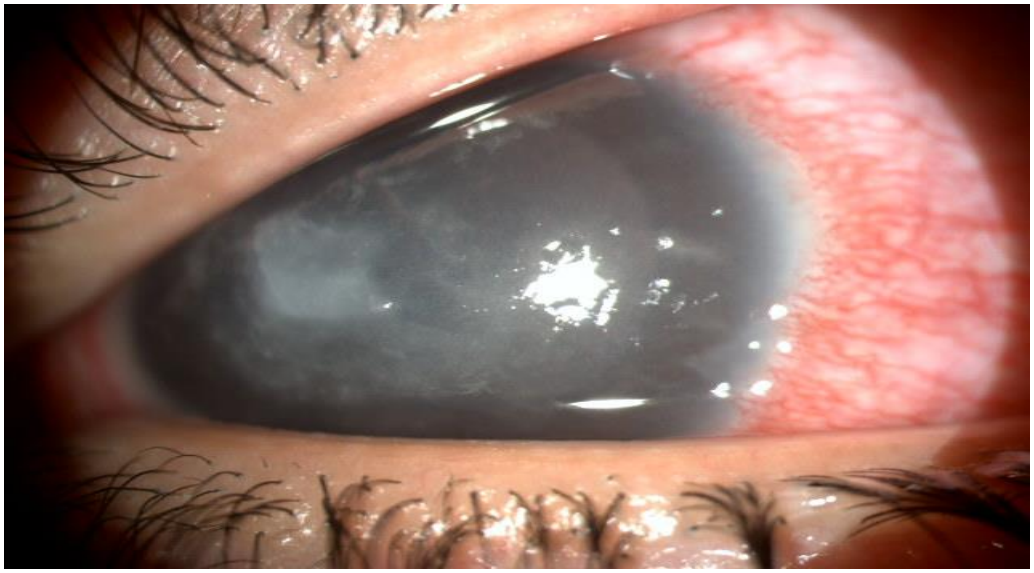
6.4.2.3 **تشخيص الطفيليات**:

تم التشخيص سريريا فقط لعدم توفر اوساط الزرع الخاصة بطفيلي *Acanthamoeba* المسبب الرئيسي لالتهاب القرنية الاميبي .لذلك اعتمد على الاعراض السريرية الظاهرة مثل الألم الحاد، ونتائج الفحص بجهاز Slit-lamp من قبل الطبيب المختص بعد استعمال مادة ملونة في العين مثل مادة الفلورسين Florescein مع ملاحظة خسارة خلايا مركز القرنية اثناء الفحص.الشكل (3-3) يوضح تصوير لحالة مريضة مصابة بالتهاب القرنية الاميبي بمراحله المبكرة بعد الفحص بجهاز Slit-lamp،اما الشكل(3-4) يوضح تصوير حالة مريضة بالتهاب القرنية الاميبي في مراحل متأخرة بعد الفحص بجهاز Slit-lamp .وكذلك على اجوبة المريض على الاسئلة المطروحة عليه من اهمها استخدام العدسات اللاصقة وكيفية تنظيفها.



شكل(3-3) عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الاميبي بمراحله المبكرة المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة

(مأخـوذة لاحدى الاصابات المرضية في مستشـفى ابن الهيثم)



شكل(3-4) عين مريض مصاب بالتهاب القرنية الاميبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة (مأخوذة لاحدى الاصابات المرضية في مستشفى ابن الهيثم).

5.2.3 **طرائق التعقيم** Sterilization methods :

أ. التعقيم بالموصدة Autoclaving

عقمت المحاليل والاوساط الزرعية بالموصدة بدرجة حرارة 121مْ لمدة 15 دقيقة تحت ضغط 15 باوند/ أنج^2.

ب. التعقيم بالحرارة الجافة Dry heat sterilization

عقمت الزجاجيات في فرن كهربائي درجة 180مْ لمدة (3) ساعات.

6.2.3 حفظ العزلات البكترية :

تم حفظ العزلات البكترية بعد تشخيصها والتأكد من نقاوتها تبعاً لطريقة Maniatis وآخرين 1982 وكما يلي:

1. حفظ قصير الأمد 3-4 أسابيع

زرعت العزلات البكتيرية على وسط الاكار المغذي بطريقة التخطيط وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24ساعة، احيطت بعدها الاطباق بشريط Para film وجمعت في أكياس معلمة وحفظت بدرجة 4مْ.

2. حفظ متوسط لأمد 1–3 أشهر

لقحت انابيب سائل الاكار المغذي Slant بالعزلات البكترية المراد حفظها، بعد الحضن لمدة 24ساعة بدرجة 37مْ، حفظت الانابيب في الثلاجة لمدة تتراوح بين 1–3 أشهر.

3. حفظ طويل الأمد عدة سنوات

لحفظ العزلات لفترات طويلة او تستخدم وسط المرق المغذي المضاف إليه الكليسيرول بنسبة 15% وحفظت بدرجة –20مْ لحين الاستعمال مع مراعاة التنشيط كل ثلاثة اشهر.

7.2.3 أختبار قابلية العزلات المايكروبية على الالتصاق بالعدسات اللاصقة خارج الحي :

1.7.2.3 **العدسات اللاصقة** Contact lenses

استخدمت في هذه التجربة خمس أنواع من العدسات اللاصقة من النوع اللينةSoft-hydrogel contact lenses (تجميلية، وتجميلية طبية).

مختلفة الخصائص من حيث المحتوى المائيWater Content (%)/ والشحنة وغيرها.

ومن الانواع الشائعة الاستخدام في الوقت الحاضر.الجدول رقم (3-1) يوضح أهم الخصائص لكل نوع من العدسات اللاصقة المستخدمة في التجربة.

جدول (3-1) أهم الخصائص للعدسات اللاصقة

اسم العدسة التجاري	Fresh Louk تجميلية	True color تجميلية	Neocosmo تجميلية	Fresh Lous طبية	Aryan تجميلية
اسم الشركة المصنعة manufactures	CIB Vision	Benrapty	Neovision	CIBA vision	
المحتوى المائي Water content (%)	55%	47%	>% 50	55%	42%
قطر العدسة Diametec (mm)	14.5	14.30	14.2	14.5	14.5
المادة الاساس الداخلة في صناعتها Principal nonaers	Poloxamer 0.05%	Poly-HEMA 53%	2- Poly HEMA	-	Polymer,58
قوة العدسة سمك العدسة Center thiknes Power 9mm) Dioptre	-0.00	- 0.00	-0.00	-1.50	−0.00
وظيفتها Function	تجميلية cosmatic	تجميلية cosmatic	تجميلية cosmatic	تجميلية طبيبة Cosmetic Medical	تجميلية

2.7.2.3 **الدموع الصناعية** Artificial tears :

المركب الكيمياويPolgviyalcohol نسبة 1% المركب الاساسي لتركيبة الدموع الصناعية. إذ أن هذا النوع من قطرات العيون الطبية يمكن ان يوفر الخصائص الفيزيوكيمائية Physicochemical properties المقاربة للخصائص الاساسية لدموع العيون الطبيعية Natural tears من pH، شدة الشحنات Jonic-strength وكذلك عامل اللزوجة Viscosity.حيث استخدمت الدموع الصناعية لتحضير العالق المايكروبي المحدد عدد المستعمرات وحضنه مع العدسات اللاصقة بأنواعها في طبق الزرع النسيجي.

3.7.2.3 **العزلات المايكروبية المنتخبة وشروط النمو** :

Microbial isolation and Growth condition

أختيرت العزلات التالية لما تمتلكه من عوامل قدرة على الالتصاق بالاسطح المختلفة والمعزولة من مرضى التهاب القرنية الميكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة من مراجعي مستشفى ابن الهيثم للعيون التخصصي وهي :

Staphylococcus epidermidis ,Staphylococcus aureus, Pseudamones aeruginosa , Aspergillus niger

نشطت جميع المعزلات الميكروبية النقية اعلاه لاستخدامها كنموذج لقياس قابلية الالتصاق الميكروبي على العدسات اللاصقة خارج الحي. بتنميتها بمرق تربتون الصويا بدرجة حرارة 35 مْ لمدة 18 ساعة، ثم استخلص راشح كل عزلة منشطة بعد فترة الحضن بالنبذ المركزي المبرد 5000دورة/ دقيقة واحدة 15 دقيقة وبعد غسلها لمرتين بالدموع الصناعية Artifical tears. لتحصير العالق المايكروبي Microbial suspention المحدد عدد المستعمرات المايكروبية ،إذ يكون تركيز الخلايا البكترية في العالق البكتري نحو= 4×10^{8} عدد الخلايا مللتر$^{-}$،اما تركيز الابواغ للفطريات في العالق الفطري نحو= 1×10^{6}عدد السبورات مللتر$^{-1}$المحدد بواسطة جهاز المطياف

الضوئي Spectrophotometer المستخدم لقياس Optical Densityالكثافة الضوئية للعالق المايكروبي بطول موجي 668 نانومتر.

4.7.2.3 **اختبار الالتصاق** Adhesion assay

أعتمدت طريقة Mariana وأخرين 2005 لقياس قابلية الالتصاق الميكروبي على العدسات اللاصقة.

تتضمن هذه الطريقة غمر كل نوع من انواع العدسات اللاصقة في 1مل من العالق المايكروبي المحضر مسبقاً في الفقرة (3.7.2.3) من الدموع الصناعية والراسب المايكروبي لكل عزلة المحدد عدد الخلايا(**1×10^{6}** عدد السبورات مللتر^{1}للفطريات و 4×10^{8} عدد الخلايا مللتر^{1} للبكتريا) بعد وضعها في طبق الزرع النسيجي 24-well tissue culture حيث يكون الجزء المحدب للعدسة اللاصقة الى الاعلى والجزء الداخلي المقعر إلى الاسفل ثم يحضن طبق الزرع النسيجي المتضمن العزلات الملونة للعدسات بدرجة حرارة 35مْ لأوقات مختلفة(10دقائق، 2 ساعة، 6 ساعة، 24 ساعة، 72 ساعة) وبعد كل فترة حضن تزال العدسة بعناية من الحفرة وتغسل ثلاث مرات بغمر العدسة في الدموع الصناعية في الفقرة (2.7.2.3) النظيفة، لإزالة الخلايا الغير ملتصقة بالعدسات اللاصقة فقط. ثم تترك لتجف في درجة حرارة الغرفة وبعدها تغمر بصبغة البلور البنفسجي المخففة 10% لمدة 15 دقيقة ثم تغمر بكحول الايثانول المطلق لازالة الخلايا الملتصقة ثم ينقل لقياس الكثافة الضوئية بجهاز المطياف الضوئي لكل عزلة ولفترات الحضن المختلفة Stepanovic *et al*.,2004 .

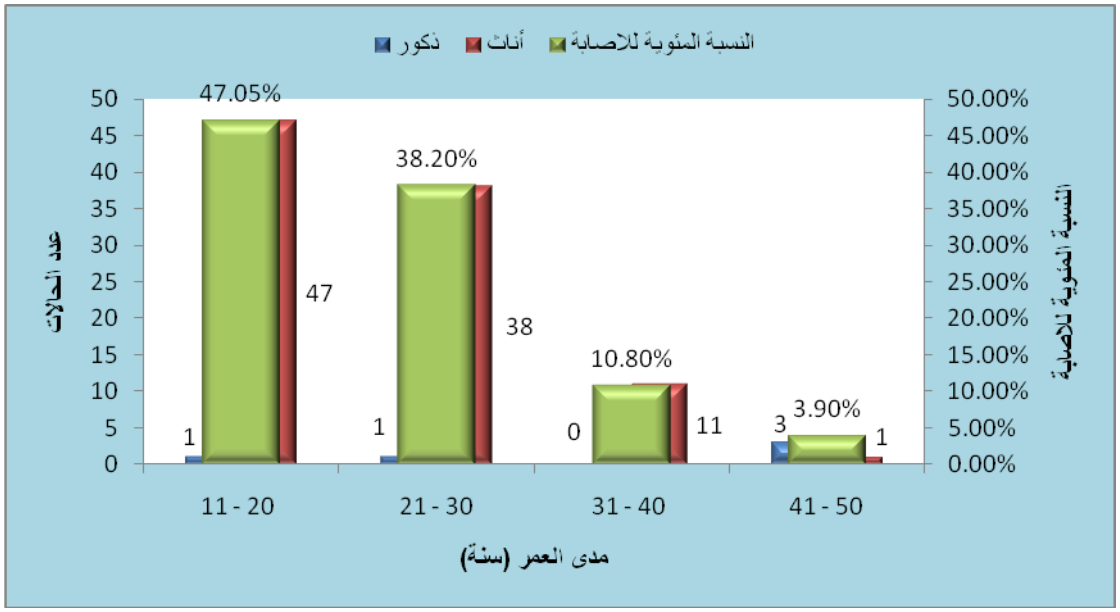
4.النتائج والمناقشة :

1.4خصائص النماذج المرضية لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة :

جمع 102 نموذجا من مرضى مستخدمي العدسات اللاصقة أثناء مراجعتهم لمستشفى ابن الهيثم التخصصي لأمراض العيون في بغداد، الشكل (4-1) يبين توزيع الإصابات حسب الجنس وعمر المصابين .

إذ شكلت نسبة الإناث 95.1% لـ(97حالة)، في حين كانت نسبة الذكور 4.9% لـ(5حالة) من المجموع الكلي للإصابات, كما وتراوح المدى العمري للإصابة ما بين 11-45سنة .

شكل المدى العمري 11-20 سنة وبنسبة 47.05% النسبة الأكبر في الإصابة, تلاها المدى العمري21-30 سنة وبنسبة 38.2%,ثم المدى العمري31-40 سنة بنسبة 10.8%, أما المرحلة العمرية41-50 سنة فكانت نسبة الإصابة فيها 3.9% فقط وهي بذلك تمثل النسبة الأقل في الإصابات.



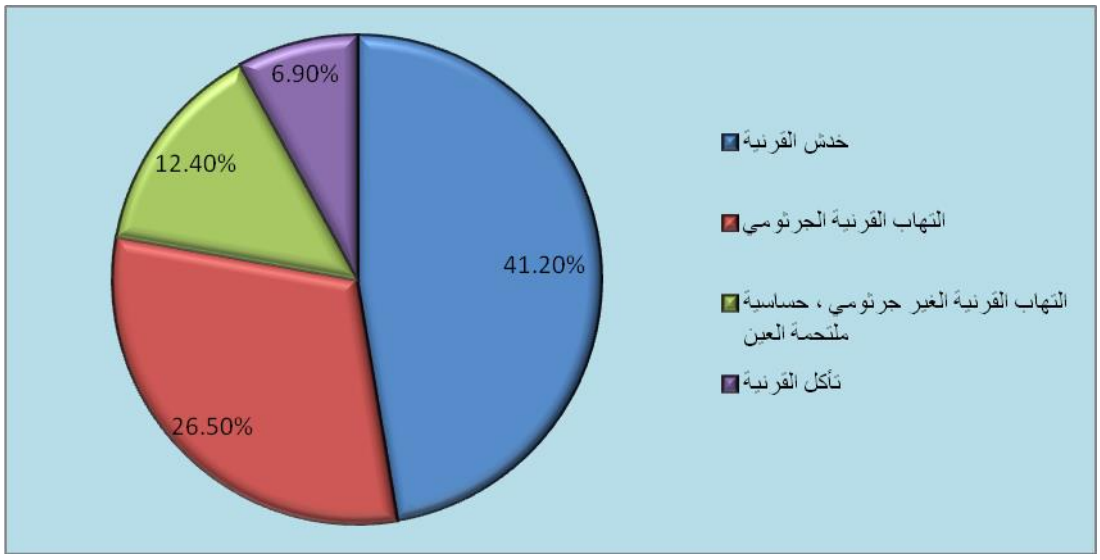
شكل (4-1) توزيع إصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب العمر والجنس

في حين اظهرت نتائج الدراسة ان نسبة العدسات المستخدمة للأغراض التجميلية فقط من قبل المرضى الذين شملتهم الدراسة86.3% لـ(88حالة), وللاغرض تجميلية علاجية حالتين وبنسبة1.96%, فيما شكلت العدسات المستخدمة للاغرض العلاجية نسبة 11.8% لـ(12حالة).

في الشكل(4-2) توضيح لنسب تكرار الإصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة من مجموع من شملتهم الدراسة، حيث اظهرت النتائج ان 42حالة بنسبة 41.20% تعود الى خدش القرنية Corneal abrasion .

فيما كان نسبة تكرار الإصابة بالتهاب القرنية الجرثومي Microbial keratitis 26.50% لـ (27حالة) موزعة حسب المسبب الجرثومي للالتهاب اذ شكلت البكتريا 16 حالة بنسبة 59.3%,اما الفطريات 7 حالة بنسبة25.9% ,تلتها الطفيليات من جنس*Acanthamoeba spp.* بنسبة 14.8% لـ(4) حالة فقط .

اما نسبة كلا من التهاب القرنية الغير جرثومي Sterile keratitis، وحساسية ملتحمة العينAllergic conjunective فكانت13حالة بنسبة 12.40% لكل منهما. في حين تأكل القرنية Corneal erosion سجلت في7حالات بنسبة 6.90%



شكل (4-2) توزيع إصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب نوع الإصابة

كانت نسبة الاصابات لعين واحدة Unilateral 78.4% تعود منها للعين اليسرى 44.1% , واليمنى بنسبة 34.3%. اما نسبة الاصابات في كلتا العينين Bilateral 21.6% .

وهذه النتيجة جاءت متفقة مع ما توصل أليه Galentine واخرون (1984) والتي شملت 56 اصابة بالتهاب القرنية الجرثومي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة, والتي بينت ان 66% من المصابين هن من الاناث حيث تكون الاناث اكثر اصابة من الذكور في الدول المنتشر فيها استخدام العدسات اللاصقة قد يعود ذلك الى كون النسبة الاكبر منهن يستخدمن للاغراض التجميلية.

ان تدني نسبة الاصابة في الدراسة الحالية للفئات العمرية 31-40 و41-50 بالنسب 3.9:10.8% على التوالي، قد يعود ذلك الى كون انتشار العدسات التجميلية في البلد لايزال محدودا وينحصر بشريحة معينة من الناس طالبات مدارس الاعدادية والجامعات والمراهقين, اذ ان اغلب الحالات المسجلة كانت لفتيات بعمر 11-20 سنة استخدمن العدسات للاغراض التجميلية فقط.

وتعد هذه النتائج للدراسة الحالية متفقة نوعاً ما مع تلك التي توصل اليها Teo واخرون 2011 في دراسة اجراها لتقيم نسب مضاعفات العدسات اللاصقة في احدى المستشفيات المتخصصة للعيون في سنغافورا استغرقت مدة الدراسة سنتين 1999-2001 حيث بلغ عدد المرضى لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حوالي993 حالة بنسبة 93.7% منهم يستخدمون العدسات اللاصقة من النوع اليومي الاستعمالDaily wear ،و ان حوالي 25.6% منهم يعانون من التهاب القرنية الجرثومي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة،فيما كانت نسبة 24% تعود لالتهاب الطبقة الطلائية المرافق لتأكل القرنية ، اما حساسية ملتحمة العين فشكلت نسبة 18.8% ,في حين كان تأكل القرنية بفعل استخدام العدسات حوالي 14.6%,وفيما يخص مضاعفات جفاف العين كانت بنسبة 8.1% بينما نسبة التهاب القرنية غير الجرثومي 7.5%, واقل نسبة 5% تعود الى تأدم القرنية Oedema corneal ،لذا يمكن القول ان التهاب القرنية الجرثومي يعد من اكثر المضاعفات شيوعا بين مستخدمي العدسات اللاصقة. فيما اعتبرت حساسية العين

وجفافها من العوامل المهمة والمؤدية الى تطور الاصابة لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة (Robertson *et al*., 2007) .

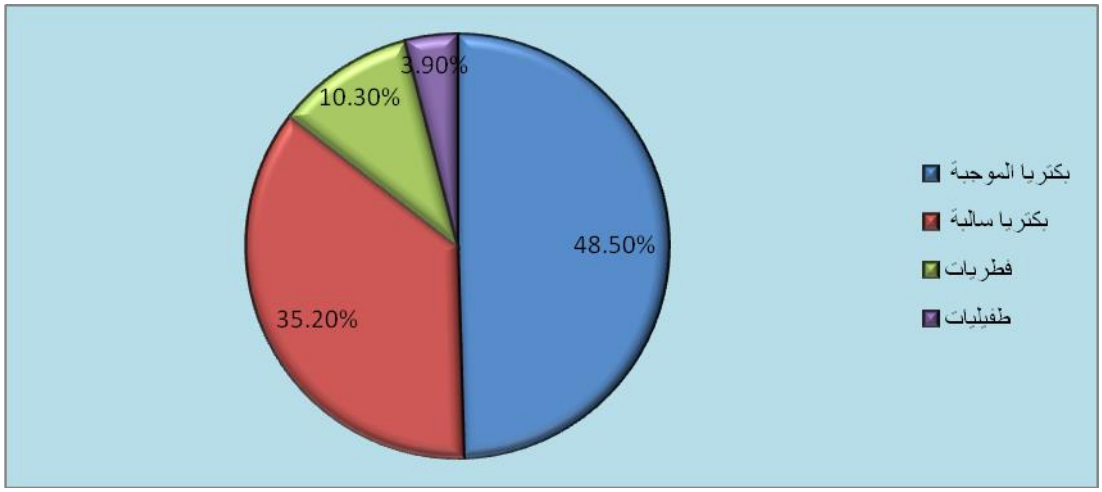
2.4 عزل وتشخيص الجراثيم المسببة لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة :

اظهرت الدراسة الحالية وكما مبين في الجدول (4-1) ان مجموع الحالات المشخصة سريريا ومختبريا بلغ 98 حالة , فيما كانت عدد الحالات التي أعطت نتيجة موجبة للزرع الميكروبي 64 حالة بنسبة 62.7%, وأمكن الحصول على 68 عزلة ميكروبية من مجموع حالات الموجبة للزرع الميكروبي, فيما كان عدد الحالات التي اعطت نتيجة سالبه للزرع الميكروبي 34 حالة بنسبة 33.3%.

فيما بلغ عدد الحالات المشخصة سريرياً لالتهاب القرنية الطفيلي 4 حالات فقط بنسبة 3.9% والتي يعتقد انها تعود لجنس *Acanthamoeba spp.*.

بينت نتائج التشخيص للعزلات قيد الدراسة على سيادة البكتريا الموجبة لصبغة كرام كانت في الإصابات هي السائدة مقارنة بتلك السالبة لكرام ,

اذ بلغ عددها اي الموجبة 33عزلة وبنسبة 48.5%.والسالبة 24 عزلة بنسبة 35.2%، تلتها الفطريات 7عزلة بنسبة 10.3% ، كما موضح في الشكل(4-3).



شكل (4–3) النسبة المئوية للجراثيم المعزوله حسب التصبيغ لصبغة كرام، لاكتوفينول الزرقاء

توزعت عزلات البكتيريا الموجبة بين 16عزلة تعود للنوع *Staphylococcus epidermidis* (هي السائدة على العزلات الموجبة لصبغة لكرام الأخرى) و8 عزلات تعود للنوع *S. aureus* وعزلة واحدة للنو *S. haemolyticus* ,تليها عزلات جنس *Streptococcus* موزعة عزلاته الخمس كالاتي :عزلتين لكلا من *S. pneumonia* و*S. viridans* وعزلة واحدة للنوع *S. pyogenes* ، ثم جنس *Bacillus* بالنوعين *B. cereus* عزلتين , وللنوع *B. Subtitis* عزلة واحدة ، فيما كانت حالتين من الخمج المختلط للبكتريا الموجبة لكرام للنوعين *eipdermidis S. .B.cereus*. وفيما يخص البكتريا السالبة لصبغة لكرام فقد حلت بكتريا *Pseudomonas aeruoginosa* في المرتبة الاولى اذا شكلت البكتريا الاكثر عزلا بعدد 21 عزلة ,تلتها بكتريا *Escherichia coli* بواقع عزلتين ,ثم بكتريا *Serriatia marcescens* بعزلة واحدة. فيما اظهرت نتائج الاختبارات للعزلات الفطرية ان 4 عزلات تعود لجنس الفطريات الخيطية *Aspergillus* موزعة كالاتي 3 عزلات للنوع *A. fumigatus*, وعزلة واحدة للنوع *A.niger* , فضلا عن عزلة واحدة للجنس*.Fusarium spp* .تلتها عزلات الخمائر من جنس *Candida* بواقع عزلة واحدة لكل من *C. albican* و *C . parapilosis*.

بلغ عدد الحالات التي عزلت بشكل خمج مختلط من البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام والفطريات لـ(عزلتين) منها واحده تضمنت بكتريا وفطريا *Pseudomonas aeruginos*، *Aspergillus* ،والاخرى خمائر الكانديدا والبكتريا الموجبة لصبغة كرام*.Candida spp*، *S. epidermidis*. وبذلك تكون العزلات التي تعود لجنس *Staphylococcus* هي الاكثر سببا في احداث مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة وذلك عندما بلغ عددها 25 عزلة بنسبة 36.7% من المجموع الكلي للعزلات، تلتها بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بعدد عزلات بلغت 21 عزلة بنسبة 30.8%، ثم الفطر *Aspergillus* بعدد عزلات7,والبكتريا *Bacillus*، *Streptococcus* بعدد 5 و3 على التوالي.

جدول (4-1) : الأعداد والنسب المئوية للعزلات الميكروبية المعزولة من مرضى مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة.

العزلة الميكروبية	عدد الإصابات	النسبة المئوية (%)
أ- البكتريا الموجبة لصبغه كرام:		
Staphylococcus epidermidis	16	23.5
Staphylococcus aureus	8	
Staphylococcus haemolyticus	1 (9)	13.2
Streptococcus pneumoniae	2	
Streptococcus viridans	2 (5)	7.3
Streptococcus pyogenes	1	
Bacillus cereus	2	
Bacillus subtilis	1 (3)	4.4
خليط من البكتريا لصبغة كرام		
B.cereus+ S.epidermidis	2	
ب- البكتريا السالبة لصبغة كرام:		
Pseudomonas aeruginosa	21	30.8
Escherichia coli	2	2.9
Serratia marcescens	1	1.4
جـ- الفطريات		
Aspergillus fumigatus	3	5.9
Aspergillus niger	1 (4)	
Fusariums spp	1	1.4
Candida albican	1	
Candida parapilosis	1 (2)	2.9
خليط من الفطريات والبكتريا		
Aspergillus+Pseudomonas aeruginosa	1	
Candida+S. epidermidis	1	
المجموع الكلي للإصابات التي أعطت نمو ونسبتها	*(68)64	**%65.3
المجموع الكلي للإصابات التي لايوجد فيها نمو	34	**%34.6
العدد الكلي للإصابات المشخصة سريريا ومختبريا والنسب	98	**%100

***العدد الكلي للعزلات الميكروبية من المجموع الكلي للحالات المشخصة سريريا ومختبريا**

****النسبة المئوية من المجموع الكلي للحالات المشخصة سريريا ومختبريا.**

بينما عزلت الجراثيم لمجموعة السيطرة من25 شخص سليم(لم يستعمل العدسات) أعطت نتائج لـ 44% نتيجة الزرع الموجب موزعة كالأتي6 عزلات بنسبة

54.5% للنوع*S. epidermidis* , تلتها النسبة 18.2% بواقع عزلتين لكلا من *S. aureus ,Bacillus spp.* بواقع عزلة *Micrococcuc, E.coil* كلا من واحدة لكل منهما.

وبمقارنة هذه النتائج مع تلك التي توصل اليها الباحثون في هذا المجال ,فقد وجد في دراسة قام بها Lekha واخرون 2009 لـ(155) مستخدم للعدسات اللاصقة اللينة من النوع اليومي والمستمرالاستعمال,

ان البكتريا السالبة لكرام خاصة نوع *Pseudomonas aeruginosa*هي السائدة حيث عزلت بنسبة 37.5% تلتها بكتريا *Klebsiella spp.* بنسبة24% ,ثم بكتريا *E.coli* بنسبة16.67%.

اما البكتريا الموجبة لكل من *Staphylococcus epidermidis* و*Streptococcus pneumoniae* فكانت نسبتهما4.17%.بينما العزلات البكتيرية من العدسات ذات النوع المستمر الاستعمال فكانت بواقع 4.17% لكل من *Pseudomonas aeruginosa ,Klebsiella spp. , Streptococcus pneumoniae* أشاروا ايضاً الى ان حوالي 91 نموذج بنسبة 79.1% اعطت نتيجة سالبة للزرع البكتيري على الاوساط الزرعية المستخدمة للزرع ،وتبين نتائج دراستهم لتشابه الانواع المعزولة لكل من العدسات اللاصقة من النوع المستمر واليومي الاستعمال الى ان كلا من هذين النوعين اثناء استخدامهما لا يغير من الانواع البكتيرية واعدادها.

فيما جاءت نتائج الدراسة التي اجراها كلا من Pinna واخرون 2001 التي لاحظوا فيها اول التهاب قرنية جرثومي لمرافق لاستخدام العدسات اللاصقة ناتج من تلوث العدسات ببكتريا *Bacillus cereus*.

تشير النتائج المبينة في دراسة اجريت في استراليا من قبل Padmaja واخرون 2000 لـ(330) مستخدم للعدسات اللينة النبيذة ذات الاستعمال الواحد لمجموعتين احدهما يعاني من التهاب القرنية الجرثومي والاخرى بدون اعراض سريرية فوجد ان البكتريا السالبة لكرام من جنس *Pseudomonas spp.* والفطريات هي الاكثر ترددا في المجاميع التي تعاني من التهاب القرنية الجرثومي, في حين

عزلوا كلا من *Micrococcus ,S. epidermidis, S. aureus* وكذلك جنس*.Streptococcus spp* الذي مثل الجنس الاكثر ترددا. فيما كانت النسبة الاقل من 1% تعود لجنس *.Pseudomonas spp* والفطريات،

اما Whitcher وجماعته (2003) أوضح أن اعلى نسبة للعزلات الميكروبية تعود لجنس البكتريا السالبة لكرام اما الفطريات والبكتريا الموجبة فكانت نادرة ,كما لاحظوا ان جنس *.Acanthamoeba spp* هو السائد والاكثر عزلا في الدول المتقدمة.

مما تقدم يمكن القول ان صعوبة عزل جنس *.Acanthamoeba spp* من حالات التهاب القرنية الجرثومي مقارنة ببقية انواع الجراثيم الاخرى ,على الرغم من ان هذا الطفيلي هو احد المسببات الرئيسية للالتهاب القرنية المتسبب بفعل استخدام العدسات اللاصقة الملوثة, يمكن ان يعود الى تلوث محاليل حفظ العدسات بممرضات اخرى مثل بكتريا *Pseudomonas aeruginos* التي عند تواجدها في محاليل حفظ العدسات تقوم بإنتاج سموم قاتله لهذا الطفيلي ;Gray *et al* ., 1995 . Levey and Cohen, 1996

اما فيما يخص نتائج زرع النمو الميكروبي للعزلات المرضية اظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود 4 حالات 5.8% لنوعين من البكتريا الموجبة ونوعين من البكتريا والفطريات ، وان النتائج التي توصل اليها منسجمة مع ما اشارت اليه دراسة Faik (2001) في دراسة اجريت في العراق لمرضى مصابين بالتهاب القرنية القيحي من مراجعي مستشفى ابن الهيثم التخصصي لامراض العيون ،ان نسبة 74% من الاصابات اعطت نتيجة موجبة للزرع البكتيري ، اذ كانت اعلى نسبة للبكتريا الموجبة لصبغة كرام بنسبة 60% ، و8% من الاصابات الموجبة تضمنة عدة انواع بكتيرية في الاصابة.

اما الدراسة التي اجراها Lam واخرون (2002) ان حوالي 65% من عينات مرضى التهاب القرنية الجرثومي المرافق لاستخدام العدسات اعطت نتيجة سالبة وهذا غير متفق مع الدراسة الحالية.

وبالتالي قد يعزى السبب لنسب الزرع السالب في الدراسة الحالية الى ان بعض الاصابات عولج اصحابها بالمضادات الحيوية قبل اجراء التشخيص

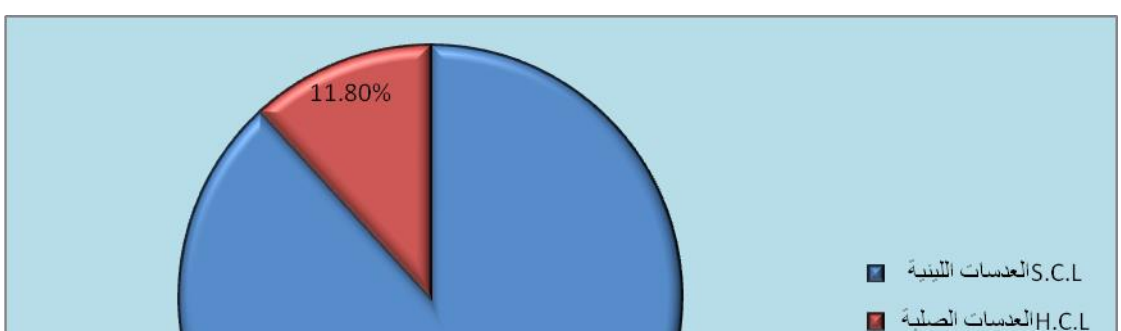
المايكروبي والتي تختلف بأختلاف المرضى او قد يعود الى تواجد الاحياء المجهرية باعداد قليلة جدا لتأثرها بعملية الغسل التي تحصل للعين بفعل الدمع والتي تدفع بالكثير من الاحياء ألمجهريه الى خارج العين.

أما التباين في نتائج الزرع والتشخيص في الدراسات المختلفة المتعلقة التهاب القرنية الميكروبي والمضاعفات الاخرى المرافقة لاستخدام العدسات اللاصقة(مع الدراسة الحالية) الى اختلاف العوامل المؤثرة والمهيئة للاصابة اختلاف الاقاليم والمناطق الجغرافية وكذلك الطرق المتبعة لاخذ النماذج, وايضا قد يعود التباين الى حجم النموذج والزمن (حسب الاشهر والفصول).

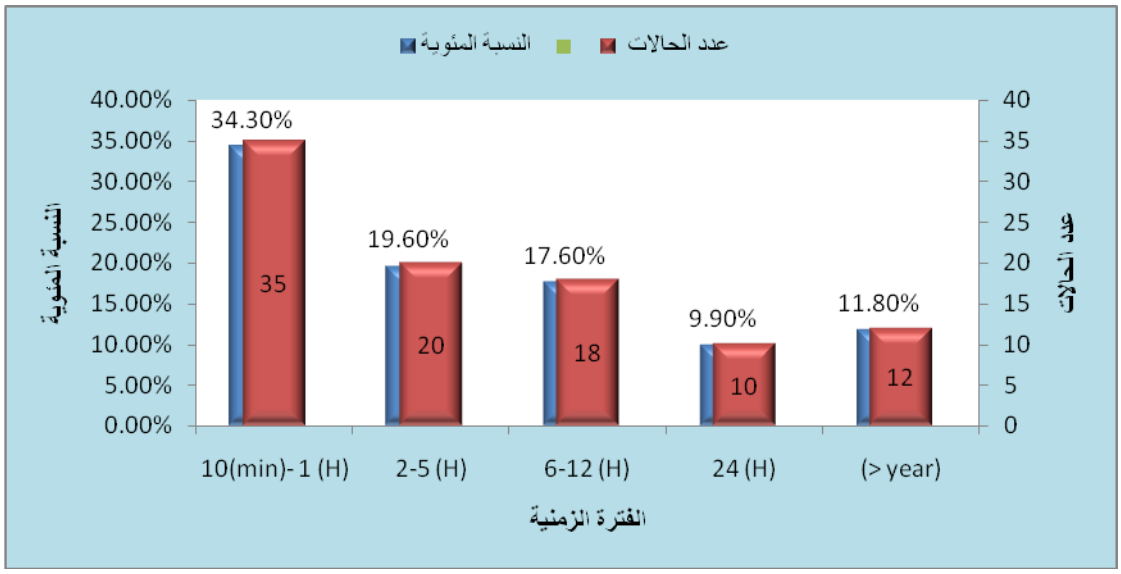
3.4 **العوامل المؤثرة في مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة** :

1.3.4 نوع العدسات ومدة استخدامها (الجدول الزمني):

بينت النتائج ان النسبة الاكبر في اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة كانت من مستخدمي العدسات اللاصقة النوع اللينة .soft contact lenses بنسبة 88.2% ,توزعت بين اليومية الاستعمالDaily wear بنسبة 86.3% والممتدة الاستعمالExtended wear بنسبة 1,96% .اما مستخدمي العدسات الصلبة لاغراض العلاجية فكان عددهم 12حالة بنسبة 11,8%, شكل(4-5). فيما اظهرت النتائج ان نسبة الاصابات حسب مدة الاستخدام (الجدول الزمني) قبل ظهور الاصابة ان وقت الاستخدام مابين 10دقائق–ساعة واحدة هي النسبة الاكبر في 35 حالة بنسبة 34,3% , تلتها الفترة مابين 2 ساعة– 5 ساعة 20 حالة بنسبة 19.6% .في حين كانت الـ(18حالة) بنسبة 17.6% للفترة 6-12 ساعة.واقلها الاستخدام ليوم كامل 24 والنوم بالعدسة 10حالة بنسبة 9.8%. اما بالنسبة للعدسات الصلبة المستمرة الاستعمال لاكثر من 2 سنة كانت نسبتها 11.8% مسجلة لـ(12حالة). شكل (4-6) يوضح اعداد المصابين موزعة حسب مدة استخدامهم للعدسات اللاصقة.



شكل (4-4) توزيع الإصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة حسب نوع العدسات



شكل (4-5) توزيع إصابات مضاعفات استخدام العدسات حسب مدة الاستخدام

توصل Padmaja واخرون 2000 الى احتمالية زيادة الاصابات الناتجة عن استخدام العدسات اللاصقة اللينة حيث ان اكثر من نصف العدسات اللاصقة اللينه تعتبر مأوى للجراثيم وخاصة البكتريا الموجبة وان اكثر من 10% من العدسات اللاصقة هي مأوى للبكتريا السالبة والانواع الممرضة الاخرى.

واشار Tuli وجماعته 2007 في دراسة أجريت في فلوريدا لاحظ ان وبائية الإصابة بالتهاب القرنية الفطري متصلة بزيادة استخدام العدسات اللاصقة اللينة

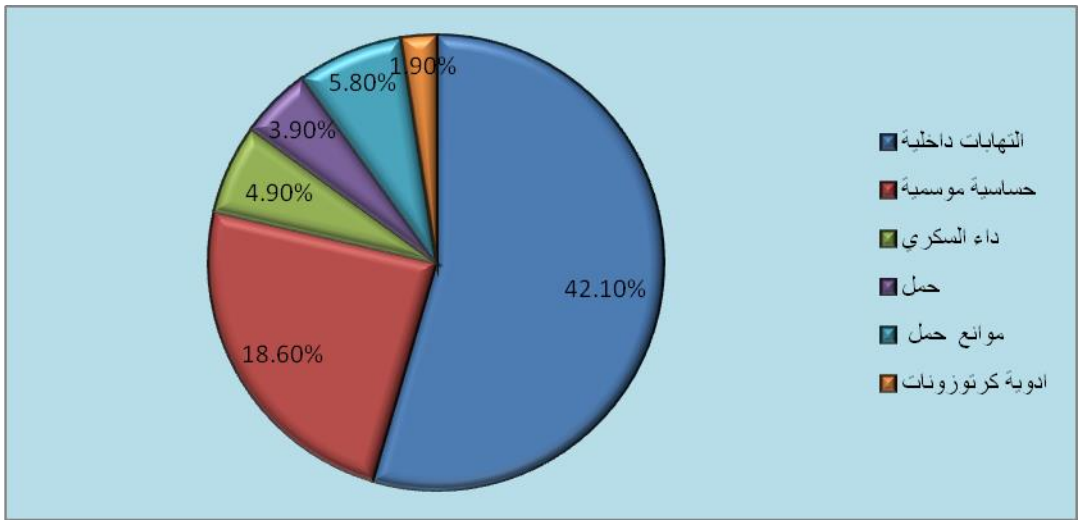
غير العلاجية. فبمقارنة نسب الإصابة بالتهاب القرنية الفطري لعام(1980) 5%بنسبتها للقرن الحالي 44% وجد زيادة نسبة الاصابة بزيادة الاستخدام خلال السنوات الاخيرة. فيما لوحظ في دراسة اجريت في استراليا من قبلWillex واخرون 2010ان نسبة الاصابة لتأكل القرنية بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة لمستخدمين 0.01 %D.W- 5 0.0% مقارنة E.W بنسبة 0.6 -2.6%، وان نسبة تلوث العدسات اللاصقة اللينة خلال D.W 2.4 %, اما اثناء استعمال E.W هو 7.1% .

وتعد نتائج الدراسة الحالية منسجمة نوعاً ما مع الدراسات أعلاها من حيث تلوث العدسات اللاصقة اللينة بنوعيها ومع ما توصل اليه Leka واخرون 2009 حيث اشاروا الى عدم وجود فرق في الانواع المايكروبية المعزولة من مستخدمي العدسات اللاصقة اللينة وللنوعين D.W وE.W ولكن لوحظ ازدياد اعداد هذه الانواع عند الاستمرارية في لبس العدسات لمدة يوم كامل. اذ عزلت من 89 مستخدم للعدسات(D.W) كلا من *E.coli , Klebsiella spp. ,Pseudomonas spp.* بنسبة 37.5%, 24%, 16.6% على التوالي.اما *Streptococcus spp.,* *Staphylococcus* بنسبة 4.17% لكل منهما. فيما كانت العزلات من مستخدمي E.W هي لـ *Klebsiella spp. ,Pseudomonas spp., Staphylococcus epidermidis* بنسبة 7.14% لكل نوع.

وقد يعزى سبب نتائج الدراسة الحالية الى ان استعمال العدسات اللاصقة اللينة بصورة مستمرة او يومية يؤدي الى تغير في مستوى العوامل المناعية للسائل الدمعي فيزداد احتمالية الإصابات المرتبطة باستخدام العدسات اللاصقة اللينة من خلال التغير في كمية الأوكسجين الممتص من قبل القرنية فتقل مقاومة القرنية اللاصابات الميكروبية كما وان كل أنواع العدسات تزيد من نسبة تبخر السائل الدمعي مما يؤدي الى الشعور بعدم الراحة وجفاف العين لتزيد من تطور الاصابة بالتهاب القرنية الميكروبي.

2.3.4 **التاريخ المرضي** :

يوضح الشكل(4-7) تأثير التاريخ المرضي من أمراض وتعاطي أدوية حسب ما تم جمعه من معلومات لمجموع حالات الإصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة . لوحظ أن النسبة الأعلى كانت للأمراض69.6% لـ(71) حالة موزعة بين اخماج الجهاز التناسلي بنسبة 42.1% لـ(43) حالة ،بينما شكلت الحساسية (دائمية وموسمية) نسبة 18.6% مسجلة في(19) حالة من مجموع الحالات المرضية الذين شملتهم الدراسة ,تلتها نسبة 4.9% لمرضى داء السكري لـ(5) حالة ،في حين كانت النسبة الأقل للأمراض الناتجة عن الحمل وهي 3.9% ضمن(4) حالات فقط .أما التي تعود لمرضى يتعاطون العقاقير الطبية المختلفة خلال فترة ما قبل الإصابة فكانت مسجلة لـ(8) بنسبة 7.8% ، موزعة لكل من أدوية موانع الحمل مسجلة في(6) حالات بنسبة 5.9% ، وكرتزونات بنسبة 2% في 2 حالة فقط .



شكل (4-6) توزيع الإصابات حسب التاريخ المرضي(عقاقير طبية,أمراض).

أن للحمل تأثير واضح على زيادة مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة,حيث ان المرأة الحامل تعاني وخاصة في الثلاث الأشهر الأخيرة من تغيرات في معدلات كل من الاستروجين والبروجيستون وهرمونات اخرى مما يؤدي الى تجمع السوائل بالعين فيحدث تغير في شكل القرنية لتورم القرنية لتلتصق بها العدسة اللاصقة تاركة مجالا صغيرا للطبقة الدمعية التي تلامسها العدسة فيؤدي الى الشعور بعدم الارتياح (Gary and Aggarwal , 2012)،ان هرمون الاستروجين يلعب دورا هاما في تكوين الطبقة الرقيق للدمع ,كما وينخفض معدل الاستروجين قبل

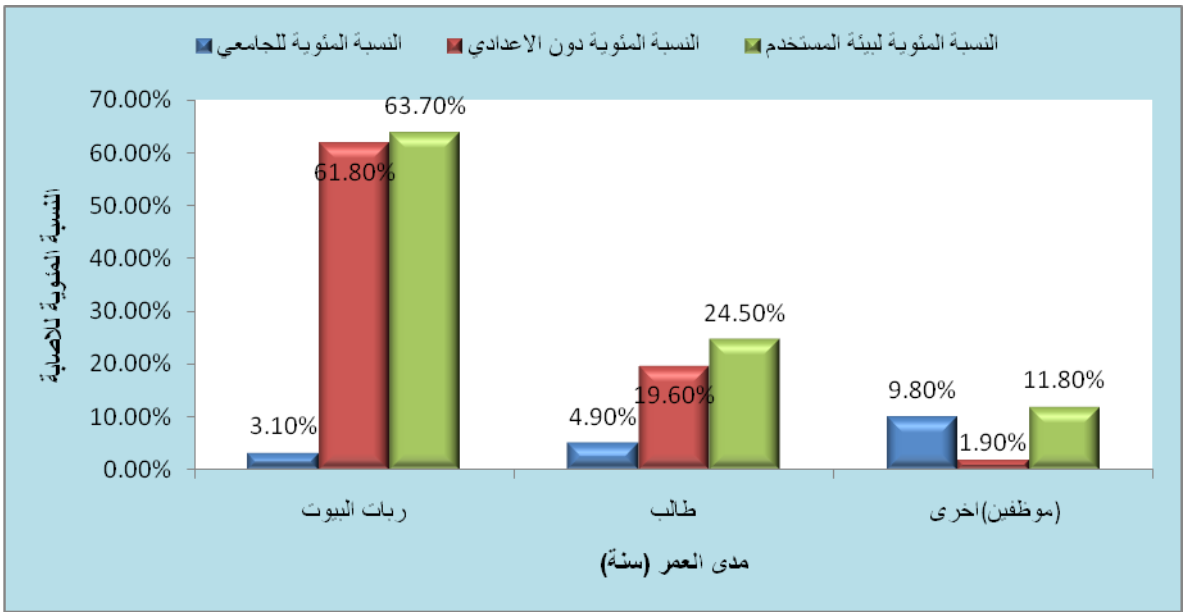
اسبوع من الدورة الشهرية مسببا تبخر الطبقة الدمعية بشكل غير طبيعي لينتج عن ذلك جفاف العين وحرقة وعدم وضوح بالرؤية وغالبا ما تختفي هذه المشكلة عندما تبدأ الدورة الشهرية وكذلك بعد الولادة وخلال ستة اسابيع يرجع كل شئ لطبيعته وخاصة بعد فطم الطفل من الرضاعة ,وهذا يحدث مع العدسات الصلبة واللينة للاستعمال اليوم Omoti *et al*., 2008 ;ODonnell and Efron , 2012

اما اثناء تعاطي العقاقير الطبية فأن لم يكن لاستخدام العدسات اللاصقة من دواعي طبية فلا ينصح بارتداء العدسات اثناء تناول ادوية اخرى مثل حبوب منع الحمل التي لها نفس تأثير الحمل على مستخدمي العدسات اللاصقة من حيث تغير في شكل القرنية Pilas-Pomykalska *et al*.,2005 .

هناك من الادوية ما تغير لون العدسة مثل الريفامبسين , السالفاسالازين ,اما قطرات العيون فتستخدم تلك التي لاتحتوي على مواد حافظة او مع العدسات الصلبة فقط.

3.3.4 **بيئة المستخدم ومستوى التعليم** :

بينت النتائج ان النسبة الاكبر من اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة كانت بين ربات البيوت لـ(65) حالة بنسبة 63.70%، وبنسبة 61.80% مسجلة في (63) حالة ممن لم يحملن الاعدادية ,اما فئة الطلبة وفئة مصابين آخرين يمارسون مهن مختلفة فكانت نسبة الإصابة لديهم 24.5% لـ(25) حالة و 11.8% لـ(12) حالة على التوالي.



شكل(4-7) :توزيع إصابات مضاعفات استخدام العدسات حسب بيئة المستخدم ومستوى التعليم

وبمقارنة هذه النتائج مع دراسة اجريت في استراليا يلاحظ ان نتائج الدراستين منسجمتين من حيث النسبة الاقل للاصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة بين مجاميع الطلبة والمهن الاخرى والتي وصفت بـ(بيئات مثالية) بنسبة 9.3% فيما كانت نسبة الاصابة في البيئات غير المثالية للمستخدم بنسبة 19.2%.

ويمكن تفسير ذلك بانه البيئات المثالية كما وصفت تعزز الظروف الطبيعية الصحية الملائمة لبيئة عمل المستخدم للعدسات اللاصقةOzkan *et al.*,2010. حيث ان الاستعمال الخاطئ للعدسات لقلة الثقافة الصحية وانخفاض مستوى التعليم ادى الى زيادة نسب الاصابة بالتهاب القرنية الميكروبي:(الفطري و الاميبي) Patel and Hammersmith,2008.

اشارت دراسة Anger and Lally(2008) بأنه يمكن اختزال الاصابة بالتهاب القرنية الطفيلي بزيادة مستوى التعليم والتثقيف حول كيفية العناية بالعدسات من محاليل حفظها وكيفية تنظيفها حيث ان كل محاليل الحفظ يمكن ان تصبح ملوثة .

ان ازدياد نسبة تلوث العدسات اللاصقة المؤدي الى زيادة نسب الاخماج المرافقة لاستخدام العدسات اللاصقة لا ينتج فقط من عدم الامتثال للظروف الصحية, وانما ايضا لقلة المعلومات الصحية الضرورية بين المستخدم والأطباء مثل كيفية التعامل والعناية بالعدسات من محاليل تنظيف وحفظ. اذ حتى يومنا هذا يحصل المستخدم على العدسات الاصقة بشرائها بشكل ذاتي من المحال التجارية غير المرخصة وبدون استشاره او رقابة طبية او حتى ارشاد من طبيب او صيدلي لذلك صنفت هذه الحالة من المشاكل الحقيقية والاساسية المرافقة لزيادة الاصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة، كذلك من يستعمل العدسات اليومية لفترة اسبوع كامل ليلا ونهارا وهو يضع العدسات على عينه بإسراف من دون وعي بكيفية استخدامها او مدى الضرر الذي يمكن ان تسببه العدسات Padmaja *et al* ., 2000.

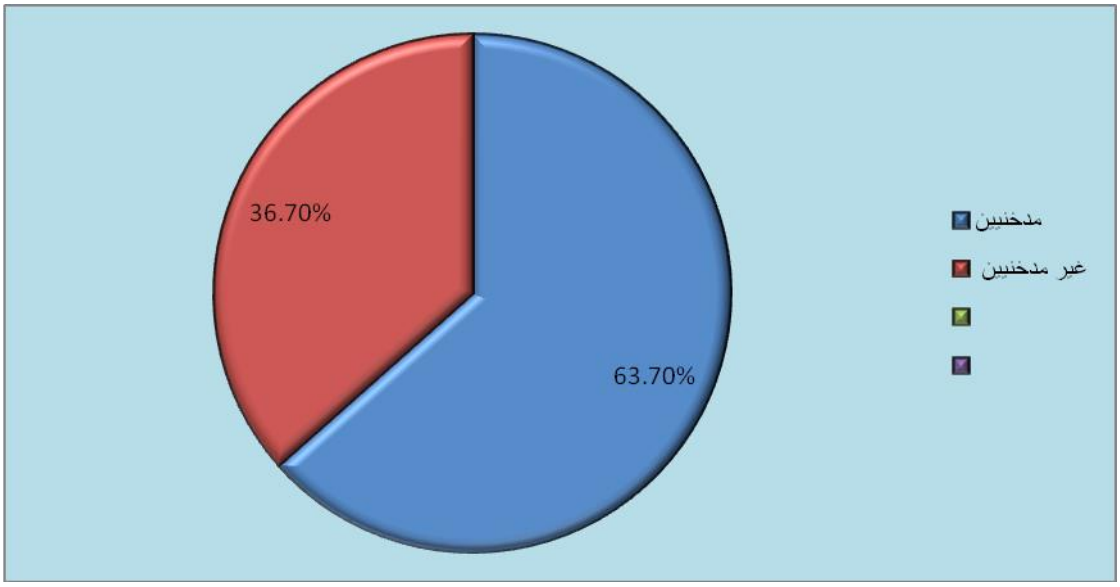
وان النتائج التي توصل اليها للدراسة الحالية تتفق نوعاً ما مع ما توصل اليه Najjar واخرون 2004 في دراسة اجريت في قسم العيون لمستشفى (ولس) اشترك

فيها الاف المرضى من الراقدين في المستشفى نتيجة تلوث القرنية. وجد ان ثلث الحالات نتجت من الاستعمال الخاطئ للعدسات مثل عدم الاكتراث لانتهاء صلاحية العدسات او كيفية العناية بالعدسات وان معظم محاليل التعقيم والتنظيف المستخدم في الاسواق حاليا غير قادرة على تعقيم وتطهير العدسات من الملوثات الميكروبية وخاصة جنس *Acanthamoeba* .

وبالتالي يعود السبب في زيادة نسبة الاصابة لمستخدمي العدسات اللاصقة الى قلة الوعي الصحي والثقافي عند ربات ربات البيوت الاميات وكذلك عند حاملات الشهادات دون الاعدادية .

4.3.4 **التدخـــين** :

بينت النتائج ان النسبة الاعلى في مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة كانت بين المستخدمين المتواجدين في بيئة المدخنين 65 حالة بنسبة 63.7% من مجموع الحالات الذين شملتهم الدراسة في حين كانت الاصابة في غير المدخنين 37 حالة بنسبة 36.3% شكل (4-9).



شكل (4–8) توزيع اصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة

حسب تأثير التدخين

تعد هذه النتائج مؤيدة لما توصل اليه Liesegan (1997) ان النسبة الاكبر للاصابة بالتهاب القرنية الطفيلي في الدراسة التي اجراها كان سببها تأثير بعض العوامل منها التدخين وانخفاض المستوى الثقافي والاجتماعي على زيادة نسبة الاصابة.

كما اشارت الدراسة التي اجراها Jansen وجماعته2011 لـ(3211) مريض من مستخدمي العدسات اللاصقة اللينة من النوع طويلة الاستعمال ،ان كلا من التدخين والاصابة بقصر البصر وعمر المستخدمين الشباب في الاعمار18-25 سنة تأثيرا واضحا على البيئة البصرية اثناء استخدام العدسات اللاصقة الممتدة الاستعمال واليومية النبيذة.

وقد اوضحت نتائج دراسة Fion واخرون2012 في استراليا عند دراسته للعوامل المؤثره في التهاب القرنية الجرثومي المعتدل والحاد, لـ(90) حالة مرضية من مستخدمي العدسات اللاصقة اللينة للاستعمال اليومي حيث لاحظوا ان نسبة31%المستخدمين المتأثرين بالتدخين الذي اعتبر من العوامل المؤثرة والمهمة في التهاب القرنية الميكروبي المرافق لاستخدام العدسات اللاصقة.

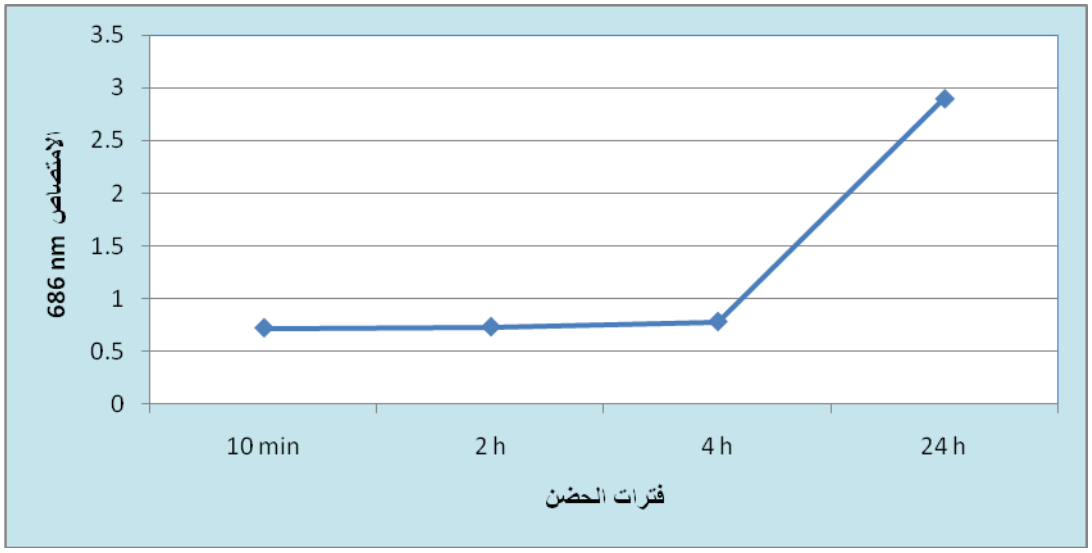
الا ان نتائج الدراسة الحالية جاءت مختلفة الى حد كبير مع نتائج الدراسة التي اجراها Gabela واخرون (2003) ، على60 مستخدم لعدسات اللاصقة اللينة اختيروا بصورة عشوائية اذ قسموا النماذج الى ثلاث مجاميع غير مدخنين , مدخنين بنسبة اقل من15سيجارا خلال اليوم , والاخر مدخنين لاكثر من15 سيجارا خلال اليوم الواحد وقد تم فحص النماذج بواسطة المجهرSlit lamp وصبغة الفلورسين لتحديد علاقة اعراض وعلامات جفاف العين بالتدخين ،فلاحظوا ان التدخين لم يظهر اي تأثير او علاقة بين بيئة التدخين وجفاف العين او اعراضها في مجتمعات مستخدمي H.C.L .

4.4 تحليل قابلية الالتصاق للعزلات المايكروبية بالعدسات اللاصقة وتأثير بعض العوامل فيها:

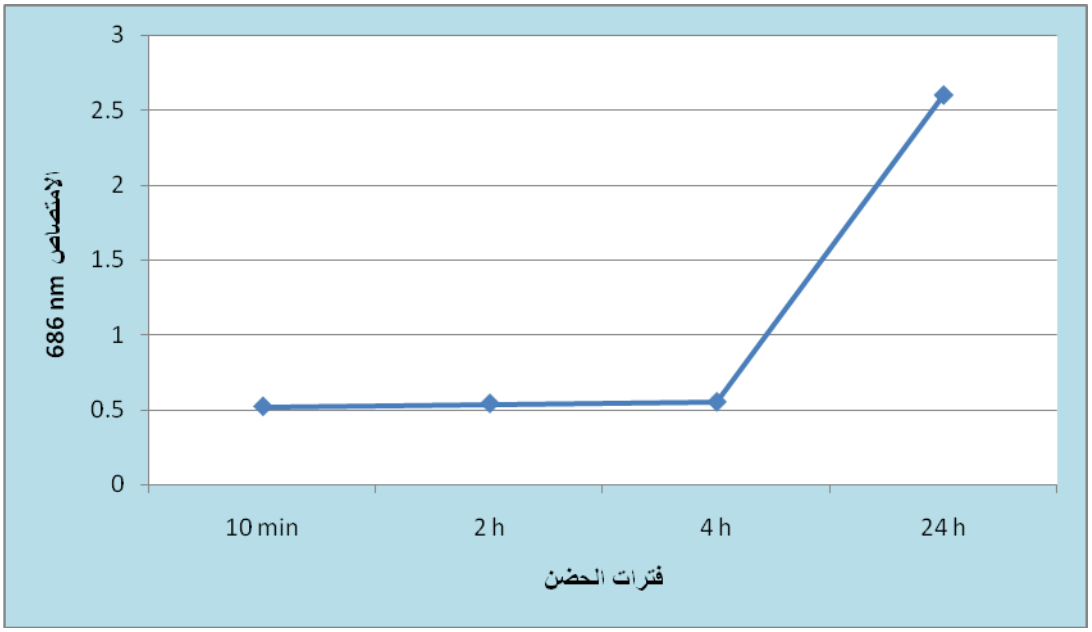
اختبرت قابلية العزلات المايكروبيه المسببة لمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة والمنتخبة من بين 64 عزلة مايكروبية لما تمتلكة هذه العزلات من قابيلية التصاقية عاليه على الاسطح المختلفة وخاصة العدسات اللاصقة ذات الخصائص المختلفة فيما بينها واهمها المحتوى المائي للعدسات، والمادة الداخلة في صناعتها وخلال فترات زمنيه مختلفة وكما حددت اعداد خلايا العدلة Neutrophils بطريقه Coffin,1957 . ويظهر من الجدول (4-2) الذي يضم نتائج قياس الكثافة الضوئية Optical density (O.D) لكل عزلة مايكروبية ملتصقة على العدسات اللاصقة. كذلك اعداد خلايا Neutrophil المرتشحة حسب النوع المايكروبي ،

اظهرت عزله *Pseudomonas aeruginosa* اعلى نسبه للالتصاق خلال فترات الحضن المختلفة من مجموع العزلات المنتخبة للدراسة الحالية, تلتها بكتريا *Staphylococcus aureus* ثم *Staphylococcus epidermidis*, في حين كان فطر*Aspergillus niger* هو الاقل التصاقا .

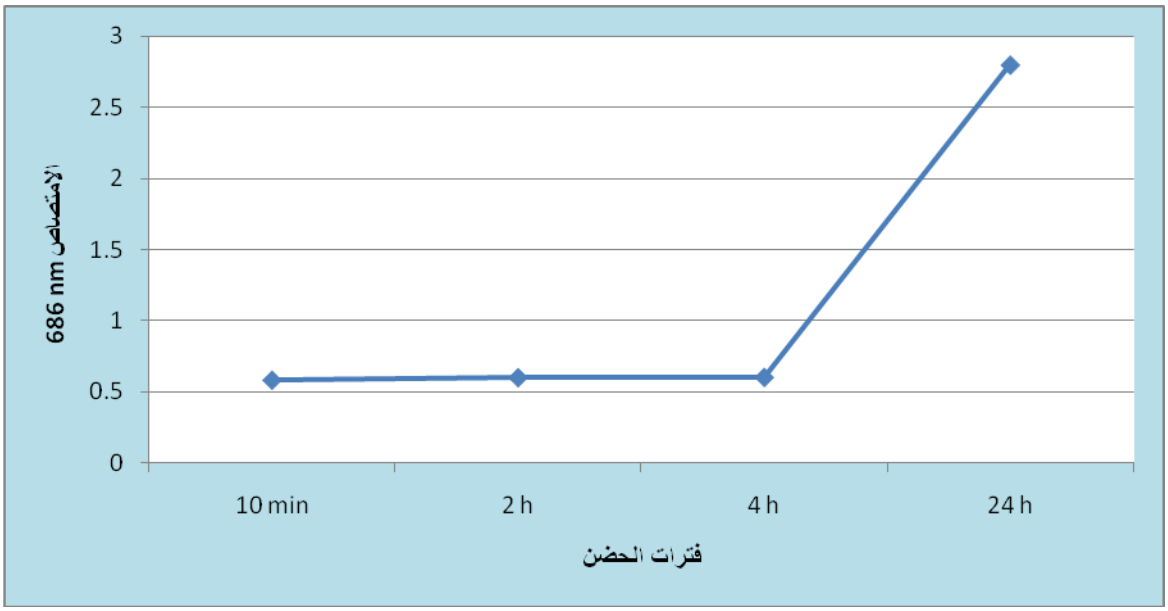
لوحظ اختلاف في اعداد الخلايا المايكروبية الملتصقة بالعدسات اللاصقة بين كل من فترات الحضن المختلفة والاجناس المايكروبية اذ كانت الاعداد المايكروبية الملتصقة في كل العزلات خلال فترة الحضن24 ساعة هي الاعلى نسبه بين فترات الحضن 10دقائق و2,4 ساعه , لتزداد اعداد الخلايا الملتصقة بصورة غير ملحوظة قليلة خلال فترة الحضن 2 ساعة ,لتستمر في الزيادة للاعداد المايكروبية الملتصقة خلال 4 ساعات .توضح الاشكال 4-13,12,11,10 الكثافة الضوئية للميكروبات الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات الحضن المختلفة لكل نوع مايكروبي،حيث تظهر الاشكال زيادة الكثافة الضوئية عند طول موجي 686 nm بعد فترة 24 ساعة من النمو لجميع العزلات قيد التجربة .



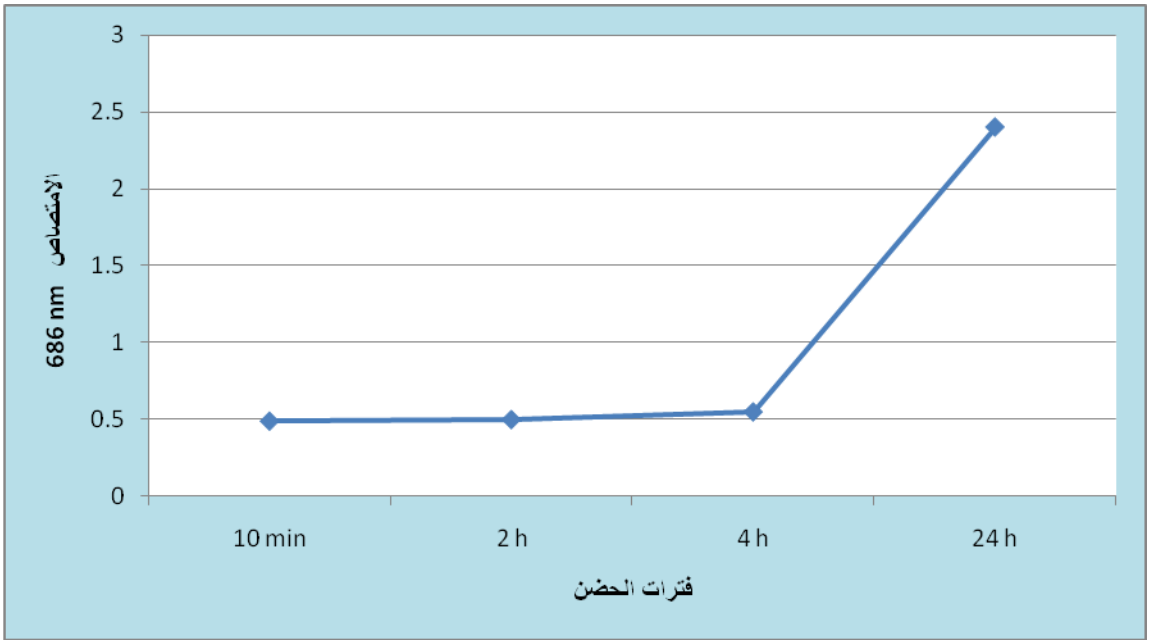
شكل (4-9) الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات الحضن المختلفة لنوع (*Pseudmonas aeruginosa*)



شكل (4-10) الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة لفترات الحضن المختلفة لنوع(*Staphylococcus epidermidis*)



شكل (4-11) الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات حضن مختلفة لنوع (*Staphylococcus aureus*)



شكل (4-12) الكثافة الضوئية لاعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة خلال فترات حضن مختلفة لنوع (*Aspergillus niger*)

كما تم التحري عن خلايا Neutrophil في31 نموذج من حالات مختلفة لاصابات مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة.

حيث كانت النسبة الاعلى لخلايا Neutrophil مع الاصابه ببكتريا *Pseudomonas spp.* وباعداد اكثر من16000 Tu.mm لـ7حالات بنسبه 22.6%, وتلتها الاصابه ببكتريا *Staphylococcus aureus* حيث كانت اعداد الخلايا المرتشحه فيها 800-16000 Tu.mm, ثم للخلايا مابين 4000-8000 Tu.mmلانواع البكتريا *Bacillus spp.*, *Streptococcus spp.*

امالعدد(500-1000) Tu.mm , مرتبطة بالنوع البكتيري *Staphylococcus epidermidis* والتي تمثل النسبة الاقل .ان اغلب الدراسات بهذه المجالات اظهرت ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي الاعلى نسبة التصاق في وقت قصير من الانواع البكترية الاخرى على كافة انواع العدسات.

جدول (4-2) :نتائج قياس الكثافة الضوئية (O.D) للعزلات الميكروبية الملتصقة بالعدسات اللاصقة واعداد (PMNs) لكل نوع ميكروبي.

نوع المايكروب	فترة الحضن				اعداد Neutrophil
	10دقائق	2ساعه	4ساعه	24ساعه	
	الكثافة الضوئية (O.D) عند طول موجي 686nm				
Pseudomonas aeruginosa	0.720	0.730	0.780	2.98	>16000
Staphylococcus epidermidis	0.520	0.540	o.590	2.6	1000-500
Staphylococcus aureus	0.580	0.598	0.650	2.8	16000-8000
Aspergillus niger	0.490	0.500	0.590	2.4	

George واخرون2003 ان الوقت المطلوب لالتصاق البكتريا وتكوين الغشاء الحيوي على اسطح العدسات اللاصقة يختلف بأختلاف الانواع البكترية, فالتصاق بكتريا *Staphylocococcus epidermidis* على العدسات من نوع اللينة تميل الى الزيادة ببطئ حتى فترة 2 ساعة ،بينما بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تلتصق على العدسات خلال 5 دقائق .

اما Miller (1987) فقد لاحظ ان عزلات بكتريا *Pseudomonas* غير المخاطية تزداد مع الوقت التصاقا بالعدسات بعد 3 ساعات فقط ومن ثم تبقى الاعداد البكترية ثابتة .لاحظ الباحثون خلال سلسلة من الدراسات منها دراسة Stapleton *et al* .,1993 ان سرعة التصاق الخلايا في العالق البكترية ذي العدد 10^7 بالعدسة يكون خلال فترة أقصاها 45 دقيقة ليتكون بعدها الغشاء الحيوي، وهذا ما اكده Williams واخرون 2003ايضا حيث حدد ان اعظم تركيز للبكتريا 1×10^7 الى 1×10^9 عدد الخلايا / 1مل في العالق البكتري ينتج عنه اعلى اعداد من البكتريا الملتصقه بالعدسات اللاصقة. حيث حدد اعلى التصاق للبكتريا في العالق ذي التركيز 1×10^9 عدد الخلايا / 1مل باستثناء *Psedumonas spp.* يكون اعلى التصاق لها بتركيز 1×10^8 عدد الخلايا / 1مل .

لاحظ Bruinsma وآخرون 2001 أن الأحياء الأعلى التصاقا بأسطح العدسات اللاصقة عاده تلك التي تكون اسطح خلاياها ذات خاصية كاره للماء.كما في بكتريا *Pseudomonas* اكثر من *S. epidermidis*.

بينت الدراسات التي قام بها Henriques واخرون 2005 ان اعلى اعداد اللاتصاق للخلايا البكترية التابعة لجنس *Pseudomonas* يكون عاده للعزلات المعزولة من قرنية الانسان خلال الاصابة بالتهاب القرنية الميكروبي المرافق لاستخدام العدسات من البكتريا المعزولة من باقي اجزاء الجسم لذلك فان الاحياء ذات الاسطح الكارهة للماء اعظم التصاقا من سلالات الاحياء ذات الخاصية المحبة للماء.

اما الدراسات التي اجراها Fleiszig واخرون (1996) فقد بينت ان للبكتريا *S. epidermidis* تستطيع الالتصاق بانواع مختلفة من الاسطح لامتلاكها عوامل ضراوة مكونة طبقة مخاطية Slime (Exopolysaccharide) لذلك فان تنوع قابيلية الالتصاق *S. epidermidis* بالمواد المختلفة الحيوية متصل ربما بغياب مركبات داخل خلوية مثل operon هو من المحفزات لتكوين طبقة Polysaccharide inter cellular .

اما ما لوحظ في العديد من الدراسات لباحثين ان *Pseudomonas spp.* أعظم التصاق لها هو على العدسات غير المستعملة من النوع اللينة مقارنة بالـ *S. epidermidis*. توصل Bandara 2004 ان كلا من *Pseudomonas.* *Staph*ylococcus. الاكثر الالتصاق على العدسات غير المستعملة في معظم الدراسات الاخرى.

هناك دراسات اهتمت بالمغذيات الموجودة في تركيبة العالق البكتري من العوامل المهمة في تحديد اعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اثناء دراسة خارج الحي لذلك من الضروري الاهتمام بنوع العالق البكتري المستخدم للتجربة,

ففي الدراسة التي اجراها Kadjikia واخرون 2008 بأستخدامة محلول Buffer phosphate saline (BPS) المحدود المغذيات فأختلفت اعداد البكتريا الملتصقة بالعدسات اللاصقة والاسطح المختلفة الاخرى ،وعلى الرغم من قلة المغذيات في (Bpo) الا انه استخدم بكثرة في الدراسات كعالق بكتري لتوفيره pH=7 وضغط اوزموزي جيد فيعطي افضل نتائج التصاق للانواع البكترية Duran *et al.*,1987; Borazjani *et al.*,2004 .

اما Randler واخرون (2010) استخدم الدموع الصناعية كعالق بكتري لما توفره من ضغط اوزموزي و شحنات ايونية مماثلة لما موجود في الدموع الطبيعيه داخل الحي .

لذلك لوحظ تباين في نتائج مستوى الالتصاق للانواع المايكروبية بين الدراسات المختلفة الى اختلاف الاوساط المستخدمة كعالق بكتري فقد يتعلق بالتركيز الايوني وشحنته وكذلك للمغذيات الموجودة فيه Cowell *et al.*,1999.

اما خصائص العدسات اللاصقة فلها تأثير مباشر على التصاق المكروبات بالاسطح المختلفة لذلك يجب تميز خصائص العدسات ، فالتباين في نتائج الالتصاق يعتمد بصورة اساسية على المحتوى المائي للعدسات اللاصقة حيث يزداد الالتصاق عكسيا مع المحتوى المائي (Kodjikian *et al*.,2008) .

الا ان الدراسة التي اجراها Miller and Ahearn 1987 أكد عدم وجود علاقة قوية بين المحتوى المائي والالتصاق المايكروبي بالعدسات اللاصقة.

ومن اهم العوامل التي تم التأكيد عليها اثناء الدراسة الحالية هو اعداد Nutrophil المرتشحة لما له من تأثير واضح على الالتصاق البكتري باسطح العدسات اللاصقة.

توصل Quinn واخرون (2009) ان هناك علاقة مابين اعداد (PMNs) المرتشحة وتطور تكوين الغشاء الحيوي المتكون اذ وجدوا انه عند موت Nutrophil المتجمعة في موقع الاصابة تحرر اشرطة من DNA,F-actin تعزز من التصاق البكتريا وتكوين الغشاء الحيوي ,

الا ان وجود انزيم DNase يعمل على تدمير الغشاء الحيوي المتكون بفعل بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المسببة للالتهاب القرنية الميكروبي بفعل استخدام العدسات اللاصقة لذلك عند معالجة الغشاء الحيوي بانزيم (DNase) اثناء 48 ساعة يختزل 24% بفترة 10 دقائق .

أشار كلاً من Daniell واخرون 2011 انه خلال 24 ساعه بوجودNeutrophil يعزز التصاق المايكروبات الغازية في منطقة الاصابة كما لاحظوا انه باتحاد DNaseوحامضAspartic acid يختزل 79.2% من التصاق المايكروبات على عدسات (H.C.L).

لذلك تبين ان هناك علاقة واضحة بين طول فترة ارتشاح Neutrophil ومدى ضرر القرنية وقد اكدت ذلك نتائج الدراسة الحالية عند ربط اعداد Neutrophil المحسوبة واعداد ونوع البكتريا المسببة للاصابة.

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusion :

1. شكلت الانواع البكتيرية العائدة لجنسي العنقوديات *Staphylococcus* و الزوائف الزنجارية*Pseudomonas aeruginosa* الاكثر شيوعا في احداث اخماج مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة ,فيما تعد الفطريات الخيطية من مسببات الرئيسية التهاب القرنية الفطري اما الخمائر فكانت في الماضي هي السائدة .ويمكن لطفيلي *Acanthamoeba* ان يلعب دورا مهما في التهاب القرنية الاميبي والذي يمتاز بخصائص من اهمها صعوبة التشخيص والعلاج .
2. ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* هي الاكثر التصاقا باسطح العدسات بكافة انواعها خلال الفترات الزمنية المختلفة للحضن ,فيما يعد فطر *Aspergillus niger* الاقل التصاقا.
3. زيادة معدل الاصابة بمضاعفات استخدام العدسات اللاصقة في ربات البيوت مقارنة بنسب الفئات الاخرى من الطلبة, المهن الاخرى.
4. ان اكثر مضاعفات استخدام العدسات اللاصقة شيوعا هو خدش القرنية Corneal abrasionتلتها الاصابة بالتهابات القرنية الجرثومي Microbial keratitis .
5. ان الفترة الزمنية 24 ساعة حضن عي اعلى نسبة التصاق للخلايا المايكروبية .

التوصيـــات Recommendations :

1. ايلاء البكتريا العنقودية *Staphylococcus spp.* اهمية في معالجة وانتخاب المضادات المناسبة للحد من تأثير هذه البكتريا في احداث التهابات.
2. اجراء بحوث لاحقة تهتم بعزل طفيلي *Acanthamoeba* من حالات التهاب القرنية الأميبي ودراسة اثره في العين.
3. اعداد دراسات اخرى تركز حول دور الفطريات والخمائر في احداث الامراضية للالتهاب القرنية الفطري .

4. اجراء فحص طبي للعين من قبل الطبيب المختص مثل اختبار قياس تحسس القرنية، فحص الخلايا والتراكيب الداخلية للقرنية والتأكد من عدم وجود جفاف بالعين وبناء على ما يسفر عنه الفحص قد ينصح بأرتداء نوع معين من العدسات يتناسب مع الحالة اوقد يمنع استعمالها.

ملحق رقم (1)

استمارة معلومات خاصة بالمرضى

*حقل المعلومات العامة :

1- رقم العينة Sample number =

2- تاريخ اخذ العينة =

3- التهاب في العين : اليمنى = , اليسرى = , كلتا العينين =

4- الاسم Name :

5- العمر Date of birth :

6- الجنس Sex :

7- الحالة الاجتماعية : متزوجة = , لديها اطفال= , انسة =

8- السكن :

9- التحصيل الدراسي:

ابتدائي = , متوسط = , اعدادية = , جامعية =

المهنة Occupation :

طفل = , طالب = , موظف = ,متقاعد = , ربة منزل = ,

عاطل عن العمل =

10- نوع العدسة

- تجميلية =
- علاجية =

11- مدة ارتداء العدسة قبل ظهور الأعراض ( ) وقت ارتدائها ( )

12- نوع محلول التنظيف (كيفية تنظيف العدسة) :

13- نوع محلول الحفظ:

14- هل تم ارتداء العدسات أثناء النوم : نعم = , لا =

15- هل العدسة ملك للمريض : نعم = , لا =

إذا كلا هل الشخص السابق يعاني من مرض معين في العين ( )

16- هل تم تناول أي علاج قبل الفحص لا = ,نعم = نوعه=

*حقل التاريخ المرضي Medical history :

1- التاريخ المرضي :

=Ve-

=Ve+

نوع المرض :

سكر , ضغط , التهابات داخلية ،

حساسية موسمية : , حساسية دائمية:

2- يتناول ادوية :

=Ve +

** نوعها =

=Ve-

*هل يدخن او يوجد شخص مقرب يدخن =

* الاعراض Syndrome.

*الم	(نعم	, لا	)
*حكة	(نعم	, لا	)
* خراج	(نعم	, لا	)
* رهاب الضوء	(نعم	, لا	)
* الاحساس بجسم غريب	(نعم	, لا	)
* رؤية غير واضحة	(نعم	, لا	)
* تدمع العين	(نعم	, لا	)
* احمرار العين	(نعم	, لا	)
* تورم الاجفان	(نعم	, لا	)

* التشخيص السريري الطبي (Clinical examination)

*العـــلاج :

- Acharya,R.;Tan,W.L.;Ng,E.Y.K.;Min,L.C.;Chee,C.;Gupta, M.;Nayak,J.and Suri,J.S.(2008).The human eye.IN:Image Modeling of The Human Eye:Bioinformatice and Biomedical Imaging.(Acharya,R.U.;Ng,E.Y.K.and Suri,J.s.(eds))Artech House,Inc.pp.2.
- Abarca,M.;Bragulat,M;Castella, G. and Cabanes,F. (1994) Ochratoxin production by strains of *Aspergillus niger* Val.Appl. Environ. Microbiol,60(70):2650-2.
- Agia.E.K.;Cornet,M.;Pierre-khan,V.;Girard,A. and Hermis, F.(2005) *Acanthamoeba* stromal keratitis epidermology and prognosis Factor. J.Fr. Opthalmol., 28(9):933-8.
- Ajayi,B.G;Osuntokun,O.Kale,and T.A.Junaid.(1986)Orbial histoplosmosis duto Histoplasma.capsulatum var:duboisii: successful treatment with septrin.J.Trop.Med.Hyg.,89:179-187.
- Akpek,E.K. and Gottsch,J.D.(2003).Immune defense of at the ocular surface.Eye.,17:949-956.
- Alastair , K.O. and Phlip , J .M. (2009) . Oxford Hand Book of Ophthalmology . (2^{nd} ed) .
- Alberts, B. ;Johnson, A. ;Lewis, J. ;Ralf, M.; Roberts, K. and Walter, p.(2002).The Adaptive Immune System in Molecular Biology of the cell.(4^{th} ed.).Garland science: New York.
- Alberts, R.(2005). Leukocyte functions and percentage breakdown.

- Alfonso, E.c.; Cantu-Dibildox, J; Munir,W. M ;Miller, D.;O Brien, T.P. and karp, C.L.(2006) surgence of *Fusarium* keratitis associated with contact lens wear. Arch. Ophthalmo ; 24:941-947.
- AL-Yousuf ,N.(2009).Microbial keratitis in kingdom of Bahrain :clinical and misrobiology study.MEAJO. ,16(1)3-7.
- Andrew, S.E. ;Nguyen, A. ;Jones, G.L. and Brook, D.E.(2003). Seasonal effects on the aerobic bacterial and fungal conjunctival flora of normal thoroughbred brood mares in florida. Vet Ophthalmol.96(1):45-50.
- Anger, C. and Lally,J. M.(2008). *Acanthamoeba*: a review of its potential to cause keratitis, current lens care solution disinfiction standards and methodologies, and strategies to reduce patient risk. Eye contact lens .34(5):247-53.
- Anisah,N.,Amal,H.Kamel,A.G.;Yusof,S.Noraina,A.R and Norhayati,M.(2005).Isolation of Acanthamoeba sp. From conjunctivalsac of healthy Individuals using swab.
- Anisah,N.;yusof.;wan,N.A;Noraina,A.R.and Norhayati,M. (2004). *Acanthamoeba sp*. isolated from salt water in the west coast of peninsular Malaysia . Tropical Biomedicine .,21(1):109-111.

- Argueso,P.;Balaram,M.;Spurr-michaud,S.;Keut mann,H. ;Dana,M.R. and Gipson,I.k.(2002).Decreased levels of the goblet cell muan mucac in tears of patients with sjogren syndrome.Invest Ophthalmol Vis Sci; 43:1004-11.
- Aristoteli, L.P. and willcox, M.D.(2001).Adhesion of *pseudomonas aeruginosa* ocular isolates to mucin. Clin Exp ophthalmol.,2,:143-146.
- Atlas,R.M. ;Parks,L. C.and Brown, A. E.(1995).Laboratory Manual of Experemental Microbiology, Mosby-year Book ,Inc, USA.
- Awwad,S.T.;Petrol,W.M.and Meculley,J.P.(2007)Updates in *Acanthamaeba* keratitis .Eye contact lens .,33(1):1-8.
- Bandara,B,; Sankaridurg ,P.and willcox,M.(2004).Non-steroidal anti inflammatory agents decrease bacterial colonization of contact lenses and prevent adhesion to human corneal epithelial cells. curr Eye Res..,29:245-51
- Banin, E.;K. M.Brady and Greenbery, E.P. (2006). Chelator-induced dispersal and killing of *pseudomonas aeruginosa* cells in abiofilm. APPI.Environ. Microbiol., 72:2064-2069.
- Barr,J.(2005).2004 Annual Report. Contact lens spectrum.
- Betty,A.F.;Daniel,F.S.and Alice,S.W.(2007).Bailey and scotts Dignostic Microbiology.(12th ed), Mosby

- Bharathi,MJ.;Ramakrishnan,R.and Meenakshi, C.S.(2007) Ulcerative keratitis associated with contact lens wear. Indian Journal of ophthalmology.,551:64-67.
- Borazjani, R. (2004).Relative primary adhesion of *Psedumonas aeruginosa, Serratia marcescens* and *Staphylococcus aureus* to HEMA-type contact lens of high oxygen permeability. Cont lens Anterior Eye.,27:3-8.
- Botton,E.J ; Madayag,R. M. and Qureshi, M.N.(1992) .Acanthamoeba keratitis :synergy between amebic and Bacterial contaminants in contact lens care system as aprelude to infection. J. Clin. Microbiol., 30:2447-2450
- Brinser,J.H. and Burd,E.M.(1986)Principles of Diagnostic Ocular Microbiology,In :K.F. Tabbara; and R.A.Hyndiuk (eds.).Infections of the eye,(1st ed).Little, Brown and company, Bostore73-92.
- -Bruinsma,G.M.; Vander Mei,HC.and Busscher,H.J. (2001). Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses.Biomaterials.,22(24):3217-24.
- Burd ,E.M.(1994). Bacterial Keratitis and Conjunctities (Bacteriology). In: Smolin, G. and Thoft,R.A.The cornea, Scientific foundation and clinical practice.(3th ed)., Boston, Little, Brown and company,115.

- Burg,N.D. and pillinger, M.H.; (2001).The neutrophil: Function and regulation in innate and humoral immunity. Clin Immunol.,99:717.
- Butrus,S.I.and Klotz,S.A.(1986).Blocking candida adherence to contact lenses. curr. Eye Res.,5:745-750
- Butter,T.K. ;Males, J.J.and Robinson,L.P.(2005).Six year review of Aanthamoeba kertitis in new south wales ,Australia:1997-2002.Clin Experment Ophthalmol.,33:14-46.
- Capriotti , J. ; Pelletier , J. and Shah , M. (2009) . Normal ocular flora in healthy eye from a rural population in serra Leone . International Opthalmology .,29:82 – 4 .
- Capriottl,J.A.;Pelletier,J.S.;Shah,M.;Caivano,D.M. (2009). Normal ocular flora in healthy eyes froma rural population in sierra leone. Int ophthalmol.,29(2):81-4.
- Cardine,S.;Bourciier,T.;Chaumeil,C.,Zamfir,O.,Borderie,V .and laroche,L(2002).Clinical management and prognosis in Acanthamoeeba keratitis a retrospective study of 25 cases. Journal francaisd ophtholmologie.,25(10):1007-10013.
- Chandler, J.W. and Gllette, T.E. (1983) Immunologic defense mechanisms o of the ocular surface.Ophthalmol.,90:585.

- Cheng, K. H.; Leung, S.L. and Hoekman, H.W. (1999). Incidence of contact lens-associated microbial keratitis and its related morbidity. Lancet.,354:179-83
- Clarke ,D. W. and Niederkon, J.Y. (2006).The pathophyscology of Acanthamoeba keratitis. Trends parasitol., 22(4) : 175-180
- Coffin,D.L.(1957).Manual of veterinarg clinical pathology .(3rd ed.). Bailliere, Tindal and cox, London.
- Cogen,A.; NiZet,v and Gallo,R.(2008).Skin microbiota: asource of disease or defense. Br.J. ophthalmology., 158:442-55
- Collel,J.G.; Fraster, A.G.; Marmion, B.P. and simons ,A.S. (1996).Laboratory strategy in Diagnostic of Infection syndromes .In pratical med. Microbiology, eds. Mackie and mccarting. (14thed.). Churchill ivingstone. D.
- Collins,C.H.and Lyne, P. M.(1987). Microbiological methods (5th ed). Churchill lvingstone, Newyork.
- Cowell,B.; willcox, M.; Herber t,B. and Schneider, R. (1999). Effect of acteristics of *Pseudomonas aerginosa*. JAPP Microbiol 86:944-54
- Cronin,B.;Todd,B.and Lee,G.(2007)The redeye in contact lens wears-ahigh risk presentation. Aust .Fam .physician., 36(10):831-2.

- Cruikshank, R.;Duguid, J.P.; Marmion,B.H. and Swain ,R.H.A. (1975).Medical Microbiology.(12th ed.)Churchill Livingston ,London.
- Daniell,M.R.;Quinn,M.P.;Robert,L.Y.;Jennifer,K.;Katie,R.P.;Ken neth, C.M.;David,P. N.and Jery,A.N.(2011).Disruption of contact lens-Associated *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms form ed in the presence of Neutrophils. lnvest Ophthalmol Vis Sci., 52(5) :2844-2850.
- Davey, E.P. and Toole, A.G.O. (2002).Microbial Biofilm., from ecology to molecular genetics. Microbial Mol., 64:847-86.
- Debarun, D.; Nerid, C. and mark, W. (2012). Factors influencing bacterial adhesion to contact lenses.MV., 18:14-21.
- Donnio, A.;D.N.G. VanNuoi.; M. Catanese., N. Desbois, L.; Ayeboua. And Merle. (2007). Out break of keratomycosis attributable to *Fusarium solani* in the French west Indies.Am.J.ophthalmol.,143:356-358.
- Duran,J.; Refojo, M. ;Gipson,I .and Kenyon,K. (1987). *Pseudomonas* attachment to new hydrogel contact lenses. Arch Ophthalmol.,105:106-9.
- Faik, A.J. (2001).Bacterial etiogensis of corneal ulcer among patients at Ibn AL-Haythm Teaching Hospi tel for eye dis eases.A thesis submitted to the college of medicine AL-Mustansiriyah University.

- Fedukowicz.H.B. and Stenson,S.(1985).External infections of the eye,(3rd ed).APPleton-century-crofts, Norwalk,1-118,249-56.
- Fion, P; Carney; Carol, A.M.; Bruce, M.; Judithl. F. and Mark ,D. and Willcox,W .(2009).In vitro Adsorption of Tear proteins to hydroxye thyl methacrylate-Based contact lens materials.Eye and Contct lens.,35(6):320-328
- Fiona,S.; Katie,E.; Lisa,K.; Thomas,N.; John,K.John,K.and Garry,B.(2012).Risk factors for Moderate and severe Microbial Keratitis in Daily wear cotact lens Users.Oph .source.
- Fleiszing, S. ;Evans, D. ;Mowrey-Mckee, M.; Zaidi, T. and muller, E. (1996). Factors affecting staphylococcus epidermidis adhesion to contact lenses. Optom Vis Sci. ,73:590-4.
- Fonn, D.(2007).Targeting contact lens induced dryness and discomfort :what properties will make lenses more confortable. Optom Vis Sci.,84(4):249-85.
- Forbes , B.A. Sahm, D.F.and weiss feld .A.S(2002). Baily and sccotts Diagnostic Microbiology.(11th ed)
- Fredrickson,A.B.(1969). Behavior of mixed culture of microorganisms. Ann .Rev .Microbiol.,31:63 .

- Gabela,M.M.;Ganzalez,G.M.;Mayo.I.A.and Calonge,C.M. (2003).Dry eye signs and symptoms in hydrogel contact lens wearers: relation to smoking habit. ArchSoc Espoftalmol. ,78(10):543-8.
- Galentine,P.G. ;Cohen,E.J.;Laibson,P.R.;Adams.C.P.Michaud,R. and Arentsen,J.J.(1984).Corneal ulcer associated with contact lens wear.Arch Ophthalmol.,102(6):891-894.
- Gary,P .and Aygarwal,P.(2012)..Ocular changes in pregnancy .Nepal J Ophthalmol .,4 (7):150-61.
- George, M. ; Ahearn, D. and pierce, G..(2003). interactions of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* in adhesion to ahydrogel.Eye contact., 29:105-9.
- Gerda M,B.;Minie,R.A.;Henny,C.Vander,M. ; Carol.L .and Henk,J.B.(2006).Resistance to apolyquaternium-1 lens care solution and isoelectric points of psedumonas aeruginosa strains.JAC.,57(4):764-766.
- Giraldez, M.; Resua, C.;Lira, M. and yebra-pimenrel ,E. (2010).Contact lens hydrophobicity and roughness effects on bacterial adhesion. Optom VisSci.,87:E426-31.
- Good, N.E. and Izawa, (1972). Hydrogen ion buffer In:methods in Enzymology. (Ed. Sanpietor ,A.),XXIV: Part B.Pp:53-68.

- Gray,T.B.; Cursons, R.T.M. ;Sherwan, J.F. and Rose, P.R. (1995). *Acanthamoeba* bacterial and fungal contamination of contact lens storage cases. Br.J.ophthalmol.79:601.
- Hall-Stoodley.; Costerton, J.W .and Stoodley, P. (2004). Bacterial Biofilm : from the natural environ ment to in factious diseases . Microbilogy.,(2):95-108.
- Hammersmith, K.M.(2006).Diagnosis and management of *Acanthamoeba* keratitis. Corropin Ophthalmol.,17(4):327-331.
- Hartenbaum , N. and Stack , C. (1997) . color vision deficiency and the X- chromlens . Occupational health and safety ., 66(9) : 36-40 .
- Heitz,R.F. and Enoch,J.M.(1987).Leonardo davinci:An assessment on his discourses on Image formation in the ey.Advances in Diagnostic visualoptics.,19-26.
- Helen,K.; Gunisha,P. ;Savitri, sh. and Norjahan, P.(2008). Effect of Human Tears on Acanthamoeba- Induced cytopathic Effect. Arch ophalmol.,126(3):348-352.
- Henriques,M. ;Sousa, C.;Lira,M.; Elisabete,M, ;Oliveira, R.and AZeredo ,J. (2005). Adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcous epidermidis* to silicone-hydrogel contact lens. Optom Vis Sci.; 982:446-50.
- Henriques,M.;Sousa,C.;Lira,M.;Elisabete,M.,Oliveira.R.and Azeredo,J.(2005).Adhesion of pseudomonas aeruginosa and staphylococcus epidermidis to silicone-hydrogel contact lens.OptomVis Sa.982:446-50

- Holling sworth, J.G. and Efron, N. (2004). Confocal microscopy of the long-term rigid contact lens wears. Contact lens Anterior Eye.,27(2):57-64.
- Holt,J.G.;Krieg,N.R.; Sneath,H.A. Staley,J.T.and Willams, S.T (1994).Bergs manual of Determinative Bacteriology (9^{th} ed) Williams and wilkins.U.S.A.Pp:479-484.
- Jansen,M.E.;chalmers,R.;Mitchell,G.L.;Kinoshita,B.T.; -Lam,D.Y.;McMahahon,T.T;Richdale,K.;Sorbara,L.and Wagner,H.(2011).characterization of patients who report compliant and non-compliant overnigh wear of so FL Contact lenses.cont len Anterior Eye.,34(5):229-35.
- Jesse,P.and Joseph,C.(2010).Take acloser look at the flora ocular.ophthalmology management.
- John,S:(2004).Contact lens complications.Medieine.com
- Jones,L.; Mann,A.; Evans,K.; Franklin,V.and Tighe,B. (2000). An Invivo comparison of the kinetics of protein and lipid deposition on group ll and group IV frequent-replacement contact lenses. Optom Vis Sci.,77:503-510.
- Jonston . (2009).Resistance of Acanthamoeba cycts to dis infection in multiple contact lens solution. Journal of clinical microbiology:2040-2045.
- Joslin, C.E. and McMahon, T.E. (2006). Epidemiology characteristics of a chicago-area *Acanthamoeba* keratitis out break.Am.J.ophthalmol,142(2):121-217.

- Kanski , J.J. (2011) . Clinical ophthalmology asystematic approach . (7^{th} ed) . Butter and Tannerlead , London .
- Khalid, F.T.; Hisham, F.EL. and Bassam, A. (2000). Extended wear contact lens related bacteria keratitis.B,J. Opthalmol.,84:327-328.
- Khuran , A. K. and Indu , KH. (2009) .Anatomy and physiology of Eye . (2^{nd} ed) .Swastik packagings , Patpar Ganj , Delhi .
- Kodjikian,L.; Casoli-Bergeron, E.;Malet,F. ;Janin-Manificate, H,; freney,J. and steghens,J. (2008). Bacterial adhesion to conventional hydrogel and new sili cone-hydrogel contact lens material. Graefes Arch clin Exp Ophthalmol. 246:267-73.
- Kosik-Bogacka,D.;Zepita,D and lanocha, N.(2010)Amoeba of the genus *Acanthamoeba asan* an etiology factor of keratitis-klin OcZna.,112(4-6):161-4.
- Kroft,J.U.(2005).Conflicts of interest in biofilms. Biofilms., 1: 265-276.
- Lam,D.;Houang,E.;Fan,D.; Lyon, D.; seal, D. and wong,E. (2002).Incidence and risk factors for microbial keratitis in Hong kong: comparison with Europe and North America.Eye., 16:608-18.
- Larin, D.F.; Kilvington, S. and Easty ,D.L. (1990). Contamination of contact lens storage cases by Acanthamoeba and bacteriu.Br.J.ophthalmol.,74(3):133-135.

- Lear,G.;G.D.(2012).Microbial Biofilm: current Research and Appliation .Is B N.,78(1-9):4455-96-77.
- Lekha,T.;Gopal,K.B.;Deepak,K.S.and Tribhuban,M.(2009).Dark secrets behind the shimmer of contact lens:the Indian scenario. BMC.,10(2):79
- Levey,S.; Katz,H.; Abrams,D.; Hirschbein, M.and Marsh.(1997). The role of cultures in the management of ulcerative keratitis.cornea.,16(4):383-386.
- Liescgan , T.J. and Forster, R.K. (1980) -Spectrum of microbial keratitis in south florida.Am.J.ophthalmol.90:38.
- Liesegan ,T.J. (1997).contact lens –related microbial keratitis, parti: epidemiology.Cornea.,16(2):125-131.
- Lindsay,R.G.;Watters, G. Johnson, R.; Ormonds, R.E. and snbson,G.R.(2007)Acathamoeba keratitis and contect lens wear. Clin Exptom.,90(5):351-60
- Lyer, S.A.; Tuli, S.S and Wagoner, R.C.(2006).Fungal keratitis: emerging trends and treatment outcomes. Eye contact lens.,32:267-271.
- Macfaddin, J.F. (2000).Biochemical test for Identification of medical bacteria., (3^{ed} ed.), Lippincott Williams and wilkins.
- Mackie and Mcartney (1998):Practical Medical Microbiology, (14th ed.), Churchill Livingston, New York.

- Mahsadorra ,J.H.; yavuz, S.G.; Najjar,D.M. ; Laibson, P.R.; Rapuano,C.Jand cohen,E,J.(2005).Trends in contact lens-related corneal ulcers.Cornea;24:51-8.
- Maniatis,T.; Fritch,E.F. and Sambrock, J.(1892).Molecular cloning: Alaboratory manual. coldspring Harbor laboratory. New York.
- Mannis, M and smolin, G(1996).Natural defense mechanism of the ocular surface. Ocular in fection and immunity. Mosby, st.Louis,Mo.185-190.
- Marcus ,N.R.; Elizabeth, M.L. ;Joseph, M.P.; Damien, M.D.; Magnus, H.; Dan, B.J. and Kirk, R.W.(2000).The collagen-Binding Adhesin is avirulence factor in staphylococcus aureus keratitis infection and immunity, June., 68(6):3776-3779.
- Margolis.T.P; and Whitcher, T.P. (2006). Fusarium-anew culprit in the contact lens case.JAMA.,296:985-987.
- Mariana , H.; Claudia , S .; Madalena , L. ; Elisabete , M. ; Real , O. ;Rosario , O. and Joana , A. (2005) Adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* to silicone Hydrogel contact lenses . Optometry and Vision Science ., 82 (16) : 446-450 .
- McCulleg,J.P.;Alizadeh,H.and Nieder korn,J.Y.(2000)The diagnosis and management of Acanthamoeba keratitis. CLAo. ,26(1):47-51.

- McGlinchey,S.;McCoy,C.;Gorman,S.and Jones,D. (2008). Key biological issues in cotact lens development. Expert Rev Med Devices.,5(5):581-90.
- Micallef,C.and cuschieri,P.(2001).Ocular infections due to contaminated solution. Ophthalmologica.215:337.
- -Miller ,M.and Ahearn,D.(1987).Adherence of *Psedumonas aeruginosa* to hydrophilic contact lenses and other sub strata.J clin Microbial.,25:139-7.
- Miller,D.and Iovieno,A.(2009).The role of microbiologial flora on the Immunology.,5:466-470..
- Moore,J.E.;mcmullen,T.C..;Compbell,I.L;Rohan,R.Kajiy. Afshari,N.A.(2002).The in flamnatory milieu associated with conjunctivalzed cornea and its alteration with IL-1RA gene therapy. Invest Ophthalmol Vis Sci.,43:2905-2015.
- Morgan and Philip,B.(2011).International contact lens prescribing in 2010.conact lens spectrum.
- Morgan,P.B.and Efron, N ,A.(2006).Adecade of contact lens prescribing trend in the united kingdom. Contact lens Anterior Eye.,29:59-68.
- Najjar,D. ;Aktan,S. Rapuano,C. ;Laibson,P.and cohen,F. (2004).contact lens-related corneal ulcers in compliant patients. American Journal of Ophthalmology.,137(1):170-172.

- Nasar,Q.; Anthony, A.; perez,I.; Robert, M.; Dayag. and Edward, J. (1993). Inhibion of *Acanthamoeba* species by *psedumonas. aeruginosa* Rational for their selective Exclusion in corneal ulcer and contact lens care system. Journal of clinical microbiology.,1908-1910.
- Nichols and Jason,J.(2001).ANNUAL REPORT: contact lenses 2010.
- Nichols,J.J,and Sinnott,L.T.(2006).Tear film ,lens, and patient- related factors associated with contact lens-related dry eye.Invest Ophthlmol Vis Sic.,47-1319-1328.
- Niederkon,J.Y..;Alizadeh,H.and leher,H.(2002).Role of tear anti-acanthamoeba IgA in Acanthamoeba keratitis .AdvExpmed Biol.,506:845-850.
- ODonnell, C. and Efron, N.(2012).Diabetes and contact lens wear. clin EXP OPtom.,95(3):328-37.
- OGara,J.P.and Humphreys,H.(2001).staphylococcus epidermidis biofilms :impor tance and imply cations .J.Med.Microbiol.,50:582
- Omoti,A.E.; Waziri-Erameh, J.M.and Okeigbemen,V.W. (2008). Areview of the changes in the ophthalmic andvisual system in pregnancy.Afr J Reprod Health.,12(3):185-96.
- Ostler, H.B:(1993). Disease the cornea, In. Disease of the external eye and adnexa. (Mitchell, C.W.(ed)).williams, Balitaiore. Pp.137-252.

- Ozkan, J.; Mandathara, P. ;Krishna, P.; Sankaridurg, P.;N aduvilath,T.;willcox,M.and Holden,B.(2010).Risk factors for corned inflammatory and mechanical events with extended wear silicone hydrogel contact lenses.Optom VisSci.,87(11):847-53.
- Padmaja, R. ;Sankaridurg ,Sh.;Mark,W. ;Thomas,J. ; Naduvilath ;Deborah,F. ;Sweeney. ;Brien, A. and Gullapalli, N.(2000).Bacterial colonization of Disposable soft contact lenses is Greater during corneal infiltrative Events than during Asymptomatic Extended lens wear JCM.,38(12):4420-4424.
- Palleroni,N.J.(2008).The road to the taxonomy of psedumonas.In: psedumonas: Genetics and molecular Biology.(comelis, p(ed)).caister Academic press.U.K.Pp.1-18.
- Palmer,E.G.(2007).Immune responses to commensal and environ mental microbes. Nat Immunol.,8:1173-78.
- Patel,A. and Hammersmith ,K.(2008). Contact lens-related microbial keratitis: recent Outbreaks.curr Opin Ophthalmol., 19(4):302-6
- Pilas-pomykalska, M.; Czajkowskii,J. and Oszudowski. (2005). Ocular changes during pregnancy.Ginekolpol.,76(8):655-60.

- Pillar,C.M.;HazleH,L.D.and ltobden, J.A.(2001). Alkaline protease deficient mutants of *pseudomonas aeruginosa* are virulentin the eye. Curr.EyeRes.21(3):730(Abstract).
- Qu,W., Busscher,H.; Hooymans,J.and Van dermei, H.(2011). Surface thermodynamics and adhesion forces governing bacterial transmission in contact lens relaed microbial keratitis.Jcolloid interface Sci., 358:430-6.
- Quinn,M.P.;Robert,L.Y.;Katie,R.P.;Kenneth,C.M.;Michael ,L.V.and Jerry,A.N.(2009).Neutrophil enhancement of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development:human F-actin and DNA astargets for therapy.JMed Microbiol.,58(4):4,2-502.
- Randler,C.;Matthes,R.;Mcbain,A.J.;Giese,B.;Fraunhor,M.;Sietma nn ,R.;Kohlmann,T. and Hubner,N.(2010)Athree-phase in-vitro svstem for studying pseudomomas aeruginosa adhesion and biofilm formation upon hydrogel contact lenses.BMC Microbiol.,10:282.
- Rao,P. and Rao,k.(1972).Study of the normal conjunctival Flora and its relations to external ocular in festion.Indian Journal of ophthalmolgyo;20:164-70.
- Renu ,J. (2009) .Basic ophthalmology (4^{th} ed) .

- Rivera,F.;Medina,R.;RamireZ,J.Alcocer,G.a.Vilaclar.and Robles.(1984).pathogenic and free-living proto zoacultured for the nasopharyngeal and oral regions of dental patients. Environmental Research.,33:428-440.
- Robertson, D. ;petrol, W.; Jester, J. and cavanagh, Th. (2007).The role of contact lens type, Oxygen transmission, and carerelated solution in mediating to corneal cells:anoveriew. Eye contact lens.,33(2):394-8.
- Robertson, D.M.; Petroll. W.M. and cavanagh, t.D. (2008).The effect of nonpreserved care solution on 12months of daity and extended silicone hydrogel contact lens wear. Invest Ophthalmol Vis Sci .,49:7-15.
- Samson, R.A.; Houbraken, J.; Summeerbell, R.C.; Flannigan, B.; Millar, J.D.(2001). Commonand important species of ISBN.287-292.-
- Schaumberg. D.A.; Snow,K. and Dana, M.R.(1998).The epidemic of Acanthamoeba keratitis where do west and?.cornea.,17:3-10.
- Schuster,E.;Dunn-coleman,N.;Frisvad,J.C.;Van Djck,p.w. (2002). On the safety of Aspergillus niger-areview.Applied microbiology and biotechnology.59(4-5):426-35.
- Seal,D.V.(2003).Acanthamoeba keratitis update: incidence, molecular epidermiology and new drugs for treatment., 17(8):893-905.

- Shoff. (2008).Efficacy of contact lens systems against recent clinical and tap water *Acanthamoeba* isolates. Cornea., 27(6):713-9.
- Skotnitsky,C.;Sankaridug,P.R;Sweeney,D.F. and Holden ,B.A.(2002).General and local contact lens induced papillary conjunctivitis(Clpc).Clin Exp Optom.,985:3193-197.
- Slusher,M.;Myrvik,Q.;Lewis,J.and Gristiona,A. (1987). Extended wear lenses, biofilm and bacterial adhesion. Arch Ophthalmol.,105:110-5.
- Soares,T.A.; Starastama, T.Pand lins,R.D.(2008).In fluence of the B-bend o antigen chain in the structure and electrostatics. Chem..Soc.19(2):312-320.
- Staiano;Maria;Paolo,B.;Mose,R.; and Sabato D.A. (2005). Glucose biosensors as models for the development of advanced protein- based biosensors. Molecular Biosystems 1;354-362.
- Stapleton, F.; Dart, J.K. and Minassian, D. (1993).Risk factors with contact lens related suppurative keratitis. CLAOJ.,19(4):204-210.
- Stepanovic, C.S.; Cirkoric, L.R.and svabieviacic.(2004).Biofilm formation by salmonella sppand listeria monocytogenes on plastic surface.APPl.Microbiol.,28:326-432.

- Stephen,F.C.(2005). Smolin and Thofts The cornea (4th ed).philadelphia ;U.S.A.:Lippin cott Williams and wilkins.
- SZctka-Flynn ,L.B.; Pearlman,E. and Ghannoum,M. (2010). Microbial contamination of contact lenses care solutions and their accessories: aierature review. Eye contact lens,36(2):116-29.
- Tam, C.; Mun,J.J.; Evans, D.J.(2010).The inpact of inoculation parameters on the pathogenesis of contact lens-related infectious keratitis. Invest ophthalmol vis Sci.,51:3100-3106.
- Teo,L.; Lim,L.; Tan,D.; Chan,T. and Ming.(2011).Asurvey of contact lens complication singapore.Eye contact lens.,37(1):16-9.
- Thai,L.C.;Tonlinson ,A. and Doane,M.G.(2004)Effect of contact lens material on tear physiology .Optom Vis Sci .,81 :194-204.
- Thebpatiphat,N.; Hammersmith. KM. and Rocha.FN. (2007).Aanthamoeba keratitis :aparasite on the rise.Cornea.,26(6):701-706.
- Thiel,H.,and Schumacher,U.(1994).Normal flora the human conjunctiva: examination of 135Person of varius ages.klin monatsbl Augenhilked.,205:348-57.
- Thomas,P.A.(2003),Current perspectives on ophthalmic my coses. Clin. Microbiol. Rev.16:730-797.

- Tiffany,J.(2008).The normal tear film. Devophthalmol .,41:1-20
- Toahami ,A.; Jericho, M.H.; Boyd ,J. M. and Beyeridge, T.J. (2006). Nanoscale characterization and determination of adhesion forces of *psedumonas aeruginosa* pili by using stomicforce microscopy. J.Baeteriol.,188(2):370-377.
- Tobbara,K,F.;EL-sheikh,H.F.and Aabed,B.(2000).Extended wear contact lens. related bacterial kreatitis.Br.J. Ophthalmol., 84(4):327-328.
- Tran,M.T,Ritchie,M.H.;Lausch.R.and Oakes.J.E.(2002). Calcitonin gene-related peptide induces IL-8synthesis in human corneal epithelial cells .JImmunol.,164:4307-4312.
- Treagan,L and Pulliam,L(1982).Medical microbiology laboratory procedures. W. B. saunders company, London .
- Tuli,S.S.;lyer,S.A. and Driebe,W.T. (2007).Fungal keratitis and contact lenses: an old enemy unrecognized or anew nemesis on the blockz. Eye contact lens.,33(6):415-7.
- Uno,T(2008)Ocular mycosis.Nih.Ishink in Gakkai Zassh-949(3):175-9.
- Wagner,V.E.;Filiatrault,M.J.;Picardo,K.F.and Iglewak,B.H. (2006). *Pseudamonas aeruginosa*. Virulence and pathogenesis issues. In: pseudomonas: Genetics and Molecular Biology.(comelis, p.(ed)) caister academic press.UK.Pp.129-158.

- Walker, T.S.; Tomlin, K.L. and worthen, G.S. (2005). Enhanced pseudomonas aerugenosia biofilm development mediated by human neutorphils. Infect Immun,73:369-3701.
- Whitcher, J.P. ; Srini vasan, M.and upadhyay ,M.P .(2003)Microbial keratitis. In: Johson, G .J; Minassian, D.C. ;Weal, R.A.; West, S.k; editors. The Epidermiology of eye dieases.(2nd ed). Arnold:London; P.190-5
- Willcox ,M. Hume, E.and Vigay.(2010).Ability of silver-impregnated contact lens to control microbial growth colonization.Jopt .,3:143-8 .
- Willcox, M.D.(2007). *Pseudomonas auruginosa* infection and inflammation during contact lens wear – Optom Vis Sci.,84:273-278.
- Willcox,M. ;Harmis,N. ;Cowell;Willams,Tand Holden. (2001). Bacterial interactions with contact lenses;effects of lens material,lens wear and microbial physiology. Biomaterials.,22(24):3235-47.
- Willcox,M.D.;Naduvilath,T.J.;Vaddavalli,P.K;Hdden,B.A.;OZkan,J.and Zhu,H.(2010). Croneal erosions, bacterial contamination of contact lenses, and microbial keratitis. Eye contact lens.,36(6):340-5 .

- Williams,T.J.; Schneider, R.P. and Willcox,MS.(2003).The effect of protein-coated contact lenses on the adhesion and Viability of grom negative bacteria. Curr Eye Res., 27(4):227-35.
- Williamson, J.; Gordon, A. and Wood, R.(1968).Fungls flora of conjunctival sac in health and disease-influence of topical and systemic steroids.Br.J.ophthalmol.,52:127-136.
- Yi-chiao,L.;Alina,Z. Brian, J.ch.;Neil,R. ;frank,J.M.and Kathleen,A.M.(2006).Hazardovs contact. Acase of visual loss following psadumonas keratitis from novelty contact lens wear.
- Yoshifumi,J.;Jyotsna,Ch.;pranab,K.;Mukherjee;Ali,A.;lorat ta ,B.;szczotka,f.; Eric,P.and Jonathan,H .(2007) *Fusarium* and *candida albicans* Bio films on soft ontact lenses: Model Development ,Influence of lens Type ,and susceptibility to lens care solutions.J.AAC.,52(1):171-182.
- Zegans,M.E.;H.Becker;J.Budzik,and G.O Toole.(2002).The role of bacterial biofilms in ocular infection DNA cell Bil.,21:415-420.
- Zhang,S.; Borazjani, R.; Salamon,J.and Ahearn,D.(2005). Invitro deposition of lysozyme on etafilcon A and balafilcon Ahydrogel contact lenses: effects on adhesion and survival of *pseudomonas aeruginosa* and staphylococcus aureus. cont lens Anterior Eye.,28:113-9.

- Zhivov,A.; stave, J.; Vollmar, B.;Guthoff,R.?(2007).Invivo confocal microscopic evaluation of langerhans cell density and distributin in the corneal epithelium of healthy volunteers and contact lens wears. Cornea.,26(1):47-54.
- Zhiyi,C.;chandrassegar,S.;Michael,H.;Helen,K.W.;Gunisha ,P., savitri,sh.and Noorjahan,P.(2008).Effect of Human tears on Acanthamoeba –Induced cytopathic Effect. Archophthalmol.,126(3)348-352.
- Zierhut , M; Dana, M; stern , M and Sullivan , d. (2002) .Immunology of Lacrimal Gland and Ocular Tear Film . Trends Immunol ., 23 : 33-335 .