وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالـــى
كلية التربية للعلـــــوم الصرفـــة
قسم علوم الحياة

إنتشار مرض السّل المقاوم في محافظة ديالى

رسالة مقدمة
الى مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة- جامعة ديالى
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة- الأحياء المجهرية

من قبل
إنعام علي عبد عباس

بإشراف

أ.د. عباس عبود فرحان
كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى

أ.م.د عبد الرزاق شفيق حسن
كلية الطب البيطري / جامعة ديالى

ذو القعدة/ 1433هـ
تشرين الاول/2012م

Ministry of Higher Education
& Scientific Research
Diyala University
College of Education for Pure Science
Department of Biology

Prevalence of Resistant Tuberculosis In Diyala Province

A thesis
Submitted to the council of the college of education for Pure Science / Diyala University In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Biology/Microbiology

By
Enaam Ali Abid Abbas
B.Sc.Biology

Supervised by

Prof.Dr
Abbas Abod Farhan
College of Education for pure science
Diyala University

Assoc.prof.Dr
Abdul-Razak Shafiq Hasan
College of veterinary Medicine
Diyala University

2012 M **1433 H**

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ اللَّهُ نُورُ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ مَثَلُ نُورِهِ كَمِشْكَوةٍ فِيهَا مِصْبَاحٌ الْمِصْبَاحُ فِي
زُجَاجَةٍ الزُّجَاجَةُ كَأَنَّهَا كَوْكَبٌ دُرِّيٌّ يُوقَدُ مِنْ شَجَرَةٍ مُبَرَكَةٍ زَيْتُونَةٍ لَا شَرْقِيَّةٍ
وَلَا غَرْبِيَّةٍ يَكَادُ زَيْتُهَا يُضِيءُ وَلَوْ لَمْ تَمْسَسْهُ نَارٌ نُورٌ عَلَى نُورٍ يَهْدِي اللَّهُ لِنُورِهِ
مَنْ يَشَاءُ وَيَضْرِبُ اللَّهُ الْأَمْثَلَ لِلنَّاسِ وَاللَّهُ بِكُلِّ شَيْءٍ عَلِيمٌ ﴾

صدق الله العظيم

سورة النور: الآية/35

الإهداء

إلى من ارفدتني بدعائها

أمي الحنون.

إلى من إيمانه مُنبتاً ، ومن عزه وصبره وعونه ذخراً لي

زوجي.

إلى نور عيني وأمل حياتي ...

ابنتي (آيات ومريم).

الباحثة

بسم الله الرحمن الرحيم

إقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا

نشهد بأن اعداد هذه الرسالة الموسومة بـ**(انتشار مرض السّل المقاوم في محافظة ديالى)** التي قدمتها طالبة الماجستير **(إنعام علي عبد عباس)** كانت باشرافنا في كلية التربية للعلوم الصرفة– جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ الأحياء المجهرية.

التوقيع

المشرف: د.عباس عبود فرحان

المرتبة العلمية: أستاذ

كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى

/ /2012

التوقيع

المشرف: د. عبد الرزاق شفيق حسن

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

كلية الطب البيطري/ جامعة ديالى

/ /2012

توصية رئيس قسم علوم الحياة

بناءً على التوجيهات المتوافرة أرشح هذه الرسالة للمناقشة:

التوقيع

أ.م.د. نجم عبد الله جمعة

رئيس لجنة الدراسات العليا/ رئيس قسم علوم الحياة

/ /2012

إقرار الخبير اللغوي

أشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ(**انتشار مرض السّل المقاوم في محافظة ديالى**). المقدمة من قبل طالبة الماجستير(**إنعام علي عبد عباس**) قسم علوم الحياة / الأحياء المجهرية قد تم مراجعتها من الناحية اللغوية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع:

الأسم :

المرتبة العلمية:

التاريخ: / /2012

إقرار الخبير العلمي

أشهد إن هذه الرسالة الموسومة بـ(**انتشار مرض السّل المقاوم في محافظة ديالى**). المقدمة من قبل طالبة الماجستير (**إنعام علي عبد عباس**) قسم علوم الحياة / الأحياء المجهرية قد تم مراجعتها من الناحية العلمية وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة .

التوقيع:

الأسم :

المرتبة العلمية:

التاريخ: / /2012

إقرار لجنة المناقشة

نشهد اننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على الرسالة الموسومة بـ (**انتشار مرض السّل المقاوم في محافظة ديالى**). وقد ناقشنا الطالبة (**إنعام علي عبد عباس**) في محتوياتها ، وفي ما له علاقة بها ، ونعتقد انها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة– الأحياء المجهرية بتقدير (   ).

التوقيع
الأسم:
عضواً
/ /2012م

التوقيع
الأسم:
عضواً
/ /2012م

التوقيع
الأسم:
عضواً
/ /2012م

التوقيع
الأسم: أ.د. عباس عبود فرحان
عضواً ومشرفاً
/ /2012

التوقيع
الأسم: أ.م.د. عبد الرزاق شفيق حسن
عضواً ومشرفاً
/ /2012

صدقت من قبل مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة ديالى

التوقيع:

عميد كلية التربية للعلوم الصرفة

التاريخ: / / 2012م

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين الذي يسر لي أمري وأنار لي عقلي ودربي ، أحمده حمداً كثيراً سعة عرشه وعدد خلقه ، والصلاة والسلام على سيد الخلق أجمعين محمد الهادي الأمين وعلى آله وصحبه التقاة ومن اتبعهم بإحسان إلى يوم الدين .

أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتور عباس عبود فرحان عميد كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى .

كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى الدكتور عبد الرزاق شفيق حسن عميد كلية الطب البيطري/ جامعة ديالى .

أتقدم بالشكر الجزيل إلى عماده كلية التربية للعلوم الصرفة قسم علوم الحياة كما أتقدم بالشكر الجزيل إلى رئيس قسم علوم الحياة في كلية التربية/ جامعة ديالى أ.م.د.نجم عبدالله جمعه والشكر والتقدير إلى جميع منتسبي قسم الدراسات العليا في كلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة ديالى .

كما أتقدم بالشكر الجزيل المقرون بالدعاء الى رئيس معهد التدرن في بغداد الدكتور احمد اسمر منخي والى جميع منتسبي معهد التدرن في بغداد، وذلك لما قدموه لي من نصائح، وإرشادات، ومتابعتهم، وتشجيعهم المستمرة لي في إتمام هذا البحث .

ويدعوني الامتنان والاعتراف بالجميل أن أقدم خالص شكري إلى عائلتي الكريمة.

وفق الله الجميع

الباحثة

الخلاصة :

أجريت هذه الدراسة للفترة من الأول من ايلول 2011 ولغاية العشرين من شهر تموز 2012 للتحري عن مدى انتشارية السل الرئوي والسل الرئوي المقاوم بكل أنواعه في عينات 150 مريضاً من المرضى الوافدين إلى العيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في محافظة ديالى وتضمنت 210عينة قشع (لكل مريض عينتين) و45 غسيلاً للقصبات .

نتائج الفحص المباشر باستخدام العدة الخاصة بصبغة زيل نلسن كانت ايجابية في عينات 43 مريض, تم زرع جميع العينات الموجبة والسالبة لفحص القشع المباشر على الوسط ألزرعي الصلب لوفنشتاين جنسن, وظهرت النتائج ايجابية في عينات خمسين مريضاً، لم تظهر أي عزلة من المتفطرات السريعة النمو Rapid Grower Mycobacterium , تم إجراء الفحوصات البايوكيميائية والتفريقية لجميع العزلات النامية وتم الحصول على 50عزلة من *M.tuberculosis* , أظهرت نتائج التحليل الإحصائي توافر فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$) في عدد الإصابات بالسل الرئوي في الفئات العمرية قيد الدراسة إذ سجلت فئة الشباب(21-30) أعلى النسب وبلغت 9,3%, أظهرت النتائج توافر فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$) في عدد الإصابات بالسل الرئوي في فئتي الذكور والإناث إذ سجل الذكور النسبة الأعلى وبلغت 21,3% مقارنة بالإناث التي بلغت نسبتها 12%, أظهرت النتائج توافر فرق معنوي عند مستوى ($P<0.05$) في عدد الإصابات بالسل الرئوي بالنسبة لصنف المريض إذ سجل صنف المشتبه والناكس أعلى نسب الإصابة بالسل الرئوي وبلغت 12% مقارنة بباقي الأصناف المزمن الملامس والمتابعة الذين بلغت نسبهم 8%, 1,3% و0% على التوالي, أظهرت النتائج توافر فروق معنوية عالية عند مستوى ($P<0.01$) في عدد الإصابات بالسل الرئوي في قطاعات بعقوبة إذ سجل قطاع بعقوبة أعلى نسب الإصابة بالسل الرئوي وبلغت 21,4% مقارنة بباقي القطاعات.

تم اختبار حساسية 50 عزلة لمضادات الخط الدوائي الأول, أظهرت النتائج توافر فروق معنوية عالية عند مستوى ($P<0.01$) في عدد الإصابات بالسل الرئوي المقاوم سجلت أعلى نسبة في للسل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية وبلغت 40% وبلغت نسبة العزلات الفردية المقاومة الدوائية monoresistant 12% ونسبة العزلات عديدة المقاومة الدوائية polyresistant 2%، أما بالنسبة لمقاومة العزلات لمجموعات مضادات الخط الدوائي الأول فأظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فروق معنوية عند مستوى ($P<0.05$) إذ ظهرت أعلى نسبة مقاومة لمجموعة IRS وبنسبة 20% تلته IPRS,

IEPRS, IERS وبنسبة 14%, 4% و2% على التوالي. أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فروق معنوية عالية عند مستوى (P<0.01) في مقاومة العزلات لكل مضاد من مضادات الخط الدوائي الأول إذ ظهرت أعلى نسبة مقاومة لمضاد الريفامبسين وبنسبة 46% يليه الأيزونيازيد, والستربتومايسين, والأيثامبيتول والبيرازيناميد بنسبة 44%, 42%, 18% و6% على التوالي. أظهرت نتائج الدراسة الحالية فرقاً معنوياً عند مستوى معنوية (P<0.05) بين نسبة الإصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية حسب الفئة العمرية إذ سجلت الفئة العمرية (21-30) أعلى نسب الإصابة بالسل الرئوي وبلغت 16% واقل نسب المقاومة الدوائية المتعددة سجلت في الفئتين العمريتين(61–70) و (71–80) وبنسبة 0,6%. لم تظهر فروق معنوية بين نسبة عدد الإصابات بالسل المتعدد المقاومة الدوائية في الذكور والإناث إذ بلغت النسبة في الذكور والإناث 22% 18% على التوالي, سجل قطاع بعقوبة 01 أعلى نسبة إصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية وتبلغ 18%, ظهرت أعلى نسب الإصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية في المريض الناكس وبنسبة 28% ثم المريض المشتبه والمريض المزمن وبنسبة 8% و4% على التوالي .

تم اختبار حساسية 20 عزلة متعددة المقاومة الدوائية لمضادات الخط الدوائي الثاني ولم تظهر نتائج الدراسة الحالية أي عزلة شديدة المقاومة الدوائية (XDR) لكن ظهرت 2عزلة Pre-XDR وبنسبة 10%, 5 عزلات عديدة المقاومة الدوائية poly resistant بنسبة 25% و 2 عزلة فردية المقاومة الدوائية monoresistant وبنسبة 10%, تباينت العزلات في نسب مقاومتها لمضادات الخط الدوائي الثاني إذ أظهرت فرق معنوي عالي عند مستوى (P<0.01) نسبة المقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني فسجلت أعلى نسبة مقاومة في المضادين دي.سايكلوسيرين وريفابيوتين وبنسبة 35% و30% على التوالي وأقل نسبة مقاومة للمضادين كنامايسين وباراأمينوساليسايلك أسد وبنسبة 10% لكلا المضادين ولم تظهر العزلات أي مقاومة للمضادين أميكاسين والسيبروفلوكساسين. أظهر المريض الناكس أعلى نسب المقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني فمن مجموع 14 عزلة متعددة المقاومة الدوائية أظهرت 7عزلات مقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني وبنسبة 35% من كل العزلات المتعددة المقاومة الدوائية, إذ ظهرت 1 عزلة pre-XDR وبنسبة 5% و 4 عزلات عديدة المقاومة للخط الدوائي الثاني poly resistant وبنسبة 20% و 2 عزلة فردية المقاومة الدوائية monoresistant وبنسبة 10% , أما عدد العزلات الحساسة للخط الدوائي الثاني من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية بلغ 7 عزلات وبنسبة 35%, أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر عزلة واحدة pre-XDR من 4عزلات متعددة المقاومة الدوائية

لمريض المشتبه وبنسبة 5% من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية كما ظهرت 1 عزلة عديدة المقاومة للخط الدوائي الثاني poly resistant من 2 عزلة متعددة المقاومة الدوائية للمريض المزمن وبنسبة 5% من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية .

قائمة المختصرات

URT	Upper Respiratory Tract
LRT	Lower Respiratory Tract
AFB	Acid Fast Bacilli
ROI	Reactive Oxygen Intermediated
TNf ά	Tumer Necrosis factor ά
Mtb.	***Mycobacterium tuberculosis***
cfps	culture filtrate proteins
SodA	Super oxidase dismutase
KatG	catalase-peroxidase
Gln A	Glutamine synthase
Mtb. Complex	***Mycobacterium tuberculosis*** complex
BCG	Bacillei-Calmette-Guerin
MDR	Multi-drug resistant
RIF	Rifampicin
INH	Isoniazid
SM	Streptomycin
EMB	Ethambutol
PZA	Pyrazinamide
KM	Kanamycin
AN	Amikacin
ETA	Ethionamide
C.S	D-Cycloserine
CLR	Clarithromycin
CIP	Ciprofloxacin
PAS	p-Amino Salicylic Acid
RFB	Rifabutin
XDR-Tb.	Extensively-drug resistant tuberculosis
Z.N. stain	Ziehl – Neelsen stain
PCR	Polymerase chain reaction
CSF	Cerebra Spinal Fluid
DOTs	Directly Observed Therapy short course
DNA	Deoxy Nucleic Acid
RNA	Ribose Nucleic Acid
PNB	Para Nitro Benzoic
TCH	Thiopene-2-carboxylic acid Hydrazide powder
IUATLD	International Union Against Tuberculosis and Lung Disease.

قائمة المصطلحات

Nasopharynx	التجويف الأنفي البلعومي.
Pharynx	البلعوم.
Bronchi	القصبات.
Lungs	الرئتان.
Trachea	الرغامي.
Secondary bronchi	الشعب الهوائية الثانوية.
Bronchioles	الشعيبات الثانوية.
Alveolar ducts	القنوات الحويصلية.
Aliveoli , ir sacsA	الحويصلات الهوائية.
Alveolar macrophages	الخلايا البلعمية الحويصلية.
Exogenous	خارجية المنشأ.
Endogenous	داخلية المنشأ.
Anatomical barriers	الحواجز التشريحية.
Mechanical barriers	الحواجز الميكانيكية.
Epithelial layer	الطبقة الطلائية.
Reflexes	المنعكسات.
Cell-Mediated immunity	توسط المناعة الخلوية.
Humoral-immune Activity	فعالية المناعة الخلطية.
Phagocytic cells	الخلايا البلعمية.
Phagocytic cells	الخلايا العدلة.
Lymphocytes	الخلايا اللمفاوية.
T-Lymphocyte	الخلايا اللمفاوية نوع T.
Reticuloendothelial System	الجهاز البطاني الشبكي.
Pulmonary Tuberculosis	السل الرئوي.
Tuberculum	العُقيدات .
Mycobacterium tuberculosis	المتفطرة السُلية البشرية.

Mycobacterium bovis	المتفطرة السُلية البقرية.
Extrapulmonary tuberculosis	السل خارج الرئة.
Smear positive pulmonary Case	حالة السل الرئوي ايجابي اللطاخة.
New Cases	الحالات الجديدة.
Relapse Case	حالة الانتكاسة.
Therapeutic failure Case	حالة الفشل العلاجي.
endospore	الابواغ الداخلية.
capsule	المحفظة.
Photoreactivation	التحفيز الضوئي.
acid fast stain bacilli	العصيات الصائمة للحامض.
obligate parasite	إجبارية التطفل .
Mycolic acid	حامض المايكولك.
mannose receptors	مستقبلات المانوز.
Phagosome	الفجوة.
Lysosomial enzyme	الإنزيمات الحالة.
Toxic Peptide	الببتيدات السامة.
virulence	الفوعة.
Granulomatus	الحبيبة.
Endothelial binding	الاتحاد البطاني.
epitheliod cells	الخلايا الطلائية.
fibroblastis	الخلايا الليفية.
lymphocytes	الخلايا اللمفية.
monocytes	الخلايا وحيدة النواة.
caseation necrosis	التنخر التجبني.
multi-nucleated Giant cell	الخلايا المناعية العملاقة متعددة النوى.
Dormant	الكامنة/ الهاجعة.
Anoxia	نقص أوكسجين الأنسجة.
bronchiolar passages	القنوات القصيبية.
Miliary tuberculosis	السل الدخني.

Porins	بروتين البورين.
osmotic lysis	التحلل الأزموزي.
glycolipides	الدهون السكرية.
lysomal components	المواد الحالة.
peptedoglycolipids	الدهون السكرية البروتينية.
outer memberan	الغشاء الخارجي.
cation-selective channal	القنوات ذات الانتقائية للكتيون.
anion-selective channel	القنوات ذات الانتقائية للأنيون.
periplasm	الجبلة.
adherence	الالتصاق.
culture filtrate proteins	البروتينات المرتشحة من الوسط الزرعي.
Detoxification	إزالة الأوكسجين.
immunodominant Antigen	الانتجين السائد مناعيا.
mortality	معدل الوفيات.
morbidity	الإمرضية.
Microbial load or burden	الحمولة الميكروبية.
methoxy and keto derivatives	مشتقات الميثوكسي والكيتو.
avirulent	عديمة الفوعة.
Revaccination	إعادة التلقيح.
mono-resistance	الفردية المقاومة الدوائية.
poly-resistance	عديدة المقاومة الدوائية.
primary MDR-Tb.	المقاومة الدوائية المتعددة ألاولية.
MDR-Tb.	السل المتعدد المقاومة الدوائية.
secondary MDR-Tb.	المقاومة الدوائية المتعددة المكتسبة أوالثانوية.
broad-spectrum antibiotics	مضادات حياتية واسعة الطيف.
Catalase-peroxidase enzyme	الإنزيم الكتاليز البيروكسيديز.
Direct seputum Microscopy	الفحص المباشر للقشع.
Tuberculin Skin testing	اختبار الجلد للتيوبركيولين.
Induration	التصلب.

quinolon antibiotics	مضادات الكينولون.
Suspect	المريض المشتبه.
Tread	المريض الملامس.
follow up	مريض المتابعة العلاجية.
Relapse	المريض الناكس.
Chronic	المريض المزمن.
Polymerase chain reaction	تفاعل سلسلة البوليمرات.
Intracellular	الداخل الخلوي.
Bacteriostatic	كابحا للجراثيم.
Bacteriocidl	مبيد للجراثيم.
Selective toxicity	الانتقائية السمية.
Morphology	المظهر الخارجي.
Rapid growing Mycobacteria	العصيات الدرنية سريعة النمو.
efflux pumps	مضخات الدفق.
Permability	النفاذية.
Phenotype	النمط الشكلي.
Genotype	النمط الجيني.

قائمة المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	الآية القرآنية.	i
	الإهداء.	ii
	إقرار المشرفين وترشيح لجنة الدراسات العليا.	iii
	إقرار الخبير اللغوي.	iv
	إقرار الخبير العلمي.	v
	إقرار لجنة المناقشة.	vi
	الشكر والتقدير.	vii
	الخلاصة.	viii
	قائمة المختصرات.	xi
	قائمة المصطلحات.	xii
	قائمة المحتويات	xvi
	قائمة الجداول.	xx
	قائمة الأشكال.	xxii
الفصل الأول : المقدمة والهدف من الدراسة.		
.1.1	المقدمة.	1
.2.1	الهدف من الدراسة.	1
الفصل الثاني : استعراض المراجع.		
.1.2	نبذة مختصرة عن الجهاز التنفسي.	2
.2.2	آليات حماية الجهاز التنفسي.	2
.3.2	السل الرئوي.	3
.4.2	أشكال السل .	4
.1.4.2	السل خارج الرئة.	4
.2.4.2	السل الرئوي.	5
1.2.4.2	حالة السل الرئوي ايجابي اللطاخة.	5
.2.2.4.2	حالة السل الرئوي سلبي اللطاخة.	5
.3.4.2	تصنيف مرضى السل الرئوي.	5
.1.3.4.2	الحالات الجديدة.	6

2.3.4.2.	حالة الإنتكاسة.	6
3.3.4.2.	حالة الفشل العلاجي.	6
5.2.	وصف لجرثومة المتفطرة السلية المسببة لمرض السل الرئوي.	6
6.2.	الامراضية .	7
7.2.	عوامل الضراوة.	9
8.2.	لقاح (BCG).	13
1.8.2	سياسة اللقح في العراق.	13
9.2.	وبائية جرثومة المتفطرة السلية.	13
10.2.	مقاومة المتفطرات السلية.	16
1.10.2.	السل المقاوم للأدوية المتعددة.	17
2.10.2.	السل الرئوي الشديد المقاومة.	20
3.10.2.	وبائية السل المتعدد والشديد المقاومة للأدوية.	20
11.2.	طرائق تشخيص المتفطرات السلية.	22
12.2.	علاج السل الرئوي.	24
1.12.2.	ريفامبيسين.	24
2.12.2.	آيزونيازيد.	25
3.12.2.	بيرازينامايد.	25
4.12.2.	الأيثامبيتول.	26
5.12.2.	الستربتومايسين.	26
6.12.2.	مضادات الكينولون.	26
7.12.2.	كنامايسين.	27
13.2.	برنامج العلاج القصير الأمد تحت الإشراف المباش.	27
14.2.	برنامج DOTs-Plus.	28
15.2.	آلية تنفيذ برنامج العلاج القصير الأمد تحت الإشراف المباشر في العراق.	29
	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل.	
1.3.	المواد.	31
1.1.3.	الأجهزة والمستلزمات المختبرية.	31

32	المواد الكيميائية المستخدمة.	.2.1.3
33	الاوساط الزرعية المستخدمة.	.3.1.3
34	المضادات الحياتية.	.4.1.3
35	تحضير صبغة زيل نلسن.	.2.3
35	تحضير محلول الكاربول فوكسين.	.1.2.3
35	تحضير المحلول القاصر للصبغة.	.2.2.3
35	تحضير الصبغة المقارنة.	.3.2.3
35	تحضير الأوساط ألزرعية المستخدمة في عزل وتشخيص البكتريا.	.3.3
36	الوسط الزرعي الصلب لوفنشتاين جنسن .	.1.3.3
36	تحضير 2 ملغرام/مليلتر من TCH.	.2.3.3
37	تحضير 500 ملغرام/مليلتر من مسحوق PNB.	.3.3.3
37	تحضير الوسط الزرعي الصلب ستون برينك.	.4.3.3
38	تحضير محلول التعادل في طريقة Petroff .	.5.3.3
38	تحضير محلول ماكفرلآند.	.6.3.3
39	النماذج.	.4.3
39	جمع العينات.	.5.3
40	تحضير اللطخات.	.6.3
40	صبغ الشرائح .	.7.3
40	زرع العينات.	.8.3
42	تشخيص جرثومة المتفطرة السلية.	.9.3
42	اختبار النياسين.	1.9.3
43	اختبار اختزال النترات.	.2.9.3
44	اختبار الكتاليز.	.3.9.3
45	اختبارحساسية عزلات المتفطرات السُلية للمضادات الحيوية.	.10.3
47	التحليل الإحصائي.	.11.3
	الفصل الرابع : النتائج والمناقشة.	
48	المريض ونوع العينة.	.1.4
48	الزرع والتعريف الجرثومي.	.2.4

.3.4	البيانات الديموغرافية الاجتماعية.	52
1.3.4	العمر.	52
.2.3.4	الجنس.	53
3.3.4	التوزيع الجغرافي حسب القطاعات.	55
.4.3.4	حالات السل الرئوي السريرية.	57
.4.4	المقاومة الدوائية.	58
.1.4.4	مقاومة المتفطرات السُلية للخط الدوائي الأول لمضادات التدرن.	58
.2.4.4	مقاومة المتفطرات السُلية لكل مضاد من مضادات الخط الدوائي الأول.	61
.1.2.4.4	المقاومة للريفامبسين.	62
.2.2.4.4	المقاومة للأيزونيازيد.	62
.3.2.4.4	المقاومة للستربتومايسين .	63
.4.2.4.4	المقاومة للأيثامبيتول.	63
.5.2.4.4	المقاومة للبيرازينامايد .	64
.3.4.4	البيانات الديموغرافية الاجتماعية .	65
.1.3.4.4	العمر.	65
.2.3.4.4	الجنس.	66
.3.3.4.4	التوزيع الجغرافي حسب القطاعات.	67
.4.3.4.4	حالات السل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية السريرية.	68
.4.4.4	مقاومة المتفطرات السُلية لمضادات الخط الدوائي الثاني.	69
.1.4.4.4	حالات السل الرئوي الشديد المقاومة الدوائية السريرية.	72
	الاستنتاجات والتوصيات والمصادر	
	الاستنتاجات.	75
	التوصيات.	76
	المصادر.	77
	الملاحق(1).	97

قائمة الجداول

الصفحة	الموضوع	التسلسل
31	الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة.	1-3
32	المواد الكيميائية المستخدمة بالدراسة.	2-3
33	الوسط الزرعي المستخدم للدراسة .	3-3
34	العدة الخاصة بمضادات التدرن للخط الدوائي الأول.	4-3
34	العدة بمضادات التدرن للخط الدوائي الثاني.	5-3
52	نتائج فحوصات التشخيص الجرثومي للمتفطرات السلية.	1-4
53	العدد والنسبة المئوية لمرض السل الرئوي مقسم حسب الفئة العمرية من عينة حجمها 150 مريضاً.	2-4
54	النسب المئوية لإصابات السل الرئوي موزعة بحسب الجنس.	3-4
57	عدد الحالات السالبة والموجبة للسل الرئوي موزعة حسب حالات السل الرئوي السريرية.	4-4
61	مجموعة المضادات الحياتية للخط الدوائي الأول التي تقاومها عزلات المتفطرة السلية المتعددة المقاومة الدوائية .	5-4
61	النسب المئوية للعزلات المقاومة لكل مضاد من مضادات الخط الدوائي الأول.	6-4
64	عدد العزلات فردية المقاومة الدوائية .	7-4
66	العدد والنسبة المئوية لمرضى المقاومة الدوائية المتعددة من مجموع 50 العينة الموزعة حسب الفئة العمرية .	8-4

9-4	عدد مرضـى المقاومـة الدوائيـة المتعـددة مـن مجمـوع 50 عزلـة موزعـة حسـب حالات السل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية السريرية .	70
10-4	النسـب المئويـة لمقاومـة عزلات المتقطـرات السـلية المقاومـة للأدويـة المتعـددة MDR للخط الدوائي الثاني من مجموع 20 عزلة.	71
11-4	مجموعة مضـادات الخط الدوائي الثاني ، عدد العزلات المقاومـة لهـا وصـنف المريض ونوع المقاومة الدوائية .	74

قائمة الأشكال

التسلسل	الموضوع	الصفحة
1-4.a	شكل المتفطرات السُّلية تحت المجهر الضوئي .	49
1-4.b	شكل مستعمرات المتفطرات السُّلية النامية على وسط لوفنشتاين جنسن.	50
1-4.c	اختبار النياسين .	50
1-4.d	اختبار اختزال النترات.	51
1-4.e	الاوساط الزرعية التفريقية للمتفطرات السُّلية والوسط الزرعي.	51
2-4	التعداد السكاني لقطاعات محافظة ديالى.	56
3-4	النسب المئوية للحالات الموجبة موزعة حسب قطاعات ديالى.	56
4-4	النسب المئوية للمقاومة الدوائية للخط الدوائي الأول لعزلات المتفطرة السلية.	60
5-4	النسبة المئوية لعدد الذكور والاناث المصابين بالسل المتعدد المقاومة الدوائية	67
6-4	عدد مرضى المقاومة الدوائية المتعددة موزعين حسب قطاعات محافظة ديالى.	67
7-4	انواع المقاومة للخط الدوائي الثاني ونسبها للعزلات متعددة المقاومة الدوائية موزعة حسب الحالة السريرية للمريض.	73
8-4.a	الأوساط الزرعية الخاصة بمضادات الخط الدوائي الأول (عزلة MDR)	56
8-4.b	الأوساط الزرعية الخاصة بمضادات الخط الدوائي الثاني للمتفطرات السُلية (عزلة Pre- XDR).	73
9-4	خارطة محافظة ديالى.	55

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

RESULTS AND DISCUSSION

الفصل الاول

المقدمة

INTRODUCTION

الفصل الثاني

استعراض المراجع

LITERATURE REVIEW

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

MATERIALS AND METHODS

المصـــــــادر

REFERENCES

الملاحــــــــــق

APPENDICES

الفصل الأول

1. المقدمة Introduction

1.1.المقدمة :

يبقى السل القاتل الأكبر في العالم بوصفه مرضاً منفرداً فهو يهاجم الصغار كما يهاجم الكبار، إن أكثر الناس إصابة هم البالغون الذين تتراوح أعمارهم بين 15 إلى 59 سنة مثل الآباء والعمال وقيادات المجتمع، وتسبب السل الرئوي بموت 1,4مليون نسمة حول العالم في عام 2010(WHO,2011\2012)، إذ يزداد ناقوس الخطر إنذارا في العديد من بلدان العالم نتيجة لاكتساب المتفطرات السُلية المسببة للسل الرئوي المقاومة لمضادات الخط الدوائي الأول والخط الدوائي الثاني، إن ثلث سكان العالم يحملون عصيات السل الهاجعة ولا تظهر أعراض المرض على أولئك الأشخاص إلا عندما تصبح تلك العصيات نشطة وتتحول إلى الشكل النشط جراء عوامل كفيلة بالحد من مناعة الشخص مثل الإصابة بفيروس نقص المناعة المكتسبة والتقدم بالسن وبعض الأمراض وبالرغم من ذلك يبقى مرض السل الرئوي قابلا للشفاء بمقرر علاجي يتألف من أربعة أدوية معيارية من الخط الدوائي الأول(John,*etal.*,1996)، يمكن أن يؤدي سوء استخدام تلك الأدوية أو وصفها بشكل غير مناسب إلى ظهور السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR الذي يستغرق علاجه بأدوية الخط الثاني مدة أطول علما بأن تلك الأدوية أكثر تكلفة وتسبب حدوث عدد أكبر من الآثار الجانبية، أما السل الشديد المقاومة XDR فهو يظهر عندما يساء أيضا استخدام أدوية الخط الثاني أو عندما يتم وصفها بشكل غير مناسب مما يؤدي إلى الحد من نجاعها في علاج المرضى ونظرا لفشل أدوية الخط الدوائي الأول والثاني في علاج السل الشديد المقاومة تصبح الخيارات العلاجية محدودة جدا فعلى الطبيب المعالج الإفادة من الخدمات المختبرية التي تمكنهم من تشخيص دقيق لتوفير العلاج اللازم في أسرع وقت ممكن وأن يتوفر للطبيب خبرة متميزة في علاج حالات من هذا القبيل (منظمة الصحة العالمية,2006) .

1. 2. الهدف من الدراسة Aim of The Study

معرفة نسب انتشار المتفطرة السلية المقاومة للخط الدوائي الأول والثاني من مضادات السل بين مرضى السل الرئوي في محافظة ديالى .

الفصل الثاني

2. استعراض المراجع Literature Review

1.2. نبذة مختصرة عن الجهاز التنفسي Respiratory system

يتكون الجهاز التنفسي من جزئين رئيسين هما القناة التنفسية العليا upper respiratory tract (URT) وتتضمن الأنف Nose والتجويف الأنفي – البلعومي Nasopharynx والبلعوم Pharynx ، والقناة التنفسية السفلى Lower respiratory tract (LRT)، وتتضمن القصبة الهوائية (الرغامي) Trachea والقصبات Bronchi والرئتين Lungs، و تتفرع القصبة إلى شعبتين هوائيتين، وتتفرع كل منهما إلى شعب هوائية ثانوية Secondary bronchi التي تتفرع بدورها إلى فريعات صغيرة تدعى بالشعيبات الهوائية Bronchioles حيث تنتهي بقنوات دقيقة تسمى بالقنوات الحويصلية Alveolar ducts التي تؤدي في النهاية إلى الحويصلات الهوائية (Aliveoli Air) (sacs)، تمتاز الطبقة الطلائية للجهاز التنفسي بوصفها تحتوي على الأهداب والخلايا التي تفرز المادة المخاطية، أما الحويصلات الهوائية فإنها محاطة بنوع من الخلايا المسطحة الملساء وهي الخلايا الطلائية تتخللها خلايا أكثر سمكا و ذات سايتوبلازم حبيبي و هي الخلايا البلعمية الحويصلية Alveolar macrophages المتحركة داخل الحويصلات ، (Davidson and Macleod,2001).

2 .2. آليات حماية الجهاز التنفسي Defense mechanisms

تمتلك المسالك التنفسية مساحة سطحية كبيرة من الخلايا الطلائية تقدر بنحو(90) متراً مربعاً وتحتوي على العديد من المستقبلات الحسية وهذه المساحة الكبيرة تتصل مع المحيط الخارجي لذلك فهي تتعرض خلال التنفس الطبيعي و باستمرار للملوثات المختلفة وللعوامل المرضية التي قد تكون خارجية المنشأ Exogenous أو داخلية المنشأ Endogenous (Nelson, *et al* ,2001).

يمتلك الجهاز التنفسي وسائل دفاعية متعددة لمنع حدوث الإصابات، منها وسائل دفاعية ذاتية و أخرى موضعية تتعلق بالقناة التنفسية العليا و السفلى، أما الآليات المهمة التي تحمي الجهاز التنفسي من الإصابات المختلفة فهي :

- ❖ الحواجز التشريحية Anatomical barriers مثل وجود الشعيرات الأنفية والممرات الأنفية والمادة المخاطية المحيطة بالتجاويف الأنفية فضلا عن وجود الأهداب على سطح الطبقة الطلائية Epithelial layer مع المادة المخاطية التي تحيط بالقنوات التنفسية، (Gene,2006).
- ❖ الحواجز الميكانيكية Mechanical barriers مثل المنعكسات Reflexes كالسعال و العطاس التي تطرد الأجسام الغريبة أو الجراثيم وتمنعها من الدخول إلى القنوات التنفسية، (Boyton and Openshaw,2002).
- ❖ توافر المواد غير المتخصصة المضادة للجراثيم Non-specific antimicrobial Substances مثل اللايزوزيم Lysozyme، والانترفيرون Interferon،(Agerberth and Gudmundsson,2001)

الاستجابة المناعيةImmune response وتشمل المناعة الخلوية Cell-Mediated immunity وفعالية المناعة الخلطية Humoral-immune Activity وفعالية الخلايا البلعمية Phagocytic cells، إذ تستطيع الخلايا البلعمية السنخية المتوافرة في الرئة من القضاء على الجراثيم بفعالية عالية ويتآزر عملها مع الخلايا العدلة Neutrophils فضلا عن عمل الخلايا اللمفاوية Lymphocytes التي تفرز الأجسام المضادة التي تعطي استجابة مناعية خلطيه ضد الأجسام الداخلة للجسم أو تكون الاستجابة خلوية من خلال عمل الخلايا اللمفاوية التائية (T-Lymphocyte) (Janeway, *et al.*,2001).

وهنالك العديد من آليات الاستجابة المناعية منها نظام الجهاز الشبكي البطاني Reticuloendothelial System فضلا عن كريات الدم البيض، و المقاومة التي يبديها الجلد السليم الذي يمنع دخول الجراثيم، و تحطيم وقتل الجراثيم بوساطة الإنزيمات الهاضمة في المعدة، فضلا عن المواد التي تتوافر في الدورة الدموية (Reid, *et al.*, 2003 ;Salminen, 2001) .

2 .3. السل الرئوي Pulmonary Tuberculosis

السل الرئوي واحد من أقدم الأمراض التي أُبتليتْ بِها البشرية وهو مازال القاتل الأكبر من بين الأمراض المُعدية فعلى الرغم من انتشار استخدام اللقاح المضعف والمضادات الحياتية ،فما زالت السيطرة على السل الرئوي بحاجة إلى لقاحات وأدوية جديدة من اجل القضاء على تفشي مرض السّل الرئوي الذي يحصد حياة مليوني شخص حول العالم في كل سنة، يمكن أن يهاجم السل مختلف أجهزة الجسم فيمكنه

إصابة الأنسجة الصلبة مثل العظام ويمكن للعظام المصابة بالسل أن تحتفظ بأثر الجرثومة لآلاف السنين فقد وجدت عظام مصابة بالسل لأشخاص ماتوا قبل 4000 سنة خلت كما في الهياكل العظمية للحضارة المصرية, وفي الألواح الطينية الآشورية وصف لمرضى عانوا من السعال ونفث الدم(في القرن السابع قبل الميلاد)، عُرف مرض السل الرئوي في بلاد الإغريق، إذ وصفه أبو أقراط بدقة حيث سمى هذا المرض Phthisis وهي كلمة يونانية تعني الاستهلاك لأنه يستهلك جسم المريض ويجعله ناحلا، .(Zink, *et al*,2003)

عرف الأطباء العرب المسلمون مثل ابن سينا داء السل الرئوي مند زمن وأسهموا إسهاما فاعلا في كشف هذا المرض المعدي مند قرون عدة، لم يُعرف سبب لهذا الداء إلى أن تمّ اكتشافه عام 1882 بوساطة العالم الألماني روبرت كوخ (Robert Koch) في برلين، اشتهرت هذه الجراثيم بعصيات كوخ وباسم العصيات المقاومة للحامض(Acid Fast Bacilli (AFB، اخترع كوخ خطوتين لتصبيغ المتفطرة السُّلية لتظهر تحت مجهره الضوئي، وكتب عن صعوبة تصبيغ العصيات قائلا: على ما يبدو إن المتفطرات السُّلية محاطة بجدار ذي صفات استثنائية، واستثنائية تعني هنا الطبقة الشمعية المحيطة بالعصية والتي تعدّ استثنائية بين الخلايا الحية، (Patrick, 2011) .

جاءتْ تسمية السل الرئوي Tuberculosis من الكلمة اللاتينية Tuberculum التي تعني وجود عُقيدات في النسيج أو العضو وقد سمي السل الرئوي أيضا بالطاعون الأبيض لان المصاب بالسل الرئوي يعاني و بشكل ملحوظ من الشحوب، لا يزال هذا المرض واحدا من أهم كوارث المجتمعات المدنية وهو مرض جرثومي مزمن ينتج من العدوى بجراثيم المتفطرة السُّلية البشرية *Mycobacterium tuberculosis* وأحيانا عن المتفطرة البقرية *M. bovis* (Bhamidi ,2009).

4.2. أشكال السل :

1.4.2. السل خارج الرئة Extrapulmonary tuberculosis:

هو السل الذي يصيب أعضاء أخرى غير الرئة ويشكل حوالي 25% من مجموع الحالات السل ومن أهم أشكاله تدرن الجنب، وتدرن العقد اللمفية، وتدرن السحايا، وتدرن الأمعاء والبريتون، وتدرن العظام والمفاصل، وتدرن الكلية والمجاري البولية، وتدرن الجهاز التناسلي الذكري، وتدرن الرحم والملحقات، والتهاب التامور الدرني وتدرن الجلد (WHO, 2004b).

وهنا يجب أن يستند التشخيص إلى زراعة عينة موجبة واحدة أو فحص نسيجي أو فحص طبي سريري يؤكد أن المرض فعال وغير متعلق بالرئة، يتلو ذلك قرار من الطبيب باستخدام الأدوية المضادة للتدرن (Davies,1998).

2.4.2.السل الرئوي Pulmonary tuberculosis:

وهو السل الرئوي الذي يصيب الرئة ويشكل حوالي 75% من الحالات ويعدّ أكثر أشكال السل قدرة على إحداث العدوى ويعدّ فحص القشع الجرثومي أهم وسيلة لتشخيص هذا النوع من السل الرئوي (WHO,2004b).

يصنف مرضى السل الرئوي استناداً إلى فحص القشع إلى نوعين :

1.2.4.2. حالة السل الرئوي أيجابي اللطاخة Smear positive pulmonary Tb Case :

في مثل هذه الحالة يجب أن يكون على الأقل فحصان ايجابيان بصبغة AFB (Acid Fast Bacilli)(الفحص المجهري المباشر للطاخة) أو فحص ايجابي واحد للقشع بصبغة AFB و التغيرات الشعاعية التي تثبت أن السّل الرئوي فعال في الرئة أو في عينة قشع واحدة موجبة لصبغة AFB ونتيجة زرع جرثومي لعصية السُل موجبة (Thomas, *et al.*,2008) .

2.2.4.2. حالة السل الرئوي سلبي اللطاخة Smear negative pulmonary Tb. Case :

هي حالة السّل الرئوي التي لا تتطابق مع المعايير السابقة للمرض ذي اللطاخة الإيجابية، إذ إن معايير التشخيص تتضمن على الأقل ثلاثة فحوصات قشع سالبة لصبغة AFS مع توافر تغيرات في صورة الأشعة للصدر تُطابق حالة السل الرئوي ولا توجد أي استجابة للمضادات الحياتية وهنا يقرر الطبيب أما معالجة المريض بدورة كاملة بمضادات السل الرئوي وأما زرع جرثومي ايجابي لعينة القشع السالبة لصبغة AFB (WHO,2004a).

3.4.2. تصنيف مرضى السل الرئوي تبعا للحالة السريرية
Clinical types of pulmonary Tuberculosis

يُصنف مرضى السل الرئوي تبعا للحالة السريرية إلى :

1.3.4.2. الحالات الجديدة New Cases :

وهي حالة المريض الذي لم يتعاط أي علاج للتدرن أو المريض الذي تعاطى العلاج المضاد للتدرن لمدة أقل من شهر (WHO,2004a) .

2.3.4.2. حالة الانتكاسة Relapse Case :

وهي حالة المريض الذي أعلن الشفاء مسبقا مع حدوث عارض جديد يؤدي إلى أن يكون الفحص البكتريولوجي موجباً (فحص القشع أو الزرع الجرثومي)(Harries, *et al*., 2008).

3.3.4.2. حالة الفشل العلاجي Therapeutic failure Case :

وهي حالة مريض ايجابي القشع استمر كذلك أو أصبح ايجابي القشع مجدداً بعد خمسة أشهر أو أكثر من بدء المعالجة أو مريض سلبي القشع وأصبح ايجابي بعد الشهر الثاني من العلاج أو مريض انقطع عن العلاج لأكثر من شهرين وعادة ايجابي القشع (WHO,2004a) .

5.2. جرثومة المتفطرة السُّلية *Mycobacterium tuberculosis* :

تعد عصيات كوخ Koch's bacillus أو المتفطرات السُّلية العامل المسبب للسل الرئوي عند الإنسان, وهو المرض الذي أُبتلي به الإنسان منذ زمن بعيد وما زال من احد الأسباب الرئيسة لموته .(Casali, 2009)

إن جرثومة المتفطرة السُّلية *M.tuberculosis* هي احد أجناس عائلة(Mycobacteriaceae) التي تعيش حرة في التربة والمياه والتي تعد بيئتها الطبيعية، وهي هوائية غير متحركة عدا نوع *Mycobacterium marinum* حيث أظهرت قدرتها على الحركة داخل الخلية البلعمية، لاتحتوي المتفطرات على الأبواغ الداخلية endospore ولاتكوّن المحفظة capsule بعض أفراد هذا الجنس تنتج الألوان والبعض الآخر يحتاج إلى التحفيز الضوئي photoreactivation . يصنف أفراد جنس المتفطرات بوصفها أحياء مجهريه صائمة للحامض acid fast stain وصفاتها المظهرية تتشابه بشكل كبير مع أفراد جنس *Nocardia, Corynobacterium, Rhodococcus*،وتعدّ المتفطرة السُّلية طفيليات إجبارية obligate parasite ولا توجد حرة المعيشة مثل باقي أفراد جنسها

(McCann, 2009) إن المكان البيئي لبكتريا المتفطرات السُّلية هو الأنسجة المرضية للإنسان وغيرها من الحيوانات ذوات الدم الدافئ (Ray, *et al*.,2004) .

إن المتفطرات السُلية عصوية الشكل مستقيمة أو منحنية قليلا بطول (0.2-0.5) ميكرون، تنتظم في حزم صغيرة أو عصيات متوازية، غير متحركة (Todar, 2009) .

يعود السبب في عدم تصبغ جدران المتفطرة السُلية إلى وجود مواد شمعية تحتوي على حامض المايكولك (Mycolic acid) تقاوم الاصطباغ بالصبغات العادية، أما عند وجود صبغة الكاربول فوكسين القاعدية المسخنة (carbol fuchsin)، فإن تلك العصيات تكتسب اللون الأحمر، بعد الاصطباغ تقاوم العصيات القصر بالحامض بتركيز 25%, أما صبغة أزرق المثلين (Methylene blue) وصبغة الملاكايت الخضراء (Malachite green) فإنها تستخدم بوصفها صبغة مقارنة (Murroy, *et al.* ,2005) .

تصنف المتفطرات السُلية تصنيفا علميا كالآتي:

Kingdom : Bacteria

Phylum : Actinobacteria

Order : Actenomycetales

Sub order : Corynebacterineae

Family : Mycobacteriaceae

Genus : *Mycobacterium*

Species : *Mycobacterium tuberculosis*

(Lehmann and Neumann, 1907).

6.2. الإمراضية Pathogenecity :

تدخل المتفطرات السُلية الرئة محمولة على القُطيرات النووية وهي عبارة عن ذرات غبار تعلق عليها المتفطرات السُّلية وتدخل مجرى التنفس عند الشخص السليم وتتولد عند السعال والعُطاس وحتى الغناء والكلام العادي للمريض بالسل الرئوي ويُحددْ حجم القطيرة وعدد المتفطرات السُّلية النووية قدرتها على إحداث الاصابة،(CDC,2009b) لتصل إلى الخلايا البلعمية المستوطنة في الحويصلات الهوائية

التي تبدأ بابتلاع عصية السل الرئوي بعملية تلامس العصية مع مستقبلات المانوز mannose receptors (Schlesinger, 1993) .

تدخل المتفطرات السُّلية إلى الفجوة phagosome التي من الطبيعي أن تندمج معها مكونات الفجوة الحالة phagosome-lysosome fusion كآلية دفاعية إذ تجعل هذه المكونات الوسط حامضياً إذ تحتوي على Reactive Oxygen Intermediated (ROI) وإنزيمات حالة Lysosomial enzyme وببتيدات سامة Toxic Peptide إن هذه الآلية الدفاعية تجعل الفجوة وسطاً قاتل وغير ملائم لنمو الجراثيم ولتحاشي ذلك طوّرتْ المتفطرات السُلية آليات دفاعية لمنع اندماج الفجوة الحالة مع الفجوة الهاضمة حيث يعتقد إنها تعمل على إبعاد بروتين ATPase في الفجوة التي تكون متوافرة فيها, إن هذا كله ليس له تأثير على نمو العصية داخل الخلية البلعمية حيث يكمن سر فوعتها virulence في منع نضوج الفجوة الهاضمةPrevent Phagosomial maturation ,(Dannenberg and Rook,1994) ولا أي خلية بلعمية يمكنها قتل عصية السل الرئوي بشكل فعال، (Fenton and Vermeulen, 1996) ، بعد هذه المرحلة تتكون الحُبيبة granulomatus focal lesion بوصفها وسيلة دفاعية فعالة لاحتواء انتشار الإصابة بالسل الرئوي(استجابة مناعية خلوية), يحفز السايتوكينيز TNFα/ Tumer Necrosis factor استجابة الخلايا التائية Th1 فالفئران المختبرية الغير القادرة على إنتاج هذا النوع من البروتينات المناعية لا تستطيع تكوين الحبيبة ومنع انتشار المتفطرة السُّلية في جسمها (Sherman ,*et al.* , 2001) .

تنتج الخلايا التائية انترفيرون كاما (INF γ) الذي يستحث الإتحاد البطاني Endothelial binding وهجرة الخلايا التائية إلى موقع الإصابة Infected area، يؤدي ذلك إلى تراكم الخلايا المناعية العملاقة متعددة النوى multi-nucleated Giant cells حول الخلية البلعمية الحاملة للمتفطرة السُّلية إذ تصبح مركز بؤرة الحبيبة وتترتب الخلايا الطلائية epitheliod cells بشكل شعاعي حول هذه المنطقة يلي ذلك منطقة محيطية تحوي على الخلايا الليفية fibroblastis، الخلايا اللمفية lymphocytes والخلايا وحيدة النواة monocytes، تنمو أنسجة ليفية حول هذا الموقع أما مركز الحبيبة فيخضع إلى التجبن caseation necrosis وعلى الرغم من إن المتفطرة السُّلية التي من المفترض أن تكون غير قادرة على التكاثر في الأنسجة المتجبنة نتيجة إلى انخفاض الأُس الهيدروجيني وانخفاض تركيز الأوكسجين ووجود الأحماض الدهنية السامة، فمن الممكن أن تبقى بعض العصيات

كامنة dormant لعقود عدة، إن فعالية الجهاز المناعي هي التي تحدد تطور أو حدوث الخمج للمرحلة القادمة، ويسمى هذا بالسل الرئوي الكامن الذي يمكن أن يبقى مستمرا في حياة الفرد بدون أي أعراض وبدون أن يُحدث عدوى، عند الأشخاص الذين يتمتعون بمناعة خلوية فعّالة يُكبحْ عندهم الخمج لحد هذه المرحلة، فالحبيبة سوف تشفى تدريجيا وتخلف القليل من ضرر التليف النسيجي والتكلس، أن الشخص يكون معرضا لخطر نشوء الإصابة في الرئة إذا ما أصبح اضعف مناعيا نتيجة لتناوله أدوية الكبح المناعي، مرض نقص المناعة المكتسبة AIDS، سوء التغذية أو عندما يتقدم في العمر وعوامل كثيرة أخرى (Isser smith, *et al.* ,2003). يمكن لمركز الحبيبة أن يتميّع بعملية غير معروفة ويصبح بيئة غنية للعصيات الناجية حيث تبدأ بالتضاعف بشكل غير مسيطر عليه، ويمكن لهذه العُصيات أن تنتشر خلال الرئة مسببة السل الرئوي الفعّال، إن النمو الغير مسيطر عليه داخل جسم المريض يكون مقترنا بتدمير كبير في أنسجة الرئة قد يؤدي إلى الموت الناتج عن نقص أوكسجين الأنسجة anoxia نتيجة لإلغاء دور الخلايا الناقلة للأوكسجين paranchymal cells كذلك إن الدم المتحرر من انفجار سوائل الحبيبة يؤدي إلى انسداد القنوات القصيبية bronchiolar passages ، من الممكن أن يكون الموت ناتجا عن انتقال العصيات إلى اللمف ومنه للمجرى الدموي لتستقر في مختلف أعضاء الجسم مسببة بذلك السل الدُخني Miliary tuberculosis، ويحتاج المريض نتيجة لما سبق إلى العلاج بالمضادات الحياتية لينجو من خطر الموت (Davis, *et al.*, 1994).

7.2. عوامل الضراوة Virulence factors

يمكن للمتفطرات السُلية أن تكوّن مستعمرات داخل جسم المصاب، إن العلاج من هذه الإصابة يكون صعباً ويستغرق وقتا طويلا (على الأقل ستة أشهر) يعود ذلك إلى عوامل ضراوتها، فما الذي يجعل المتفطرات السُلية فوّاعة؟ لا توجد إجابة متكاملة لهذا السؤال، فعلى الرغم من عدم امتلاك المتفطرات السُلية عوامل ضراوة تقليدية مثل السموم، إلا إن لها عدداً من العوامل التي عُدّتْ عوامل ضراوة أولها امتلاك هذه العصية جداراً خلوياً معقداً كارهاً للماء يمتلك صفات فريدة إذ تعدّ هذه العصيات موجبة لصبغة غرام إلا انه اكتشف إنها تمتلك بعض صفات الجراثيم السالبة لصبغة غرام ويعزى لجدارها الخلوي سبب نجاتها لفترة طويلة بعد تعرضها للحوامض، والقلويات، والمنظفات بالإضافة إلى طبيعتها المقاومة لعدد من المضادات الحياتية التي تعطل الصناعة الحيوية للجدار الخلوي مثل البنسلين، كما إن

للبروتينات المُفرزة خارج السايتوبلازم extraceytoplasmic proteins دوراً مهما في فوّعة هذه العصيات(Isser smith, *et al.* ,2003) .

يتركيب الجدار الخلوي من طبقة رقيقة من الببتيدوكلايكان الذي يمنع التحلل الأزموزي للخلية osmoticlysis، ترتبط طبقة الببتيدوكلايكان peptedoglycan بالارابينوكالكتان arabinogalactan و دي ارابينوز D-arabinose و دي كالكتوز D-galactose وهي سكريات ، يرتبط بعدها الارابينوكالكتان arabinogalactan بغشاء خارجي ذي وزن جزيئي عالٍ من حامض المايكولك mycolic acid مشكلا بذلك طبقة من mycolic acid-arabinogalactan و تمتد فوقها طبقة من ببتيد متعدد poly peptides وحامض المايكولك mycolic acid إذ تحتوي هذه الطبقة على دهون حرة ودهون سكرية glycolipides ودهون سكرية بروتينية peptedoglycolipids, (Lisa, *et al.*,2010) وتعمل هذه الطبقتان على إعاقة دخول المواد الكيميائية ويسبب هذا النمو البطيء وبالتالي بطيء زمن الجيل فتحتاج الخلية إلى 15–20 ساعة لتنقسم وهذا يؤدي إلى مقاومتها للعوامل الكيميائية والمواد الحالة lysomal components للخلايا البلعمية بالمقارنة مع باقي أنواع الجراثيم، يتشابه الجدار الخلوي للمتفطرة السُلية مع الخلايا السالبة لصبغة غرام باحتوائه على بروتينات خاصة لنقل الجزيئات الصغيرة المحبة للماء تدعى البورينات porins من خلال الغشاء الخارجيouter membrane لجدران الخلايا الصائمة للحامض، إن هذه البروتينات تكون بشكل قنوات عريضة وأطول واقل عدداً مقارنة ببروتينات الخلايا السالبة لصبغة غرام، تحتوي هذه القنوات على مجاميع سالبة الشحنة للكتيون cation negatively charged groups وتكون ذات انتقائية عالية للكتيون cation-selective channal بالإضافة إليها توجد قنوات ذات انتقائية عالية للأنيون anion-selective channel، من الوظائف الأخرى لهذه البروتينات إنها تعمل بوصفها إنزيمات، وتساعد العصيات في عملية الالتصاق adherence بشكل قوي بخلية المضيف وهي خطوة ضرورية لإقامة المستعمرة (McCann, 2009) .

الجبلة periplasm وهي مادة جيلاتينية بين طبقة الببتيدوكلايكان والغشاء البلازمي وتحتوي على الإنزيمات اللازمة لتحليل المواد الغذائية (Lisa, *et al.*, 2010) .

يمكن أن تقاس فوعة المتفطرات السُّلية اعتمادا على ثلاثة مصطلحات هي mortality (والتي يمكن أن تعرف على إنها النسبة المئوية للحيوانات المختبرية الميتة من جراء الإصابة بالمتفطرات السُلية)، morbidity المرضية (وتعرف على إنها الوقت الذي يستغرقه الحيوان المختبري حتى يموت بعد حدوث

إصابته بالمتفطرات السُلية) و load or burden الحمولة الميكروبية (وهي عدد العُصيات القادرة على إحداث العدوى بالسل الرئوي) . فمثلا إن سلالة Mtb. CDC1551 تعدّ سلالة عالية الفوعة تستحث زيادة تركيز السايتوكاينين TNFα بالمقارنة مع سلالات أخرى، إن زيادة تركيز هذا النوع من البروتينات المناعية عن الحد المطلوب يؤدي إلى التهاب رئوي حاد وبالتالي الموت المبكر، مع ذلك فإن هذه السلالة لا تعدّ فوّاعة أكثر من سلالات أُخرى عند مقارنتها بالحمولة الميكروبية و mortility، (Gomez and Bishai, 2000) .

من عوامل ضراوة المتفطرات السُّلية الأخرى الإفرازات الخلوية التي من المتوقع أن توجد في الوسط الذي تنمو فيه العصية على الأوساط الزرعية أو داخل الخلية البلعمية مثل البروتينات والأنزيمات الداخلة في الصناعة الحيوية للجدار والغلاف الخلوي (Brosch, *et al.*,2002) .

تسمى البروتينات التي تفرزها المتفطرة السُّلية لوسط النمو بالبروتينات المرتشحة من الوسط Culture Filtrate Proteins (CFPs) ويصل عددها إلى 200 نوع ولم تدرس بشكل كامل، ومن هذه الأنزيمات:

KatG (catalase-peroxidase) and SodA (Super oxidase dismutase) حيث يعملان على تكسير Reactive Oxygen Intermediated (RoI) وهي عملية ضرورية لنجاة المتفطرة السُّلية داخل الخلية البلعمية إذ يعملان بفعالية على إزالة الأوكسجين detoxification من الجذور القوية مثل (super oxide radical O¯2 ,Hydrogen Peroxide oNoo¯ and Hydroxyl radical oH¯) المنتجة في فجوة الخلية البلعمية ، Glutamine synthase (Gln A) أثبتت التجارب إن لهذا البروتين دوراً فعالاً في فوّعة المتفطرة السُّلية وتنتجه الخلية في مرحلة النمو المبكر يدخل هذا الأنزيم في الصناعة الحيوية للجدار الخلوي (صناعة L-glutamin) ويعمل كذلك على تغيير مستوى الأمونيا في فجوة الخلية البلعمية فيتغير بذلك مستوى الأس الـهيدروجيني وبالتالي يـمنع نضوج الفجوة الهاظمة phagolysosome (Brightbill, *et al.*,1999).

أما البروتينات فمنها:

HspX (*Rv2031c,hsp x*) ويسمى أي أيضا α-crystalline protein homolog وهو المستضد الرئيس للمتفطرة السُّلية والذي يمكن تشخيصه في مصل المريض إذ يستحث عملية البلعمة مباشرة بعد دخول المتفطرة السُلية جسم المضيف وتنتجه العصية تحت الظروف اللاهوائية داخل الخلية البلعمية في

طور الثبوت، E sat6/CF-10 (*Rv3875,Rv3874*) ويتحري عن هذا البروتين في الوسط الزرعي للمتفطرات السُّلية ويعدّ هذا البروتين مستضداً سائداً مناعياً immunodominant Antigen تميزه الخلايا التائية ويمكن تمييزه في مصل غالبية مرضى السل الرئوي وقد أثبتت التجارب إن لهذا البروتين دوراً في فوّعة المتفطرة السُّلية إذ يوجد في المتفطرات المرضية فقط.19-KD protein (Rv3763,tpqH) ويتحري عنه في مصل المصاب بالسل الرئوي ويمكن للخلايا التائية أن تميزه فهو يعدّ immunodominant antigen (Troesch, *et al.*,1999) .

عند دخول عصية السل الرئوي إلى داخل الخلايا البلعمية تتعرض الخلايا البلعمية إلى مكونات جدار عصية السل الرئوي الذي يعتقد انه يستحث التفاعلات المناعية، وقد أثبتت التجارب أن للبروتينات والأنزيمات الداخلة في الصناعة الحيوية للجدار دورا مهما في فوّعة عصية السل الرئوي. ومنها :

MmaA4 (*Rv0642c,mmaA4*) ويعرف ايضاً بجين أ(genA) إذ يشفر methyl FbpA (*Rv3804-fbpA*) ويعرف ايضاً بالمستضد 85 (Ag85A, Ag85B, Ag85C) وهو الأنزيم المختص بنقل سلاسل mycolic acid الطويلة إلى سكر الأرابينوكالاكتان arabinogalactan تسمى هذه الفعالية (mycolytransferase activty) إذ تعدّ ضرورية في الصناعة الحيوية لجدار المتفطرة السُلية الكاره للماء ضرورية أيضا في نجاتها في جسم المضيف (Bermudez and Goodman, 1996).

إن دور Transferase تكوين مشتقات الميثوكسي والكيتو methoxy and keto derivatives وهي السلاسل القصيرة لحامض المايكولك وهي استثنائية لأعضاء Mtb. Complex (Dubnau, *et al.*,1997).

8.2. لقاح BCG Vaccine:

أكتشف كل من العالمين (Calmette)و (Guerin) لقاح BCG (Bacillei-Calmette-Guerin) عام 1908 وهو لقاح مصنع من عصيات حية فقدت فوعتها avirulent مصدرها من المتفطرة السُلية البقرية التي زُرعت لسنوات في المختبر، ينشط لقاح BCG المناعة مقويا بذلك دفاعات الجسم دون إحداث ضرر وبعد أخذ لقاح BCG يمكن أن تدخل الجسم المتفطرة السُّلية، لكنّ مناعة الجسم تُسيطر عليها غالبا وتقتلها، أثبتت التجارب التي أُجريت في البلدان الغربية حيث تكون التغذية عادةً جيدة إن

لقـــاح BCG يعطي وقاية بحدود 80% ضد الإصابة بالسل الرئوي ولمدة 15 عاما إذا ما أُعطي قبل الإصابة الأولية أي للأطفال ذوي اختبار التيوبركيولين السلبي، تدعو التوصيات الحالية لمنظمة الصحة العالمية والإتحاد الدولي لمكافحة السل الرئوي والأمراض الرئوية إلى إعطاء لقاح BCG بصورة روتينية لجميع الأطفال في البلدان ذات الانتشار العالي (مع بعض الاستثناءات مثل الإصابة بالإيدز النشط)، يدوم مفعول لقاح BCG لنحو 15 عاما في المجتمعات ذات التغذية الجيدة وهو يساعد على وقاية الأطفال ولكنه يخسر بعضا من فعاليته لاحقا، لذا تقترح بعض البلدان إعادة التلقيح في عمر الخمسة عشر عاما (Revaccination)، لما كان الدور الأساس للقاح BCG هو حماية الأطفال ولما كان السل الرئوي الأولي عند الأطفال ليس معدياً فان مردود لقاح BCG خفيف في خفض معدلات الإصابة بالخمج الدرني (Infection Rate) في المجتمع، أثبتت الدراسات أن نسبة فعاليته عند الأطفال 60-80 % فـتي السـنوات الأولـى مـن عمـر الطـفل للـوقاية مـن هـذا الـمرض (John,*etal.*,1996; Kang, *et al* .,2005).

1.8.2. سياسة اللقاح في العراق :

يعدّ لقاح البي سي جي (BCG) إجباريا في العراق ومنذ عام 1973 بموجب تعليمات وزارة الصحة ويعطى اللقاح بعد الولادة مباشرة ولا مانع من إعطائه مع بقية اللقاحات الأخرى وهو ضمن البرنامج الموسع للقاحات، إن التلقيح بلقاح البي سي جي كما جاء بتوصيات الإتحاد الدولي للتدرن يمنع الطفل من الإصابة بتدرن السحايا والسل الرئوي الدُخني وان نسبة التغطية باللقاح هي بحدود 82% حسب المسح الميداني لقياس عدوى السل الرئوي لطلاب الصف الأول الابتدائي في القطر عام 1995 و 81% للمسح الميداني في عام 2000 (دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة السل الرئوي,2009) .

9.2. وبائية جرثومة السل الرئوي Epidemiology of Tuberculosis

يعد السل الرئوي ثاني أخطر مرض يصيب الإنسان بعد الملاريا وفي جميع أنحاء العالم (WHO,2000a) إذ أن ثلث سكان العالم مصابون بجرثومة المتفطرة السُّلية، أن 5-10 %من المصابين تتحول لديهم الإصابة إلى تدرن نشط أو يصبحون ناقلين للجرثومة في وقت ما خلال حياتهم إذ إن السل الرئوي ينتقل عبر الهواء شأنه شأن الأنفلونزا ويمكن للشخص المُصاب بالسل الرئوي الفعال، إذا تُرك بدون علاج، أن ينقل العدوى إلى عدد من الأشخاص يتراوح معدلهم بين 10 أشخاص و15 شخصاً في

العام، ففي كل ثانية يصاب شخص في العالم بإصابة تدرن حديثة علما إن هنالك العديد من الإصابات لا تظهر الأعراض المرضية أو القدرة على نقل المرض، في مرحلة من المراحل (من غير المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسبة)، واحتمال ظهور أعراض السل الرئوي أكبر بكثير لدى الأشخاص المصابين بحالات ترافق ذلك المرض بفيروس نقص المناعة المكتسبة (CDC,2005) .

قُدر عدد المصابين بمرض السل الرئوي الفعال عام 2007 بنحو 13,700,000 شخص، ونحو 9,300,000 مليون حالة جديدة و نحو 1,800,000 حالة وفاة، إن معدل الإصابة السنوية تراوحت بين 363 لكل 100,000 في إفريقيا إلى 32 لكل 100,000 في الأمريكيتين (WHO,2007) .
في عام 2010 قُدر عدد المصابين بالسل الرئوي 8,800,000 نسمة من ضمنها 1,100,000 حالة من المصابين بفقدان المناعة المكتسبة، من الملاحظ انخفاض معدل الإصابة بالسل الرئوي عالميا منذ عام 2005 ولكن بنسب قليلة حسب تقارير منظمة الصحة العالمية، إذ بلغ معدل الإصابة في عام 2002 إلى 141 إصابة لكل 100,000 نسمة بينما بلغ 128 إصابة لكل 100,000 نسمة في عام 2010 وسجلت 5,700,000 حالة جديدة وبلغ معدل الوفيات في السنة نفسها إلى 1,400,000 حالة وفاة بضمنهم 350,000 مصاباً بفقدان المناعة المكتسبة وهذا يعادل 3,800 حالة وفاة في اليوم، يعد السل الرئوي القاتل الأكبر للنساء في سن الإنجاب (15-44 سنة) حول العالم إذ بلغ 320,000 حالة وفاة في عام 2010 (WHO,2011\2012).

تشير تقديرات منظمة الصحة العالمية إلى أنّ إقليم جنوب شرق آسيا شهد حدوث أكبر عدد من حالات السل الجديدة في عام 2008، فقد بلغت الحالات في ذلك الإقليم نسبة 35% من مجموع الحالات المسجّلة على الصعيد العالمي، بيد أنّ التقديرات تفيد أيضاً بأنّ معدل حدوث المرض بين السكان في أفريقيا جنوب الصحراء الكبرى بلغ ضعف معدل حدوثه في جنوب شرق آسيا، إذ تجاوز 350 حالة لكل 100 000 نسمة. كما تشير التقديرات إلى تسبّب السل الرئوي في وفاة 1,700,000 شخص في عام 2009. والجدير بالذكر أنّ أكبر عدد الوفيات سُجّل في الإقليم الأفريقي (WHO,2012) .

وبائية السل الرئوي في العالم للعام 2009: بلغ معدل حدوث السل الرئوي في افريقيا340 حالة لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 50 لكل 100,000 نسمة، وفي الأمريكيتين بلغ معدل حدوث السل الرئوي 29 حالة لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 2,1 لكل 100,000 نسمة، في شرق البحر المتوسط بلغ معدل حدوث حالات السل الرئوي 110 حالة لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 18

لكل 100,000 نسمة، في أوربا بلغ معدل حدوث السل الرئوي 47 حال لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 7 لكل 100,000 نسمة، في جنوب شرق آسيا بلغ معدل حدوث حالات السل الرئوي 180 لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 27 لكل 100,000 نسمة، وفي غرب المحيط الهادي بلغ معدل حدوث السل الرئوي 110 حالة لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 13 لكل 100,000 نسمة، وعلى الصعيد العالمي بلغ معدل حدوث حالات السل الرئوي 140 حالة لكل 100,000 نسمة وبلغ معدل الوفيات 19 لكل 100,000 نسمة(WHO,2011\2012)، كذلك أن ارتفاع حالات العدوى بفيروس نقص المناعة المكتسبة وإهمال مكافحة السل الرئوي قد أدت من عودة السل الرئوي وظهور سلالات مقاومة للمضادات الحيوية، مما أسهم في انتشار هدا الوباء من عام 2000–2004، أن معدل حالات السل الرئوي الجديدة تكون متباينة حتى في البلدان المتجاورة والسبب يعود على ما يبدو إلى الاختلاف في أنظمة الرعاية الصحية (Sabero and Peabody,2006). يعدّ السل الرئوي السبب الرئيس للوفاة بين المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسبة (Iademarco and Castero,2003).

يعدّ إقليم شرق البحر المتوسط وبائيا في موقع الوسط بين دول العالم بالقياس إلى نسبة عدوى السل الرئوي Infection Rate ويقع العراق ضمن هذا الإقليم حيث يكون خطر عدوى السل الرئوي السنوي في هذه المجموعة بحدود (0.5%- 3.5 %) ، يحتل العراق المرتبة 17 من بين 22 بلداً في إقليم شرق البحر المتوسط وفقا لمعدلات حدوث جميع أشكال السل الرئوي وفي العراق تم احتساب معدل خطر عدوى السل الرئوي عام 1978 من قبل خبراء من منظمة الصحة العالمية و الإتحاد الدولي لمكافحة السل الرئوي وأمراض الرئة (IUATLD) قد كان بمعدل 1% وهذا يعني وقوع 50 حالة ايجابية لكل 100,000 نسمة سنوياً، وفي عام 1989 تم عمل مسح على طلبة الصف الأول الابتدائي وكانت نتيجة نسبة عدوى السل الرئوي في هذا القطاع 0,88 % ، وفي عام 1995 أُعيد المسح وظهرت نسبة العدوى 1,7 % وفي عام 2000 كانت النتيجة 2,7 % ، أما تقديرات منظمة الصحة العالمية حاليا في انتشار جميع حالات السل الرئوي في العراق حوالي 78 لكل 100,000 من السكان ووقوعات المرض56 لكل 100,000 ، يعدّ العراق أحد البلدان التسعة التي سجلت فيها أعلى إصابات في المنطقة، كما سجلت أكثر من 3100 حالة وفاة بسبب السل الرئوي سنويا (دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة السل الرئوي, 2009)، في عام 2006 بلغ معدل جميع أشكال السل الرئوي 100,000/132 شخص، والحالات الإيجابية للقشع 100,000/60 شخص أما نسبة الانتشار فبلغت 100,000/200 شخص بحسب تقارير منظمة الصحة العالمية، في عام 2007 بلغ معدل جميع أشكال السل الرئوي 100,000/56 شخص والحالات الإيجابية

للقشع 100,000/25 شخص أما نسبة الانتشار فبلغت 100,000/76 شخص بحسب تقارير منظمة الصحة العالمية، أما في عام 2008 فقد بلغ معدل جميع أشكال السل الرئوي 100,000/56 شخص، والحالات الإيجابية للقشع 100,000/25 شخص أما نسبة الانتشار فبلغت 100,000/78 شخص بحسب تقارير منظمة الصحة العالمية، أما معدل الوفيات عام 2006 فقد بلغ 100,000/28 شخص، وفي عام 2007 بلغ 100,000/11 شخص أما في عام 2008 فقد 100,000/11 شخص بحسب تقارير منظمة الصحة العالمية (NTP,2008)، وفي عام 2011 بلغ عدد حالات جميع أشكال السل الرئوي 1804 حالة والحالات الجديدة الإيجابية للقشع بلغ 631 حالة (NTP,2012) .

إن انتشار السل الرئوي يختلف مع تقدم العمر ففي أفريقيا يؤثر السل الرئوي في المقام الأول في الشباب و المراهقين ومع ذلك ففي البلدان التي تحول فيها مرض السل الرئوي من أعلى نسبة إلى أدنى نسبة مثل الولايات المتحدة فإن هذا المرض يصيب وبصورة رئيسة الكبار في العمر والأشخاص المصابين بضعف المناعة (CDC,2005) .

أكثر من 80% من حالات الإصابة بالسل الرئوي في الدول النامية تشمل أشخاصا تتراوح أعمارهم بين (15-59 سنة)، هناك العديد من العوامل المعروفة التي تجعل الناس أكثر عرضة للإصابة بالسل الرئوي, من أهمها الإصابة بفيروس نقص المناعة المكتسبة وهي مشكلة كبيرة خاصة في الصحراء الجنوبية الأفريقية، بسبب ارتفاع عدد حالات الإصابة بفيروس نقص المناعة المكتسبة في هذه البلدان، كذلك إن التدخين لأكثر من 20 سيجارة يومياً وأيضا الإصابة بداء السكري واعتلال الغدد اللمفاوية والفشل الكلوي وأمراض الرئة وسوء التغذية والإدمان على الكحول (Raviglione and OBrien, 2001) .

10.2. مقاومة المتفطرات السُلية *Mycobacterium tuberculosis* Resistant

تظهر المتفطرات السُلية المقاومة الدوائية لمختلف المضادات الحيوية من الخط الدوائي الأول والثاني إذ إن لها معدلات سريعة للطفرات الكروموسومية التلقائية تمنحها المقاومة لمختلف مضادات السل الرئوي إلا إن تردد هذه الطفرات منخفض فعند الالتزام بتناول المضادات بالكمية والوقت الملائمين يقضي المريض على هذه الطفرات وبالتالي لا تتطور لديه المقاومة لمضادات السل الرئوي، إن الطفرات التي

تسبب المقاومة للريفامبسين أو الأيزونيازيد تحدث بنسبة 1 في 10^8 إلى 10^9 لكن الطفرة التي تسبب المقاومة لكلا المضادين تحدث بالنسبة نفسها أو بنسبة 1 في 10^{16} (Iseman,1993).

1.10.2. السل المقاوم للأدوية المتعددة Multi-drug resistant (MDR)

يعرف السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR على أنه المقاومة لمضادي الريفامبيسين (RIF)(Rifampicin) والآيزونيازيد (Isoniazid)(INH) اللذين يُعدان من أقوى مضادات السل الرئوي للخط الدوائي الأول، إن العزلات التي تقاوم أي مجموعة أخرى من الأدوية غير (RIF) و (INH) لا تصنف على أنها سُل مقاوم للأدوية المتعددة MDR (WHO,2008b)، يمكن أن تُظهر المتفطرة السُّلية المقاومة الدوائية لمضاد واحد من مضادات الخط الدوائي الأول (ايزونيازيد، وريفامبيسين، وايثامبيتول، وستربتومايسين، وبيرازين أمايد) فتسمى بفردية المقاومة الدوائية mono-resistance، كذلك تظهر المتفطرات السُّلية المقاومة العديدة لمضادات الخط الدوائي الأول عدا الجمع بين الريفامبسين والايزونيازيد فتسمى بذلك عديدة المقاومة poly-resistance (WHO,2008c) .

يعود سبب تطور السل المقاوم للأدوية المتعددة إلى إن الأطباء يصفون علاجات غير مناسبة للمريض أو أن المريض لا يكمل الدورة العلاجية عند شعوره بالتحسن أو بسبب تناوله الأدوية بشكل متقطع (CDC, 2010)، صنفت منظمة الصحة العالمية السل مقاوم للأدوية المتعددة MDR إلى نوعين مقاومة دوائية متعددة أولية .primary MDR-Tb وأخرى مكتسبة (ثانوية) secondary MDR-Tb.، يصاب المريض بالنوع الأول نتيجة للعدوى بمتفطرات سُلية متعددة المقاومة انتقلت إليه من شخص مصاب بالسل المقاوم للأدوية المتعددة أي إن المريض ذا الإصابة الأولية لم يسبق له أن تناول مضادات السل الرئوي ينتشر هذا النوع في البلدان الغنية وفي السجون والملاجئ والمستشفيات وكذلك لدى مرضى نقص المناعة المكتسبة AIDS(Maryann *et al* .,1996)، أما المقاومة المكتسبة فهي المقاومة المتوافرة لدى المريض الذي تكون فيه العصيات حساسة مسبقا واكتسبت المقاومة وتحدث في شخص سبق، وان تناول مضادات السل الرئوي للخط الدوائي الأول وتخلى عن المعالجة قبل الموعد المحدد لها أو يعود السبب إلى وصفة طبية خاطئة للعلاجات أو الاستخدام غير الصحيح للعلاجات وهذا النوع الأكثر انتشارا في البلدان النامية (WHO,2009b).

ويعود السبب في مقاومة المتفطرات السُّلية للأدوية المتعددة MDR إلى حدوث طفرات تؤدي إلى تحورات في إنزيمات صناعة الجدار الخلوي أو المنظمات التي تستجيب للمحفزات الخارجية، إن هذه الطفرات جعلت المتفطرة السُّلية بقوة إمراضية عالية تستحث تكون الحبيبة التي تصبح العش الآمن الذي يمكنها من الاستمرار لفترة طويلة المدى (Casali,2009) .

تطور المتفطرات السُلية مقاومتها للريفامبسين RIF نتيجة لحدوث طفرة جينية في ألجين *rpoB* تؤدي إلى طفرة في الوحدات الفرعية β للأنزيم الهدف مما يجعل RIF غير مؤثر في نمو البكتريا فضلا عن الاستخدام الشائع لهذا المضاد في معالجة الأمراض المختلفة (Herrera, *et al* .,2003) .

أما المقاومة الدوائية للأيزونيازيد INH فتحصل نتيجة لطفرة في جين *KatG* الذي يشفر لانزيم Catalase-peroxidase فينتج إنزيم جديد وهذه الطفرة تؤدي إلى عدم تحول INH للشكل الفعال داخل خلية المتفطرة السُلية (Slyden and Barry,2000) .

إن الأنواع الطافرة من المتفطرات السُّلية هي الأقل انتشارا إلا أنها أكثر تفشياً عند المرضى ضعيفي الجهاز المناعي لاسيما المصابين بمرض نقص المناعة المكتسبةAIDS ، يتسع انتشار المقاومة الدوائية بتشكل كبير في المناطق الفقيرة أو المناطق التي تفتقر إلى البرامج الوطنية لمكافحة السل (Garrett, 2000). يمكن الشفاء من السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR مع معالجة طويلة الأمد تستغرق عامين أو أكثر من أدوية الخط الثاني وتكون هذه الأدوية أقل فاعلية وأكثر سُمية وأكثر كلّفة من الخط الدوائي الأول بنحو من 50 إلى 200 مرة، إذ تصل كلفة علاج مريض السل الرئوي المعالج بالخط الدوائي الأول 20 دولاراً أمريكياً بينما تصل كلفة علاج مريض السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR 5000 دولار، وهذا بدوره سبباً لحرمان المرضى في البلدان النامية أو الفقيرة من العلاج. يصل معدل الوفيات بسبب السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR إلى 80 % وهدا يعتمد على عدد من العوامل منها:

- ❖ عدد المضادات الحيوية التي يمكن أن تقاومها البكتريا (كلما قل العدد يكون أفضل).
- ❖ عدد المضادات الحيوية التي توصف للمريض (المرضى المعالجون بخمسة أنواع من المضادات فما فوق يكون أفضل) .
- ❖ إعطاء المضادات الحيوية عن طريق الحقن أم لا (ينبغي أن تعطى خلال الأشهر الثلاثة الأولى على الأقل).
- ❖ خبرات الطبيب المسؤول وتجاربه.
- ❖ استجابة المريض للعلاج (لأن المعالجة طويلة وشاقة وتتطلب المثابرة والتصميم من المريض)

❖ ما إذا كان المريض مصابا بفيروس نقص المناعة المكتسبة HIV (إذ يزداد معدل الوفيات بالسل الرئوي الشديد المقاومة MDR لدى الأشخاص المصابين بفيروس نقص المناعة المكتسبة) (Mitnick , 2003) .

يتم علاج السل المقاوم للأدوية المتعددة MDRعلى أساس اختبار الحساسية، إذ من الصعب علاج هؤلاء المرضى دون إجراء اختبار الحساسية، تستمر مدة العلاج من أشهر إلى سنوات و يجب أن تتم المعالجة بإشراف طبيب مختص، ويبدأ علاج السل المقاوم بالمضادات الحيوية الستربتومايسين (Streptomycin)، والريفامبيسين (Rifampcin)، والبيرازينامايد (Pyrazinamide)، والايثامبيتول (Ethambutol)، والأيزونيازيد (Isoniazid) +Cycloserine + Moxifloxacin بالاعتماد على نتيجة اختبار الحساسية في المختبر (Steering and Emesto, 2008) .

ساعدت مؤخراً التقنيات الجزيئية والبيولوجية المتطورة بشكل كبير على فهم أسس عمل العلاجات وآليات المقاومة في تلك الكائنات (Andreas *et al* .,2009). في بعض البلدان التي يتوافر فيها فحص الجينات يكون التحري عن جين (*rpoB*) علامة دالة على السل المقاوم للأدوية المتعددة MDR، إذ إن العزلات البكتيرية المقاومة للريفامبيسين نادرة، عدا المرضى الذين لديهم تأريخ علاجي بالريفامبيسين، فأذا كان هذا ألجين موجودا ينبغي ترك المعالجة بالريفامبسين و استخدام (SHEZ+MXF+Cycloserine)، يمكن التحري عن (*KatG162*) بوصفها علامة دالة على المقاومة للأيزونيازيد، في البلدان التي يتوفر فيها، يعود السبب في بقاء معالجة المريض بمضاد الأيزونيازيد (INH) بوصف هذا المضاد فعالاً وقوياً جداً في علاج السل الرئوي حتى وإن كان هنالك دليل مايكرو بيولوجي على أنه غير مؤثر (Leimane ,2005) .

إن سُلالات السل الرئوي المتعدد المقاومة MDR أقل انتشاراً، إذ من المعروف خلال العديد من السنوات إن سلالات السل الرئوي المقاوم للأيزونيازيد INH-Tb. أقل فوّعة عند حقنها بخنازير غينيا وان سُلالات السل المقاوم للأدوية المتعددة كما بينت وبائيتها إنها غير سائدة بالفطرة، ففي دراسة أُجريت في لوس انجلوس وجد إن هناك 6 حالات فقط من السل الرئوي المتعدد المقاومة MDR، على الرغم مما سبق ذكره فعلينا أن نتذكر بأن هذه السُلالات لها معدل وفيات عالٍ مشابه لسرطان الرئة، إن الأشخاص الذين يعانون ضعفاً في الجهاز المناعي نتيجة للإصابة بفيروس نقص المناعة المكتسبة أو نتيجة تعاطيهم بعض الأدوية هم الأكثر حساسية للإصابة السل مقاوم للأدوية المتعددة MDR، (Gillespie,2002) .

2.10.2. السل الرئوي الشديد المقاومة Extensively-drug resistant tuberculosis

يعرف على إنهُ سل متعدد المقاومة الدوائية (MDR-TB) مقاوم لمضادات الكينولون (quinolones) ولواحد من مضادات الامينوكلوكوسايد الآتية (Kanamycin, Capramycin, Amikacin) (WHO,2008c) .

يظهر السل الشديد المقاومة للأدوية عندما يُساء استخدام أدوية الخط الثاني أو عندما يتم وصفها بشكل غير مناسب مما يؤدي إلى عدم نجاعها في علاج المرض، إن علاج السل المقاوم من كلا النوعين (.MDR, XDR –Tb) متشابه ولكن الاختلاف الرئيس هو إن (.XDR-Tb) يكون مقترنا بمعدل وفيات أعلى بكثير من (.MDR-Tb) بسبب اختزال عدد الخيارات الدوائية الفعالة ضد السل المقاوم فالسُلالات من المتفطرات السُّلية لا تستجيب لأي نوع من أدوية الخط الدوائي الأول أو الخط الدوائي الثاني (CDC, 2006).

يعدّ حملة فيروس نقص المناعة المكتسبة, في الأماكن التي ترتفع فيها معدلات السل الشديد المقاومة للأدوية، أكثر عرضة لخطر الإصابة بهذا النوع من المرض مقارنة بغير الحاملين للفيروس بسبب ضعف جهازهم المناعي (منظمة الصحة العالمية, 2006) .

تعدّ مضادات الكينولون quinolon antibiotics مضادات جرثومية واسعة الطيف (Mattmann, *et al.*,2002)، تقضي على الجراثيم من خلال تداخلها بتضاعف الدنا مما يمكن لمضادات الكينولون الدخول بسهولة إلى الخلايا الحية عن طريق بروتين البورين Porins ولهذا استخدمت في علاج الإصابات الناتجة عن البكتريا الداخل خلوية (Elsea, *et al.*, 1992) .

تقاوم المتفطرات السُّلية مضادات الكينولون نتيجة لحدوث طفرة تؤدي إلى تحورات في جينات انزيم gyrase (*gyrA* و *gyrB*) (Malik, *et al*, 2012)، أما المقاومة التي تبديها المتفطرات السُلية للكنامايسين أوالأميكاسين أو الكبرامايسين فتحدث نتيجة لحدوث طفرات في الجينات *rrs, tlyA, eis* promoter, *gid B* (Sophia,*et al.*, 2012) .

3.10.2. وبائية السل المتعدد و الشديد المقاومة للأدوية

Epidemiology of MDR. and XDR. Tb.

أظهرت الإحصائيات العالمية لمنظمة الصحة العالمية للعام 2007 إن عدد حالات السل المتعدد المقاومة المسجلة والملتحقة بالعلاج بلغ 60,000 حالة وبنسبة 16%، أما عدد حالات السل الشديد

المقاومة فقد بلغت 6,000 حالة وبنسبة 25%، أما في عام 2008 بلغ عدد حالات السل المتعدد المقاومة المسجلة والملتحقة بالعلاج 100,000حالة و بنسبة28%، عدد حالات السل الشديد المقاومة بلغ 10,000حالة وبنسبة 43% (WHO,2007-2008a)، في عام 2009 بلغ عدد حالات السل المتعدد المقاومة 440,000 حالة وبنسبة 3,3% وبلغ عدد الوفيات في العام نفسه 150,000 حالة وفاة حول العالم، في عام 2010 بلغ عدد حالات السل المتعدد المقاومة 650,000 حالة وعدد حالات الملتحقين بالعلاج 46,000 حالة، أما عدد الوفيات فبلغ 150,000 حالة وفاة (WHO, 2011\2012) .

نشرت منظمة الصحة العالمية تقريراً عن نقص المناعة المكتسبة المقترن بالسل الشديد المقاومة الذي ظهر في جنوب إفريقيا في مقاطعة كوازولو نتال وتوجيلافيري إذ سجلت 220 حالة MDR-tb أظهرت 53(23%) حالة منها المقاومة للكنامايسين السيبروفلكساسين، نصف عدد المرضى لم يتناولوا قط مضادات التدرن ومن 53 مريضاً كان 44 منهم مصاباً بفقدان المناعة المكتسبة، وبلغ عدد الوفيات 52 (98%) حالة خلال متوسط مدة بلغ 16يوماً من بدء جمع عينات القشع كان عدد المرضى الذين سبق لهم تناول مضادات التدرن 10(28%) (Neel, *et al.*,2006) .

إن وبائية (XDR-TB) لم تدرس بدقة ولكن يعتقد إن (XDR-TB) لا ينتقل بسهولة في المجتمعات ذات المستوى الصحي الجيد ولكنه قد يسبب وباءً عند المرضى الدين يعانون من فيروس نقص المناعة المكتسبة حيث يكون هؤلاء أكثر حساسية للعدوى بالسل الرئوي (Sarha, 2006) .

نشرت منظمة الصحة العالمية في عام 2008 تقريراً عن الوبائية المتوقعة للسل المقاوم بنوعيه حول العالم موزعة حسب المناطق، شكلت المنطقة الأمريكية نسبة 2,9% من عدد حالات MDR-Tb وسُجلت أعلى النسب في أمريكيا اللاتينية، وشكلت المنطقة الأفريقية نسبة2% من عدد حالات MDR-Tb. ففي دولة الكونغو كان عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb. 523 حالة أما عدد حالات XDR-Tb. المسجلة والخاضعة للعلاج 48 حالة وفي جنوب أفريقيا عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb. 1,401 حالة أما عدد حالات XDR-Tb. المسجلة والخاضعة للعلاج 129 حالة، شكلت المنطقة الأوربية نسبة 71% من عدد حالات MDR-Tb.وتباينت هذه النسبة في مناطق أوربا فسجلت أقل النسب في وسط وغرب أوربا وأعلى النسب في شرق أوربا وبخاصة بلدان الإتحاد السوفيتي السابق ففي استونيا بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 72 حالة أما عدد حالات XDR-Tb المسجلة والخاضعة للعلاج 8 حالات وفي

روسيا الفيدرالية بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 19,675 حالة أما عدد حالات XDR-Tb. المسجلة والخاضعة للعلاج فبلغ 2,306 حالة، شكلت منطقة جنوب شرق آسيا نسبة 3,5% من عدد حالات MDR-Tb. سجلت أعلى النسب في ماينمار(بورما) إذ بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 1,269 حالة أما عدد حالات XDR-Tb المسجلة والخاضعة للعلاج 106 حالة، شكلت منطقة غرب المحيط الهادي نسبة 7% من عدد حالات MDR-Tb سجلت الصين أعلى النسب إذ بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 14,423 حالة أما عدد حالات XDR-Tb المسجلة والخاضعة للعلاج فبلغ 1,120 حالة، شكلت منطقة شرق البحر المتوسط نسبة 3,3% من عدد حالات MDR-Tb ففي كازاخستان بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 2,655 حالة أما عدد حالات XDR-Tb المسجلة والخاضعة للعلاج فبلغ 311 حالة وفي أذربيجان بلغ عدد الحالات المسجلة والخاضعة للعلاج من MDR-Tb 737 حالة أما عدد حالات XDR-Tb المسجلة والخاضعة للعلاج فبلغ 86 حالة (WHO.2007-2008a) .

11.2. طرائق تشخيص المتفطرات السلية Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis*

يتم التشخيص اعتمادا على :-

الفحص المجهري المباشر للقشع Direct sputum Microscopy باستخدام صبغة زيل نلسن Ziehl – Neelsen stain ثلاث مرات متتابعة على الأقل، فإذا كانت هذه الفحوصات ايجابية للمتفطرات السُّلية فأنها تدل على إن المصاب مريض وفي حالة نشطة وناقل للعدوى، تظهر العصيات في هذا الفحص باللون الأحمر، كما نحتاج في الاختبار إلى وجود 10,000 عصية في كل مليلتر من القشع ليتسنى رؤية هذه العصيات بالمجهر (Brown, *et al* .,2007). يمكن إجراء هذا الفحص باستخدام صبغة Auramine-rhodamin والمجهر الوامض(Fluorescente Microscope) إذ تظهر العصيات باللون الذهبي أكثر حساسية وأقل خصوصية من صبغة (Ziehl – Neelsen) (Steingart and Henry , 2006; Pasipanodya , 2010) .

- الزرع الجرثومي: يتم إجراء الزرع لأنموذج القشع بعد معاملته بمحلول NaOH الذي بدوره يعمل على قتل الجراثيم الملوثة لنموذج القشع ماعدا المتفطرات السُّلية إذ إنها تقاوم القتل بالمكونات القلوية بفعل وجود طبقة الدهون في جدارها الخلوي، وبعدها توضع في جهاز الطرد المركزي لمدة

15 دقيقة ثم يعادل الراسب بحامض HCl بعدها يتم الزرع على الوسط الزرعي الصلب لوفنشتاين جنسن (Lowenstein Jensen Medium) المعتمد على البيض، كما يمكن استخدام أوساط زرعيه أخرى مثل وسط (Middlebrook's Medium) المعتمد على الأغار (Agar) (Drobniewski, *et al.* ,2003) .

تستغرق الطرائق التقليدية للزرع وقتا طويلاً قد تستغرق (6-8)أسابيع (Toder,2009) لذا فقد ابتكرت أنظمة حديثة مثل نظام (BACTEC system) إذ يتكون هذا النظام من أوساط زرعيه تحتوي على مواد وامضة بوصفها مصدراً وحيداً للكربون إذ يستغرق الزرع في هذا النظام مدة زمنية (9-16) يوماً (دليل العمل ألمختبري,2009) .

❖ اختبار الجلد (Skin testing) : ويدعى أيضا اختبار تيوبركيولين (Tuberculin) ويتم فيه حقن 1.0 مليلتر من بروتين منقى ومشتق من المتفطرة السُلية تحت الجلد، ثم يقاس حجم ومساحة التفاعل الناجم إذ يظهر بعد مرور 48-72 ساعة بشكل انتفاخ Induration يحدد قياس قطر الإرتكاس (التصلب) نتيجة الاختبار موجبة كانت أم سالبة، أن اختبار الجلد لا يعتمد طريقة مثالية للتشخيص ذلك لأنه يمكن أن يعطي نتائج خاطئة (Anderson, *et al* ,2006;CDC,2009a) .

❖ جهاز تفاعل سلسلة البوليمرات (PCR) (Polymerase chain reaction)

وهو اختبار سريع ومتخصص إذ يمكن من خلال هذا الاختبار الكشف عن جرثومة السل الرئوي إذ من الممكن الحصول على نتائج سريعة خلال عدة ساعات، يعتمد هذا الاختبار على مبدأ مضاعفة منطقة معينة من الحمض النووي (DNA) لجرثومة السل الرئوي، يعد هذا الاختبار حساساً جداً وعالي الخصوصية إذ يمكنه الكشف عن الجرثومة حتى لو كانت بأعداد قليلة، وهو سريع جداً مقارنة بالطرائق التقليدية التي تحتاج إلى مدة طويلة للحضن من 6-8 أسابيع لتعطي النتيجة (Dinnes, *et al.* ,2007) .

2. 12.علاج السل الرئوي Treatment of pulmonary tuberculosis

يعد اكتشاف مضاد ستربتومايسين (Streptomycin) في منتصف عام 1940 بمنزلة بداية المعالجة الكيميائية لمرض السل الرئوي الذي أدى إلى الحد من انتشار هذا المرض (Sharma, *et al.*,2007)، لسوء الحظ لم يكن هذا العلاج سريعاً ولا سهلاً، لقد ثبت بعد ذلك إن

المعالجة بهذا العلاج ولمدة طويلة تسبب ضرراً في العصب القحفي الثامن وكذلك حدوث طفرات في جرثومة المتفطرة السُلية التي قاومت علاج الستربتومايسين (Zhu, *et al.* ,2001)، إذ ثبت إن المعالجة بمضاد واحد فقط تؤدي إلى تطور المقاومة الدوائية السريعة (British Medical Journal, 1948)، يعالج السل الرئوي الآن بتوليفة دوائية لكل دواء منها تأثير مختلف وبمجموعها تقضي على جرثومة المتفطرة السُلية، ضمن مدة كافية، بمعدل نكس أقل من 3% بعد المعالجة بسنتين (Omerod and Horsfield , 1987)، يقسم العلاج المستخدم للسل الرئوي إلى صنفين رئيسيين أولها الخط الدوائي الأول الذي يتكون من الأدوية Isoniazid و Rifampicin وPyrazinamide و Etambutol و Streptomycin (WHO, 2009a)، عند ظهور المقاومة الدوائية، أي بقاء نتيجة فحص قشع المريض موجبة، أو ظهور السمية يجب البدء بالخط الدوائي الثاني الذي يتكون من Para-Aminosalicylic Acid و Amikacin وThioamides مثل Ethionamide و Cycloserine و quenolones مثل Ofloxacin و Rifabutin (Edward and Nardell ,2009). هنالك العديد من الأنظمة المطبقة لعلاج السل الرئوي وأكثرها شيوعا في وقتنا الحاضر نظام الستة أشهر وتضمن المرحلة المكثفة ومدتها شهرين، الغرض منها الإيقاف السريع للتكاثر الجرثومي وإبادة اكبر عدد ممكن منها يتناول فيها المريض آيزونيازيد (Isoniazid) وريفامبيسين (Rifampicin) و بيرازينامايد (Pyrazinamide) وايثامبيتول (Etambutol) أو الستربتومايسين (Streptomycin) ويتم تناولها يومياً، والمرحلة المتممة ومدتها أربعة أشهر إذ إن عدد العصيات تناقص كثيراً، يعطى المريض آيزونيازيد و ريفامبيسين مرتين أسبوعياً (دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة التدرن, 2009) .

1.12.2. ريفامبيسين Rifampicin :

يعد الريفامبيسين قاتلاً للمتفطرات السُلية وله تأثير معقم (يمنع النكس باستئصال الجراثيم المثابرة) كما يمنع ظهور المقاومة المكتسبة للأيزونيازيد، الريفامبيسين غير سام نسبياً وسرعان ما تمتصه القناة الهضمية ويتضاءل تركيزه في مصل الدم من2-1,5 مايكروغرام/مليلتر بعد الابتلاع ويمكنه تثبيط معظم سُلالات المتفطرات السُلية خارج الجسم من خلال هذا التركيز، يمكن للريفامبيسين أن يخترق الأنسجة و الخلايا بصورة جيدة إن رد الفعل العكسي لدواء الريفامبيسين هو الاضطراب المعوي والطفح الجلدي و التهاب الكبد واليرقان المتعلق بالصفراء، يفرز الريفامبيسين خارج الجسم عن طريق الإدرار والدموع والعرق وسوائل الجسم الباقية إذ يصبغها باللون البرتقالي، يعمل الريفامبيسين على تثبيط إنزيم DNA-

DNA-dependent RNA synthesis وهذا بدوره يثبط dependent RNA polymerase للمتفطرات السُّلية (Herrera, *et al.*,2003) .

2.12.2. آيزونيازيد Isoniazid :

يعد الآيزونيازيد الأكثر استخداما بوصفه عامل مضاد للسل الرئوي وهو العامل المثالي في كثير من النواحي إذ أنه مبيد سريع للجراثيم حيث يعمل على تعطيل اندماج حامض المايكولك بالجدار الصائم للحامض إذ يؤثر سلباً على الخلايا الجرثومية النامية إذ تعتمد فعاليته على إنزيم Catalase-peroxidase الذي تنتجه المتفطرة السُّلية فقط ولا ينتج في خلايا جسم الإنسان وبهذا يكون الآيزونيازيد فعالاً في الخلايا الجرثومية فقط. الآيزونيازيد غير سام نسبياً وسهل التناول ورخيص وذو فعالية عالية ضد المتفطرات السُّلية وامتصاصه في الجهاز الهضمي تام تقريبا إذ يتضاءل في الدم لمدة من (1-2) ساعة بعد تناوله، يخترق الآيزونيازيد كل سوائل الجسم وتجاويفه، إن التهاب الكبد هو التأثير السمي الأكبر له والـلأعتلال العصبي المحيطي بسبب التداخل مع أيض بيروكسدين (Pyridoxine Metabolism)، إذ يجب أن يعطى البيروكسدين مع الآيزونيازيد للأشخاص الذين يعانون من الاعتلال العصبي الشائع مثل مرضى السكري ومدمني الكحول أو سوء التغذية ويحذر من إعطاء الآيزونيازيد للنساء الحوامل وكذلك للأشخاص الذين لديهم نوبة اضطراب (الصرع)،لأن إعطاءه للمريض الذي يتعاطى علاج (Phenytion) يؤدي من ثم إلى زيادة تركيز كلا العلاجين في الدم (Suarez , *et al.* ,2009) .

3.12.2. بيرازينامايد Pyrazinamide :

يعدّ بيرازينامايد علاج مبيد للجراثيم في البيئة الحامضية إذّ يثبط صناعة الأحماض الدهنية في الجدار الصائم للحامض تأثيره معقم (إذ يمنع النكس بإبادة على الجراثيم النامية داخل الخلايا Intracellular)أما عملية الامتصاص من الجهاز الهضمي فتكون تامة تقريبا، إذ يتضاءل في غضون ساعتين من تناوله، يخترق البيرازينامايد بشكل جيد معظم الأنسجة ومن ضمنها سائل النخاع ألشوكي (CSF)، أما الرد الفعلي العكسي له فهو تسمم الكبد، آلام المفاصل وكذلك ظهور الطفح الجلدي وحساسية معوية مفرطة (Ngo, *et al.* ,2007) .

4.12.2. الأيثامبيتول Ethambutol :

يعدّ الأيثامبيتول في الجرعات المعتادة كابحاً(Bacteriostatic) لجرثومة المتفطرة السُّلية ويمنع ظهور المقاومة المكتسبة ويكون له تأثير مبيد عندما يعطى في جرعة عالية مستخدمة بشكل متقطع إذّ يتعارض مع اندماج arabinoglactan ويعطل الصناعة الحيوية للجدار الصائم للحامض، يمكن إعطاؤه بصورة سهلة وله تأثير عكسي منخفض، يتضاءل تركيزه في بلازما الدم من 2 إلى 4 ساعات بعد تناوله، إن فقدان البصر التدريجي من أهم الآثار الجانبية التي يخلفها هذا الدواء وخاصة عند المرضى الذين يعانون من حالات الفشل الكلوي (Yendapally and Lee;2008.Huang, *et al.*,2011) .

5.12.2. الستربتومايسين Streptomycin :

يعدّ الستربتومايسين مبيداً للمتفطرات السُّلية ويمنع ظهور المقاومة المكتسبة لا يتم امتصاص هذا الدواء عن طريق القناة الهضمية لذا يجب أن يعطى بواسطة الحقن العضلي فهو ينتشر بسهولة الى معظم أنسجة الجسم كما يخترق احياناً المشيمة و يتضاءل تركيزه في غضون ساعة بعد حقنه بالعضلة، أما إفرازه فيكون كلوياً بالكامل لذا يجب تقليل جرعته في حالات القصور الكلوي وعند المسنين، أما رد الفعل العكسي له الدوار والتنمل وقد يؤدي إلى فقدان السمع (Zhu, *et al.*,2001).

المضادات الحيوية للخط الدوائي الثاني: وتكون اقل تأثيراً وأعلى سميةً وأعلى كلفةً :

6.12.2. مضادات الكينولون Quinolones antibiotics :

تعد مضادات الكينولون مضادات جرثومية واسعة الطيف مبيدة للمتفطرات السُّلية من خلال تداخلها بتضاعف ألدنا، تعتبر الفلوروكينولون (Fluoroquinolones) ومثالها (Mixofloxacin) احد أفراد هذه العائلة إذ تستخدم ضمن التوليفة العلاجية للخط الدوائي الثاني لعلاج السل الرئوي (Karageorgopoulos,*et al* .,2008) .

يمكن لمضادات الكينولون quinolones الدخول بسهولة إلى خلايا الجراثيم الحية عن طريق بروتين (Porins) الموجود في الجدار الخلوي ولذا تستخدم في علاج الإصابات الناتجة عن البكتريا الداخل خلوية, إن الانتقائية السمية Selective toxicity الموجودة في بعض المضادات الحياتية مثل التتراسايكلين (Tetracyclines) التي لها تأثير سلبي على صناعة البروتين في الخلية بدائية النواة ولا تضر صناعة البروتين في الخلايا حقيقية النواة هي غير موجودة في (Fluoroquinolones) التي

يكون لها تأثير سلبي على استنساخ وتضاعف ألدنا حيث تؤثر على إنزيمي DNA gyrase وTopoisomerase Π والذي بدوره يؤثر سلباً على خلايا حقيقية النواة (Elsea,*et al.* , 1992) .
رد الفعل العكسي لهذه المضادات هو تأثيره الضار على الجهاز العصبي المركزي، (Iannini,2007), (Owens and Ambrose, 2005) .

7.12.2. كنامايسين Kanamycin :

يعدّ الكنامايسين من مضادات الخط الدوائي الثاني (aminoglocosid antibiotics) يؤثر سلباً على صناعة البروتين إذ يرتبط بالوحدة الصغيرة (30s) لرايبوسوم بدائية النواة وبالتالي يثبط صناعة البروتين في خلايا المتفطرات السُّلية، رد الفعل العكسي لهذا المضاد طنين الأُذن وبالتالي فقدان السمع، وتلف الكلية، والطفح الجلدي والصداع (Sophai , *et al.*, 2012) .

13.2. برنامج العلاج القصير الأمد تحت الأشراف المباشر (DOTs) :

هي طريقة لعلاج السل الرئوي تؤخذ فيها غالبا كل جرعة دوائية موصوفة تحت مراقبة شخص مشرف ليس من الضروري أن يكون هذا الشخص خبيراً صحياً بل يمكن أن يتم بواسطة زعيم القبيلة أو شخص ذو مكانة مهمة في مجتمعه (ATS\CDC ,2003)، في عام 1990 أصبح برنامج العلاج القصير الأمد تحت الأشراف المباشر إستراتيجية منظمة الصحة العالمية للسيطرة على مرض السل الرئوي الفعال (Farmer,2001; WHO,2010a)، تبنى العديد من دول العالم هذه الإستراتيجية للسيطرة على السل الرئوي (Bastian, *et al.* ,2000), من بين تلك الدول العراق إذ يعرف باسم (Directly Observed Therapy short course)(DOTs) أنه الأشراف المباشر على المريض من الأشخاص المسؤولين عن العناية الصحية لكي يتعاط المريض العلاج المضاد للسل الرئوي إذ ثبت أنه ليس من السهل الشفاء من السّل الرئوي و إن عدد حالات المقاومة للعلاج أخذت تزداد (ATS\CDC,2003) .

يعدّ DOTs بند مهم من خطة منظمة الصحة العالمية في الحد من انتشار السل الرئوي, إن إستراتيجية DOTs ترتكز على خمس نقاط رئيسية هي : تعهد الحكومة المطلق بالقضاء على السل الرئوي، التشخيص المعتمد على الفحص المباشر للقشع (فحص لطاخة القشع بالمجهر الضوئي) للمرضى الذين يعانون من السل الرئوي الفعال, وتقديم العلاج القصير الأمد تحت الأشراف المباشر،

وتجهيز المرضـــى بالعـــــلاج الكـــافي، ومعـــايرة البيـــــانات والحـــالات المسجلــة وحصيلـة المعالجة (Elzinga , *et al.*, 2004) .

وتنصح منظمة الصحة العالمية بأن يحصل كل مرضى السل الرئوي على علاج لمدة شهرين على الأقل تحت الأشراف المباشر (والأفضل أن يكون العلاج كله تحت الأشراف المباشر) وهذا يعني مراقبة المرضى بتيقظ وهم يتناولون علاجهم، سبب هذه المراقبة في أن المرضى الذين يتناولون العلاج بلا مبالاة مرجحون بشكل كبير لخطر الفشل العلاجي أو النكس وتطور المقاومة الدوائية لديهم والسبب في عدم اهتمام المرضى بتناول العلاج يعود إلى إن أعراض السل الرئوي تختفي عموما خلال أسابيع قليلة من بدء المعالجة والدواء يجب أن يؤخذ على معدة فارغة لتسهيل امتصاصه وهذا من شأنه تصعيب المعالجة عند البعض مثل العمال الذين تتغير ساعات العمل لديهم (الخفر) فهم يتناولون وجباتهم في أوقات غير منتظمة إذ يضطرون إلى الاستيقاظ فقط ليتناولوا العلاج، على الرغم من أن التزام المريض يعد شيئا ضروريا إلا التزام الطبيب هو الأهم (Humphries,1999) .

إن تطبيق خطة DOTs على وجه الدقة أعطى معدلات نجاح بنسبة 95% ومنع خطر تطور طفرات المقاومة الدوائية لسلالات عصيات السل الرئوي كذلك اختزلت DOTs حالات إخفاق المعالجة وبالتالي عودة السل الرئوي للمريض وهذه الحقائق جاءت من المناطق التي لا تتبع نظام DOTs أظهرت معدلات منخفضة في علاج السل الرئوي (Elzinga , *et al.*, 2004)، ومن ناحية أخرى إذا نفد برنامج DOTs بصورة خاطئة فأن النتائج الإيجابية ستكون بعيدة الاحتمال ومن اجل إنجاح البرنامج يجب أن تكون هناك علاقة جيدة بين الحكومة والعاملين على هذا البرنامج، فالخدمات الصحية يجب أن تكون متاحة للجميع والدعم العالمي لبرنامج DOTs يُمكن الدول الفقيرة من الحصول على العلاج والوقاية من السل الرئوي، أصبح العلاج تحت الأشراف المباشر بمنزلة سر النجاح في القضاء أو الحد من انتشار السل الرئوي في كل من البلدان النامية والبلدان المتطورة على السواء (Harries, *et al.*, 2008).

14.2. برنامج علاج السل المتعدد المقاومة DOTs-Plus :

وسعت منظمة الصحة العالمية برنامج DOTs ليضم علاج مرضى السل المتعدد المقاومة MDR-TB وسمي هذا البرنامج DOTs-Plus إن تنفيذ هذا البرنامج يحتاج إلى القدرة على توفير اختبار الحساسية الدوائية للمتفطرات السُلية، توفير علاج الخط الدوائي الثاني من مضادات التدرن Second-line بالإضافة إلى كل متطلبات DOTs وعليه فأن DOTs-Plus يحتاج إلى موارد مالية

عالية بالمقارنة مع DOTs ويحتاج إلى تعهدات حكومية أكثر بكثير من برنامج DOTs، إن الموارد المالية المحدودة ربما تؤدي إلى الإهمال غير المتعمد لبرنامج DOTs مما يؤثر سلبا على شفاء عدد من الحالات وظهور المقاومة الدوائية .

يوصي برنامج DOTs-Plus بالمراقبة الشهرية لمرضى السل المتعدد المقاومة وإجراء الزرع المتكرر للمريض لحين تحول نتيجة الزرع من الايجابي إلى السلبي، إذا كانت نتيجة الزرع ايجابية بعد ثلاثة أشهر من المعالجة فينصح بنقل المريض إلى المستشفى لغرض مراقبة تناوله للدواء بالصورة الصحيحة (Sterling, *et al.*, 2003) .

15.2. آلية تنفيذ برنامج العلاج القصير الأمد تحت الأشراف المباشر (DOTs) في العراق :

- ❖ كل مريض يعاني من السعال ولمدة لا تقل عن ثلاثة أسابيع يجرى له فحص القشع المباشر ولثلاث عينات (استخدام استمارة رقم(05)) العينة الأولى تؤخذ مباشرة عند حضوره والعينة الثانية ليلا والأخيرة صباحية مع تصوير صدره شعاعياً, يتم ذلك في معهد الأمراض الصدرية والتنفسية في بغداد والعيادات الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في المحافظات حصراً للتشخيص وكمرحلة أولى في الوقت الحاضر.
- ❖ حين تكون نتيجة فحص القشع للمتفطرات السُلية المسببة للسل الرئوي موجبة ولثلاث مرات، أو مرتين أو لمرة واحدة فقط مع وجود عتمات في أشعة الصدر توحي بالسل الرئوي، فأن هذه تعتبر حالة موجبة وتعتبر جديدة أيضا في حالة عدم تعاطي المريض أي علاج مضاد للتدرن لأكثر من أربعة أسابيع, وتدرج ضمن الفئة الأولى .
- ❖ في حالة سلبية القشع ولثلاث مرات مع أعراض سريريه وعتمات في أشعة الصدر توحي بوجود السل الرئوي وبقرار من الطبيب المعالج مع حالة المريض السيئة فأن ذلك يعتبر حالة سل رئوي سالب اللطاخة وضمن الفئة الأولى أيضا.
- ❖ أما إذا كان المريض المحال كحالة تدرن خارج الرئة ومثبت بالفحص النسيجي أو فحص السائل ألشوكي أو استنبات الإدرار أو الوسائل التشخيصية الأخرى وكانت حالة المريض سيئة فأنها تدرج ضمن الفئة الأولى أيضا مثل تدرن التامور أو تدرن السحايا أو السل الرئوي الدُخني وغيرها .
- ❖ تثبت النتائج المختبرية في السجل ألمختبري رقم (04) بوضوح وملئ كافة الحقول فيه وتذكر ثلاث نتائج عن حالة التشخيص لأول مرة أو نتيجة واحدة (متابعة معالجة كيمياوية) عند تعاطي المريض

للعلاج ويتم ذلك في نهاية الشهر الثاني والخامس والسادس للحالات الجديدة ضمن الفئة الأولى بينما تكون المتابعة لمرضى الفئة الثانية في نهاية الشهر الثالث والخامس والثامن ويذكر رقم المريض من السجل ألمختبري (04) ضمن حقل متابعة.

- ❖ عند إكمال التشخيص في معهد الأمراض الصدرية والتنفسية في بغداد أو أي عيادة استشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في المحافظات يحال المريض إلى منسق التدرن في القطاع الذي فيه سكن المريض (استمارة رقم 09).
- ❖ يقوم منسق التدرن في القطاع باستلام المريض ويقوم بتنظيم بطاقة معالجة رقم (01) تدرج فيها كافة المعلومات بما فيها الفئة والعلاج وحسب وزن المريض كما تنظم له استمارة رقم (02) وتعتبر بطاقة تعريف به عند مراجعته مركز الرعاية الصحية الأولية الذي يستلم علاجه منه تثبت كافة المعلومات في سجل التدرن ,في المنطقة (استمارة رقم (03)) الذي يعتبر السجل الأساسي منذ التشخيص وحتى نهاية الفترة العلاجية المقررة، والفئة التي ينتمي المريض إليها .
- ❖ يرسل المريض إلى اقرب مركز للرعاية الصحية الأولية لاستلام العلاج .
- ❖ استمارة رقم (09) يحتفظ بها لدى منسق التدرن في القطاع لغرض المتابعة .
- ❖ كادر الصيدلية في مراكز الرعاية الصحية الأولية (مراقبي العلاج) هو المسئول عن إعطاء العلاج للمرضى وتحت الأشراف المباشر لمرضى السل الرئوي الإيجابي القشع من الفئة الأولى (فئة 1 أو فئة 2) بشكل يومي في المرحلة المكثفة على الأقل و أسبوعياً في المرحلة المتممة .
- ❖ يعد تقرير ربعي عن الحالات المكتشفة من قبل منسق التدرن في القطاع (استمارة رقم (07) كل ثلاثة أشهر وترسل حتما في الأسبوع الأول الذي يلي الربع السابق.
- ❖ يعد التقرير ألربعي عن نتائج المعالجة بعد مرور 12-15 شهر من بدء العلاج (استمارة رقم 08) ويرسل كذلك في الأسبوع الأول بعد انتهاء الفترة المحدودة أعلاه .
- ❖ تشمل الفئة الثانية حالات الأنتكاسة والفشل ويكون علاجها ثلاثة أشهر خلال المرحلة المكثفة وخمسة أشهر خلال المرحلة المتممة،(دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة التدرن,2009) .

الفصل الثالث

3.المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.3. المواد

3. 1.1.الأجهزة و المستلزمات المختبرية :

أُستخدمت الأجهزة والمستلزمات المختبرية المدرجة في الجدول (3- 1) في الدراسة الحالية .

جدول (3-1) :الأجهزة والمستلزمات المختبرية المستخدمة في الدراسة .

الشركة المصنعة/ المنشأ	الأجهزة والمستلزمات المختبرية
Sigma 1-13,Harz,Germany	جهاز النبذ المركزي المبرد Cooling Centrifuge
Hirayama manufacturing Company,Tokyo,Japan	الموصدة Autoclave
Memmert,Germany	الفرن الكهربائي Oven
Memmert,Germany	الحاضنة Incubator
Olympus , Japan	المجهر الضوئي Light microscope
Kimo,24700Montpon, France	حجرة الأمان (BSC – ll)
Sigma 1-13,Harz,Germany	جهاز الرج الكهربائي Vortex mixer
Sartorius ,Germany	الميزان الحساس Sensitive balance
Biomax ,Desaga ,Heidelberg , Germany	مقياس الأُس الهيدروجيني pH meter
Gilson instrument ,France	الماصات الدقيقة Micropipettes
Schott , Germany	زجاجات ذات غطاء حلزوني Screw-capped
Schott , Germany	الدوارق Flasks
Schott , Germany	الشرائح الزجاجية Slides
BioMerieux	ألانبوب الفالكون Falcon tube
BioMerieux	ماصة باستور Pasteur pipette

2.1.3. المواد الكيميائية المستخدمة :أُستخدمت المواد الكيميائية المبينة في الجدول (3−2) خلال مدة الدراسة.

جدول (3−2) المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة .

الشركة المصنعة	المادة
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق فوسفات أحادي البوتاسيوم Potassium mono phosphate powder $KH_2 PO_4$
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق كبريتات المغنيسيوم Magnesium sulfate MgSo4 powder
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق سترات المغنيسيوم Magnesium strate powder
Becton Dickinso&company-USA	أسبارجين(حامض اميني) Asparagine (amino acid)
Scherman chemicals Ltd, Edmonton, London	Glycerol الجلسرول
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق صبغة أخضر الملاكايت Malachite green powder
Scherman chemicals Ltd, Edmonton, London	مسحوق صبغة الكاربول فوكسين القاعدي Carbol Fuchsin powder
B.D.H.(England)	Ethanol70% كحول الأيثانول
B.D.H.(England)	Phenol حبيبات الفينول
Scherman chemicals Ltd, Edmonton, London	Methyl blue powder مسحوق أزرق المثيل
B.D.H.(England)	sulfuric acid Conc. حامض الكبريتيك المركز
B.D.H.(England)	حامض الهيدروكلوريك المدخن Fuming sulfuric acid 73%
Prolabo 12,Rue palee,75.Prolabo	NaOH 4% محلول هيدروكسيد الصوديوم
B.D.H.(England)	H2O2 محلول بيروكسيد الهيدروجين

Himedia\ India	Oil زيت الفحص
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق بارانايترو بنزويك Para nitro benzoic powder (PNB)
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق ثايوبين 2- حامض كاربوكسيل المهدرج (TCH) Thiopene-2-carboxylic acid Hydrazide powder
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق فوسفات ثنائية الصوديوم sodium di phosphate Na2HPO4
Becton Dickinso&company-USA	مسحوق بيروفات الصوديوم Pyruvate sodium powder

3.1.3.الأوساط الزرعية المستخدمة :

اُستخدمت المستنبتات الجرثومية المبينة في جدول (3-3) خلال مدة الدراسة.

جدول (3-3): الوسط الزرعي المستخدم في الدراسة

المصدر	اسم الوسط الزرعي
HiMedia Laboratories Pvt. Limited,Mumbai-400 086, India	وسط لوفنشتاين جنسن Lowenstein Jensen media
2009,دليل العمل ألمختبري	Stone brink media وسط ستون برينك
WHO, 1998	TCH media
WHO, 1998	PNB media

4.1.3.المضادات الحيوية Antibiotics

أُستخدمت المضادات الحيوية على شكل أوساط زرعية مجهزة من شركة HIMEDIA,India لأختبار الحساسية الدوائية للخط الدوائي الأول و الثاني الخاص بالعصية السُّلية وشملت عُدة الفحص على المضادات الحياتية المدرجة في الجدول (3−4) .

جدول (3−4):العدة الخاصة بمضادات التدرن للخط الدوائي الأول.

المضاد الحيوي	الرمز	pH	التركيز mcg/ml
Control	C	6.8±0.2	–
Control	C	5.5±0.1	–
Isoniazide	INH	6.8±0.2	0.2
Ethambutol	EMB	6.8±0.2	2
Pyrazinamide	PZA	5.5±0.1	200
Rifampicin	RMP	6.8±0.2	40
Streptomycin	SM	6.8±0.2	4

جدول (3−5) :العدة الخاصة بمضادات التدرن للخط الدوائي الثاني .

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز mcg/ml
Control	C	-
Kanamycin	KM	30
Amikacin	AN	700
Ethionamide	ETA	20
D -Cycloserine	CS	30
Clarithromycin	CLR	8
Ciprofloxacin	CIP	12.5
p-Amino SalicyliAcid	PAS	2.5
Rifabutin	RFB	0.5

2.3. تحضير صبغة زيل نلسون Ziehl – Neelson stain

1.2.3. تحضير محلول الكاربول فوكسين Carbol fuchsin :

المحلول الأول : الكاربول فوكسين القاعدي Solution A : basic fuchsin أُذيبت 0.3 غرام من مسحوق صبغة الكاربول فوكسين القاعدي إلى 100 ملليتر من الأيثانول المطلق في قارورة حجميه وطبقا لما ورد في(دليل العمل ألمختبري ,2009)

تحضير محلول الفينول Phenol solution :

المحلول الثاني : Solution B :Phenol solution سُيلت 50 غرام حبيبات الفينول في قارورة في حمام مائي بتسخين خفيف ثم أُضيف إليها 950 ملليتر من الماء المقطر، بعد ذلك يمزج 100 ملليتر من المحلول A مع 900 ملليتر من المحلول B ، رُشحت الصبغة وحُفظت في زجاجة بنية اللون بعيدا عن الحرارة والضوء (دليل العمل ألمختبري ,2009) .

2.2.3. تحضير المحلول القاصر للصبغة Decolorizing agent :

أُضيف 100ملليتر من حامض الكبريتيك المركز Conc.sulfuric acid إلى قارورة بحجم 1000 ملليتر تحوي على300 ملليتر من الماء المقطر لتحضير 25% من حامض الكبريتيك المخفف وسُيل الحامض المركز ببطء على جدار القارورة لارتفاع حرارة المزيج، (دليل العمل ألمختبري ,2009) .

3.2.3. تحضير الصبغة المقارنة Counter Stain solution :

حُضر 0.3% من محلول أزرق المثلين بإضافة 0.3 غرامات من مسحوق صبغة أزرق المثلين إلى 100 مليلتر من الماء المقطر ثم تم مزجه لأذابته جيدا وحفظ تحت درجة حرارة 25 م بحسب طريقة التحضير المذكورة (Selvakumar, *et al.*,2002) .

3.3. تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة في عزل وتشخيص جرثومة المتفطر السلبية :

حُضّرت الأوساط الزرعية وفقا لتعليمات الشركة Preparation of culture media :

1.3.3. الوسط الزرعي الصلب لوفنشتاين جنسن Lowenstein Jensen media :

حُضرت الأملاح بالأوزان الآتية :2.4 غرام من فوسفات أحادي البوتاسيوم KH_2PO_4 ، 0.24 غرام من كبريتات المغنيسيوم $MgSO_4$، 0.6غرام من سترات المغنيسيوم، و3.6 غرام من الحامض الأميني إسبراجين ، أذيبت في 600 ملليتر من الماء المقطر في حمام مائي وأُضيف 12 ملليتر من الجلسرين ذوبت الأملاح جيدا ثم عُقمت في الموصدة عند درجة حرارة 123 م° وضغط 15 باوند/الأنج المربع ولمدة 30 دقيقة ، (دليل العمل ألمختبري,2009).

تحضير لتر واحد من البيض :

أُستخدم بيض طازج وحديث الإنتاج أقل من أسبوع، غُسل البيض جيدا بالفرشاة ونقع في صابون سائل 5% وتُرك لمدة 30 دقيقة. شُطف بالماء الجاري لإزالة الصابون كليا ثم جُفف ووضع في كحول الأيثانول بتركيز70% لمدة 15 دقيقة . بعد ذلك كُسر البيض كل على حدة في طبق بتري للتأكد من أنه طازج وبوساطة ملعقة معقمة وضع في دورق معقم ثم مُزج صفار البيض بالبياض و رُشح من خلال طبقات عدة من الشاش المعقم بوساطة قمع معقم ، (دليل العمل ألمختبري,2009).

تحضير أخضر الملاكايت Malachite green :

حُضّر 20 مليلتر من محلول 2%أخضر الملاكايت بإضافة 20 غرام من مسحوق أخضر الملاكايت في قارورة معقمة إلى 100 مليلتر من ماء مقطر معقم وأُذيب في حمام مائي ولا يعقم في الموصدة، بعد أن بَردتْ الأملاح أُضيف لها 1 لتر من مزيج البيض و 20 مليلتر من أخضر الملاكايت وهنا اكتمل تحضير وسط لوفنشتاين جنسن، (دليل العمل ألمختبري,2009).

2.3.3 . تحضير 2 ملغرام/مليلتر من TCH :

وُزن 0.206 غرام من مسحوق Thiophen-2-carboxylic Acid Hydrazide و ذوبت في 120 مليلتر من الماء المقطر وبوساطة ماصة دقيقة سُحب منها 0.5 مليلتر وأُضيفت الى 4.5 مليلتر من الماء المقطر (التخفيف الأول) ومرة أخرى سُحب بالماصة الدقيقة 0.5 مليلتر من التخفيف الأول وأُضيف إلى 4.5 مليلتر من الماء المقطر (التخفيف الثاني)، بوساطة ماصة دقيقة سُحب 4.8 مليلتر من التخفيف الثاني أُضيف إلى 240 مليلتر من وسط لوفنشتاين جنسن المحضر في الخطوة السابقة

ليصبح التركيز النهائي 2 مايكروغرام/مليلتر، صُبّ بعدها المزيج في زجاجات خاصة معقمة ذات غطاء حلزوني screw capped 6 مليلتر لكل زجاجة بعدها سُويت المستنبتات في فرن التسوية Inspissator في وضع مائل عند درجة حرارة (85) م لمدة (50) دقيقة . بعد عملية التسوية تم ملاحظة ما يلي :

- تسوية المستنبت في حرارة 85 مْ وليس أكثر والدليل على ذلك عدم وجود فقاعات هواء كثيرة.
- خلوها من التلوث بوضعها في الحاضنة لمدة (2–4) أيام عند درجة حرارة (37) مْ ثم حُفظت بعدها في الثلاجة .(WHO, 1998) .

3.3.3. تحضير 500 ملغرام/مليلتر من مسحوق PNB :

وُزن 5.1 غرام من من مادة Para Nitro Benzoic (PNB) و ذوبت في 100 مليلتر من proplean glycol ، أُخذ 2.4 مليلتر بوساطة ماصة دقيقة من التحضير السابق و أُضيف إلى 240 مليلتر من وسط لوفنشتاين جنسن فأصبح التركيز النهائي 500 ملغرام/مليلتر.

صُبّ المزيج بعدها في زجاجات خاصة معقمة ذات غطاء حلزوني screw capped 6 مليلتر لكل زجاجة بعدها سُويت المستنبتات في فرن التسويةInspissator في وضع مائل عند درجة حرارة (85) مْ لمدة (50) دقيقة . بعد عملية التسوية تم ملاحظة ما يلي :

- تسوية المستنبت في حرارة 85 مْ وليس أكثر والدليل على ذلك عدم وجود فقاعات هواء كثيرة.
- خلوها من التلوث بوضعها في الحاضنة لمدة (2–4) أيام عند درجة حرارة (37) مْ ثم حُفظت بعدها في الثلاجة ، (WHO, 1998) .

4.3.3. تحضير الوسط الزرعي الصلب ستون برينك Stonebrink media :

أُذيب7 غرامات من فوسفات أحادية البوتاسيوم $KH_2 PO_4$، 4غرامات من فوسفات ثنائية الصوديوم $Na_2 HPO_4$ و12.5%من بيروفات الصوديوم في 1000 مليلتر من الماء المقطر وعُقمت بالموصدة تحت درجة حرارة 123 م° وضغط 15 باوند/الأنج المربع ولمدة30 دقيقة،(دليل العمل ألمختبري,2009).

تحضير 2 لترمن البيض:

أُستخدم بيض طازج وحديث الإنتاج أقل من أسبوع، غُسل البيض جيدا بالفرشاة ونقع في صابون سائل 5% وتُرك لمدة 30 دقيقة. شُطف بالماء الجاري لإزالة الصابون كليا ثم جُفف ووضع في كحول الأيثانول بتركيز70% لمدة 15 دقيقة. بعد ذلك كُسر البيض كل على حدة في طبق بتري للتأكد من أنه

طازج وبوساطة ملعقة معقمة وضع في دورق معقم ثم مُزج صفار البيض بالبياض و رُشح من خلال طبقات عدة من الشاش المعقم بوساطة قمع معقم، (دليل العمل ألمختبري,2009).

تحضير أخضر الملاكايت Malachite green :

حُضّر 40 مليلتر من محلول 2% أخضر الملاكايت بإضافة 20 غرام من مسحوق أخضر الملاكايت في قارورة معقمة إلى 100 مليلتر من ماء مقطر معقم وأُذيب في حمام مائي ولا يعقم في الموصدة, بعد أن بَردَ لتراً واحداً من الأملاح أُضيف لها 2 لتر من مزيج البيض و40 مليلتر من أخضر الملاكايت ومُزجت جيدا تحت ظروف معقمة وصُبت في زجاجات معقمة ذات غطاء حلزوني 6 مليلتر لكل زجاجة بعدها سُويت المستنبتات في فرن التسوية Inspissator في وضع مائل عند درجة حرارة (85) م لمدة (50) دقيقة، بعد عملية التسوية تم ملاحظة ما يلي :

- تسوية المستنبت في حرارة 85 مْ وليس أكثر والدليل على ذلك عدم وجود فقاعات هواء كثيرة.
- خلوها من التلوث بوضعها في الحاضنة لمدة (2-4) أيام عند درجة حرارة (37) م ثم حُفظت بعدها في الثلاجة . أُستخدم مستنبت ستون برينك في زرع عصية السل من أصل حيواني Bovin strain لأنها تفضل البيروفات على الجلسرين، (دليل العمل ألمختبري,2009) .

5.3.3. تحضير محلول التعادل في طريقة Petroff :

مُزج 72 مليلتر من 73% محلول حامض الهيدروكلوريك المدخن مع 1 مليلتر من 1% محلول الفينول الأحمر في قارورة، أُضيف للمزيج 1000 مليلتر من ماء مقطر معقم، صُبّ بعدها الناتج في زجاجات معقمة ووضِعتْ في جهاز الموصدة لغرض التعقيم تحت درجة حرارة 123م° وضغط 15 باوند على الأنج المربع، (دليل العمل ألمختبري,2009).

6.3.3. تحضير محلول ماكفرلآند MCFrland solution :

أستعمل هذا المحلول لإعطاء عدد تقريبي للخلايا البكتيرية عند إجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية و يتكون من جزئين :-

الجزء الأول : حُضّر بإذابة (1.175) غم من مسحوق كلوريد الباريوم المائي $BaCl_2 .H_2$ (O) في (100)مليلتر من الماء المقطر .

الجزء الثاني : حُضّر بإضافة (1) مليلتر من محلول حامض الكبريتيك المركز $H_2 SO_4$
إلى (100) مليلتر من الماء المقطر .

عند استخدام محلول ماكفرلاند أُضيف (0.5) مليلر من المحلول الأول إلى (99.5) مليلتر من المحلول الثاني، (Brown,2007) .

4.3. النماذج Specimens :

أجريت الدراسة في العيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في بعقوبة للمدة من 2011/9/1 إلى 2012/7/20 , إذ تم جمع عينات القشع وغسيل القصبات من (150) مريض من المرضى الوافدين إلى العيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية في بعقوبة. وزعت استمارة استبيان خاصة بالمريض الذي خضع للفحص ملحق (1)، تحتوي هذه الاستمارة على اسم المريض، وعمره ،والجنس (ذكر، أنثى)، والعنوان حسب القطاع الذي يسكن فيه المريض (قطاع بعقوبة 01، وقطاع الخالص 02، وقطاع المقدادية 03، وقطاع بلدروز 04، وقطاع خانقين 05، وقطاع المنصورية 06), صنف المريض (مشتبه -1، ومتابعة-2، وناكس -3، وقديم-4، وملامس -5) و نوع العينة (Bronchial washing غسيل القصبات-1، وقشع -2).

5.3. جمع العينات specimen collection :

جمعت عينات القشع وغسيل القصبات B.W من المرضى الوافدين إلى مركز الأمراض الصدرية و التنفسية في بعقوبة في عبوات بلاستيكية نظيفة شفافة محكمة الغطاء وذات فوهة واسعة .أجريت عليها الفحوصات المطلوبة ,إذ تم إجراء الفحص المباشر للقشع لكل العينات بوساطة الصبغة المقاومة للحامض وتم زرع العينات السالبة والموجبة للصبغة في مركز الأمراض الصدرية والتنفسية /المختبر المرجعي للتدرن في بغداد على أربعة أوساط من لوفنشتاين جنسن (L.J) ووسط ستون برينك وحضنت في الحاضنة لمدة (6-8) أسابيع عند درجة حرارة (37-35) م، أُجريت الفحوصات البايوكيميائية والتشخيصية للمستعمرات الموجبة للزرع وتم استنباتها على مجموعة الأوساط الزرعية الخاصة بالمضادات الحياتية للخط الدوائي الأول وحضنت في الحاضنة لمدة (6-8) أسابيع عند درجة حرارة (37-35) م، بعد استحصال نتائج الخط الدوائي الأول تم استنبات المستعمرات المتعددة المقاومة الدوائية

على الأوساط الزرعية الخاصة بالمضادات الحياتية للخط الدوائي الثاني وحضنت في الحاضنة لمدة (6-8) أسابيع عند درجة حرارة (37-35) م.

6.3. تحضير اللطخات Smearing:

تم عمل لطخات القشع بوساطة استخدام عيدان خشبية إذ فرش جزء من عينة القشع على الثلث الوسطي من الشريحة الزجاجية وبصورة منتظمة على شكل بيضوي في صورة دوائر متداخلة ومتكررة وبمساحة 1 ×2 سم بحيث تكون المسحة متجانسة وغير سميكة ثم تترك المسحة لتجف في الهواء أو بوساطة مجفف، (دليل العمل المختبري, 2009).

7.3. صبغ الشرائح Staining :

وضعتْ الشرائح على منصة التلوين مع ترك مسافة كافية بين الشرائح لمنع انتقال المواد من لطاخة إلى أخرى، ثُبتت اللطخات بتمرير مصباح بنزن لبرهة من الوقت ولعدة مرات، أضيف محلول صبغة الكاربول فوكسين المحضر في الفقرة (1.2.3.) بحيث غطى السطح بأكمله وسُخن بمصباح بنزن حتى تصاعد البخار الأبيض منه ثم تُرك لمدة خمس دقائق، بعد دلك غُسلت الشرائح بتيار خفيف من ماء الحنفية و وضِعَت الشرائح بشكل مائل ليزاح ماء الشطف الزائد ثم غُطيت الشرائح بأكملها بحامض الكبريتيك المخفف 25% ($H_2 SO_4$) المحضر في الفقرة (2.2.3.) وتُركت لمدة دقيقتين حتى زال اللون الأرجواني للكاربول فوكسين القاعدي , غُسلت الشرائح مرة أخرى بتيار خفيف من ماء الحنفية ووضعت الشرائح بشكل مائل لإزالة الماء الزائد غُطيت الشرائح بأزرق المثلين المحضر في الفقرة (3.2.3.) وتُركت لمدة دقيقة واحدة، غُسلت الشرائح لمرة أخرى بماء الحنفية ثم جُففت وبعدها فُحصت بالمجهر الضوئي الاعتيادي بعد وضع قطرة من زيت السدر على اللطاخة وتم فحص 300 حقل منها تحت العدسة الزيتية فظهرت العصيات السُّلية بلون أحمر أو وردي مع خلفية زرقاء بشكل عصيات أو خيوط رفيعة أو بشكل حزم أو مجاميع، (دليل العمل المختبري, 2009).

8.3. زرع العينات Samples culture :

اعتمدت طريقة Petroff decontamination لزرع العينات بحسب الطريقة التي وصفها دليل العمل ألمختبري (2009)، وتتلخص بما يلي :

أضيف حجم مساوي لعينة القشع من محلول 4% NaOH وأُبقيت لمدة 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة، رُجت المحتويات من آن إلى آخر بوضعها في جهاز الهزاز (Shaker) بعدها وضِعتْ في جهاز الطرد المركزي المبرد لمدة 15 دقيقة وبسرعة (3000)GX، وتم إهمال الرائق ثم عُودِلَ الراسب باستخدام Hcl المحضر في الفقرة (3.3.5.) و بصورة تدريجية وباستخدام ماصة باستور إلى أن يتحول اللون إلى الأصفر وهي نقطة التعادل لُقحت أربع زجاجات من وسط لوفنشتاين جنسن (HiMedia,India) وزجاجة واحدة من وسط ستون برينك المحضر في الفقرة (3.3.4.) بوضع (2–3) قطرة من الراسب المتعادل بوساطة ماصة باستور، (دليل العمل المختبري,2009) .

وضعت الأوساط الزرعية الملقحة في وضع مائل لمدة (2–4) أيام في الحاضنة حتى يتم توزيع الراسب على سطح المستنبت مع مراعاة عدم غلق الغطاء كاملا، ثم عُدّل وضعها بقية مدة الحضن التي استمرت (6–8) أسابيع عند درجة حرارة (37–35) مْ مع ضرورة غلق الغطاء بإحكام لمنع جفاف المستنبت، (دليل العمل ألمختبري,2009).

قراءة النتائج Result :

أُختبرت المزارع بعد مرور 72 ساعة للتأكد من تبخر السائل من المستنبت وأُغلقتْ الزجاجات بأحكام وفُحصتْ الزجاجات بعد أسبوع لتعيين عصيات Rapid grower Mycobacteria سريعة النمو حتى لاتختلط بالمتفطرات السُّلية، ظهرت المستعمرات الدرنية للعصيات السُّلية بعد مرور 6–8 أسابيع بلون ابيض سكري، خشنة السطح ومتعرجة كالقرنبيط، واخذ جزء منها بإبرة الزرع ومُزج بقطرة من محلول الملح الفسيولوجي على شريحة زجاجية (علما إن العصية السلية لا تتأثر بالملح) وتُركت لتجف ثم ثُبتت على النار باستخدام مصباح بنزن وُصبغت بصبغة زيل نلسون فبدت بشكل عصيات حمراء أو وردية مع خلفية زرقاء بشكل عصيات أو خيوط رفيعة أو بشكل حزم أو مجاميع ، (دليل العمل ألمختبري, 2009).

9.3. تشخيص جرثومة المتفطرة السلية Differentiation M.Tb.

أُجريت ثلاثة فحوصات رئيسة لتعريف العصية السُّلية ولتمييزها عن باقي الفصائل التابعة لعائلة الجراثيم الفطرية وتم إتباع تعليمات الشركة Himedia, India المصنعة لهذه الفحوصات وهي:

1.9.3. اختبار النياسين Niacin detection K047 :

يتحرى اختبار النياسين عن النياسين المتراكم في الوسط ألزرعي للعصية السُّلية نتيجة لتفاعلات الأكسدة والاختزال التي تقوم بها العصيات السُّلية تحتوي العدة الخاصة باختبار النياسين على عشر زجاجات تحوي كل واحدة منها على 1 مليلتر من محلول 4% أنيلين (Aniline 4%) ورُمزَ لها Part A وعشر زجاجات أخرى تحوي كل واحدة منها على1مليلتر من محلول بروميد السيانوجين10% (Cyanogens bromide 10%) ورُمزَ لها Part B وزجاجة واحدة تحوي على 4 مليلتر من كاشف رُمزَ له R055، وأخيرا محقنتين معقمتين سعة الواحدة منها واحد مليلتر، (WHO, 1998) .

تحضير العينة للفحص :

1- أُخذت العينة من مزرعة نقية ذات نمو كثيف عمرها ثلاثة أسابيع أو أكثر ونامية على وسط لوفنشتاين جنسن .

ملاحظة : النتائج الخاطئة تعود إلى استخدام مزارع قليلة العدد أو من مزرعة نامية على وسط غير لوفنشتاين جنسن ولا يستخدم هذا الاختبار مع مزارع ملوثة .

2- أُضيف 2 مليلتر من الماء المقطر المعقم إلى الوسط ألزرعي .

3- قُطّعَ الوسط بوساطة ماصة باستور للسماح للماء المضاف الاتصال بالوسط الزرعي.

4- تُرك الوسط الزرعي المُعدّ في الخطوة السابقة بشكل أفقي لمدة عشرين دقيقة تحت درجة حرارة الغرفة 25م°

5- أُعيد الوسط الزرعي إلى الوضع العمودي وتُرك لمدة خمس دقائق .

6- أُستخدم 1 مليلتر من الماء المقطر السابق إضافته للوسط بوصفه عينة للفحص، (WHO, 1998) .

طريقة الاختبار Test procedure :

1- نُقل 1 مليلتر من Part A إلى 1 مليلتر من Part B و أُستخدم هدا الناتج ككاشف للمرحلة القادمة .

2- نُقل 1 مليلتر باستخدام المحقنة من عينة الاختبار السابق تحضيرها في الخطوة السادسة إلى Part A+ Par B الذي سبق تحضيره في الخطوة الأولى .

3- ظهرت النتيجة الموجبة بتكون اللون الأصفر بعد مرور خمس دقائق .

والنتيجة السالبة كانت بعدم حدوث أي لتغير اللوني، (WHO, 1998) .

تحضير الكنترول الموجب Positive control :

1- نُقل واحد مليلتر من Part A الى واحد مل من Part B .

2- نُقل واحد مل من كاشف R055 إلى Part A+Part B باستخدام المحقنة 1 مليلتر .

3- لوحظ حدوث تغير لوني إلى الأصفر خلال خمس دقائق، (WHO, 1998) .

تحضير الكنترول السالب Negative conterol :

1- نُقل واحد مليلتر من Part A إلى واحد مليلتر من (Part B) .

2- نُقل واحد مليلتر من الماء المقطر إلى الكاشف السابق Part A+ Part B باستخدام المحقنة، (WHO, 1998) .

قراءة النتائج Reading :

قُرأتْ النتائج على إنها موجبة عند تكون اللون الأصفر خلال خمسة دقائق وعدم حدوث أي تغير لوني دليل على النتيجة السالبة، (WHO, 1998) .

2.9.3.اختبار اختزال النترات Nitrate reduction test :

الاختبار الأكثر حساسية للتحري عن قابلية العصية السُّلية لاختزال النترات NO_3 إلى NO_2 وأُجري هذا الاختبار للمزارع التي يزيد عمرها عن 3-5 أسابيع وتظهر نمواً جيداً على وسط لوفنشتاين جنسن, تحوي العدة الخاصة باختبار النترات على عشرة أنابيب بلاستيكية تحتوي على دارئ النترات

0.01 $NaNO_3$) رُمزَ له R056 وعلى مسحوق كاشف النترات الخاص بعصيات التدرن 0.1) N-naphthyl ethylene-di amine solution) في زجاجة ذات محكمُ رمزَ لها R060 وتم تحضير 0.1 معياري من حامض الهيدروكلوريك بإضافة 1.2 مليلتر من حامض الهيدروكلوريك المركز إلى دورق زجاجي يحوي على 114.8مليلتر من الماء المقطر المعقم، (WHO, 1998) .

طريقة الاختبار Test procedure:

1- أُخذتْ مستعمرات حديثة النمو للعصيات السُّلية نامية على الوسط الزرعي لوفنشتاين جنسن بوساطة العروة المعدنية وحولت إلى مستحلب بمزجها جيدا مع R056 .

2- حُضنت تحت 37 م لمدة ساعتين في حمام مائي.

3- حُمض الدارئ بإضافة قطرتين من Hcl (0.1 N) .

4- أُضيف خمسة مليلترات من ماء مقطر معقم إلى كاشف النترات RO60 تحت ظروف معقمة ,وأضيف 2-3 قطرة من كاشف النترات إلى دارئ النترات الذي تم إعداده في الخطوات السابقة، (WHO, 1998) .

قراءة النتائج Reading :

قُرأتْ النتائج على أنها موجبة عند تكوّن اللون الأحمر خلال 30-60 ثانية فقط ، أما النتيجة السالبة فكانت بعدم حصول التغير اللوني، (WHO, 1998) .

3.9.3.إختبار الكتاليز Catalase test :

إنزيم catalase هو إنزيم داخل خلوي intracellular له القابلية على تحويل بيروكسيد الهيدروجين H_2 O2 إلى ماء H_2 O وأوكسجين O_2 يوجد إنزيم الكتاليز في السائل الخلوي لكل المتفطرات السُّلية، (WHO, 1998) .

طريقة الاختبار Test procedure:

طريقة التنقيط تحت 25م Drop Method تؤكد وجود الكتاليز :

تمت تحت درجة حرارة 25م، الكنترول السالب أُستخدم مستنبت غير ملقح، الكنترول الموجب أُستخدم LJ butt of Mtb H37Rv ، وضعت 1−2 نقطة من محلول Tween-peroxide على المستنبت المائل المحتوي على النمو روقب لمدة خمس دقائق وكانت النتيجة السالبة بعدم ظهور الفقاعات، والنتيجة الموجبة كانت بظهور الفقاعات، (دليل العمل المختبري, 2009).

طريقة 68م ورقم هيدروجيني (7) تؤكد فقدان نشاط الكتاليز نتيجة تكسيره بالحرارة :

وضع 1/2 مليلتر من محلول دارئ الفوسفيت (Phosphate buffer 0.067 M, pH 7) بماصة معقمة في أنبوب (16 X125) محكمة الغلق، لقح محلول دارئ الفوسفيت بالمستعمرة الجرثومية بوساطة عروة معدنية، وضعت بعدها في حمام مائي تحت درجة حرارة 68م ولمدة 20دقيقة، تم إخراج الأنابيب وتركت لتبرد، تم إضافة 1/2 مليلتر من محلول Tween-peroxide لكل أنبوبة وغطيت بعدها لوحظ ظهور الفقاعات على سطح السائل، تركت الأنابيب السلبية النتيجة لمدة 20 دقيقة قبل التخلص منها، النتيجة السالبة كانت بعدم ظهور الفقاعات، والنتيجة الموجبة كانت بظهور الفقاعات، (دليل العمل ألمختبري, 2009).

10.3. اختبار حساسية عزلات المتفطرات السُّلية للمضادات الحيوية Drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis*

تم الاعتماد على طريقة Proportion method لاختبار الحساسية بحسب تعليمات الشركة المصنعة Himedia, India للخطين الدوائيين الأول والثاني وتم أيضا إتباع الطريقة نفسها في زرع أوساط تشخيص المتفطرات السُّلية من وسط TCH ووسط PNB وكما يلي :

- عُلمت الأوساط الزرعية الحاوية على المضادات الحياتية و الأوساط التشخيصية وحسب رقم العينة وتُركتْ تحت درجة حرارة 25م°.
- حُضر العالق الجرثومي بتركيز 1 ملغم\مليلتر من مزرعة حديثة وكما يلي :

1. وزنت قنينة معقمة فارغة تحتوي على حبيبات زجاجية glass peads = وزن 1 .
2. أُخذ جزء من المزرعة البكتيرية ووضع في القنينة أعلاه ووزن للمرة الثانية = وزن2
3. وزن2− وزن1 = وزن المزرعة البكتيرية .
4. أُضيف بمقدار وزن3 حجم مساوي من محلول الملح السوي.

5. أُستُعمل جهاز vortex mixer لتفتيت المزرعة البكتيرية ولمدة دقيقتين .
6. حُضرت التخافيف اللازمة لعملية الزرع وبالشكل التالي :

أُخذت أربعة أنابيب اختبار معقمة ووضعَ في كل أنبوب منه 4.5 مليلتر من محلول الملح السوي وأُضيف للأنبوبة الأولى 0.5 مليلتر من العالق الجرثومي ونُقلت الكمية نفسها من الأنبوبة 1 إلى الأنبوبة 2 وهكذا إلى الأنبوبة 4 وأُهملت آخر 0.5 مليلتر من الأنبوبة 4 ، أُهملت الأنبوبتان 1و3 وأُستخدم التخفيف الثاني والرابع لغرض الزرع على الأوساط ألزرعية المعدة لدراسة حساسية الجرثومة وكذلك للزرع على الأوساط الزرعية الاعتيادية غير المحتوية على مضادات التدرن لغرض السيطرة control tubes ، (WHO, 1998) .

- ❖ تم تلقيح الوسط الزرعي للخط الدوائي الأول والثاني بإضافة 100ملي مايكرون واوساط تشخيص المتفطرة السُلية من وسط TCH ووسط PNB بوساطة ماصة دقيقة من التركيز الثاني والرابع الذي سبق تحضيرهما في الخطوات السابقة .
- ❖ وضعت الأوساط ألزرعية الملقحة في وضع مائل لمدة (2–4) أيام في الحاضنة حتى تمّ توزيع العالق الجرثومي على سطح المستنبت مع مراعاة عدم غلق الغطاء كاملا، ثم عُدّل وضعها بقية مدة الحضن التي استمرت (6–8) أسابيع عند درجة حرارة (35–37) مْ مع ضرورة غلق الغطاء بإحكام بعد مرور ثلاثة أيام لمنع جفاف المستنبت، (WHO, 1998) .

قراءة النتائج Reading :

سُجل عدد العزلات ومميزات الشكل المظهري، وحُسبت النتائج للتخفيف المعني بشكل نسبة مئوية كالأتي :

No. of colonies on drug medium \ No. of colonies on control medium*100= % Resistance

Sensitive : when<1%, when : stantResi>1% ,
Intermediate : when=1, (WHO,1998).

11.3. التحليل الإحصائي (Statistical Analysis)

أستعمل البرنامج SAS (2004) في دراسة تأثير العوامل المختلفة في النسب المدروسة ، وقورنت الفروق المعنوية بين النسب المختلفة باختبار مربع كاي (Chi-square) وعلى مستوى معنوية 5 و1%، (SAS,2004) .

الفصل الرابع

4. النتائج والمناقشة Results and discussion

يستعرض هذا الفصل النتائج التي أفرزتها هذه الدراسة بعد تحويلها إلى قاعدة بيانات حاسوبية وتحليلها إحصائيا

1.4. المريض ونوع العينة Patient and specimen

يعدّ السل الرئوي مرضاً معدياً ينتقل بالهواء إذ سجلت منظمة الصحة العالمية 8,8 مليون نسمة حالة جديدة من السل الرئوي حول العالم في آخر الإحصائيات لعام 2010 (WHO,2011\2012)، إن الظاهرة الأكثر خطراً على حياة البشرية هو ظهور السلالات المقاومة للخط الدوائي الأول والثاني وهو سبب الدراسة الحالية إذ تهدف إلى معرفة انتشارية المقاومة الدوائية للخط الدوائي الأول والثاني في محافظة ديالى إذ تم انتقاء 150 مريضاً من المرضى الوافدين إلى العيادة الاستشارية للأمراض الصدرية والتنفسية الكائن في قضاء بعقوبة من المشتبه (suspect) 90 مريضاً، والملامس(tread)3 مرضى، للحالات الجديدة (new cases)، مرضى المتابعة العلاجية (follow up) 5 مرضى، وحالات إعادة المعالجة (retreatment) من الناكس (relapse) 20 مريضاً والمزمن (chronic) 32 مريض، توزع المرضى على قطاعات ديالى إذّ كانت حصة قطاع بعقوبة (01) 91 مريضاً، قطاع الخالص(02) 23 مريضاً، قطاع المقدادية(03) 22 مريضاً، قطاع بلدروز(04) 4 مرضى، قطاع خانقين(05) 9 مرضى وقطاع المنصورية(06) مريضاً واحداً.

2.4. الزرع والتشخيص الجرثومي Culturing and Identification

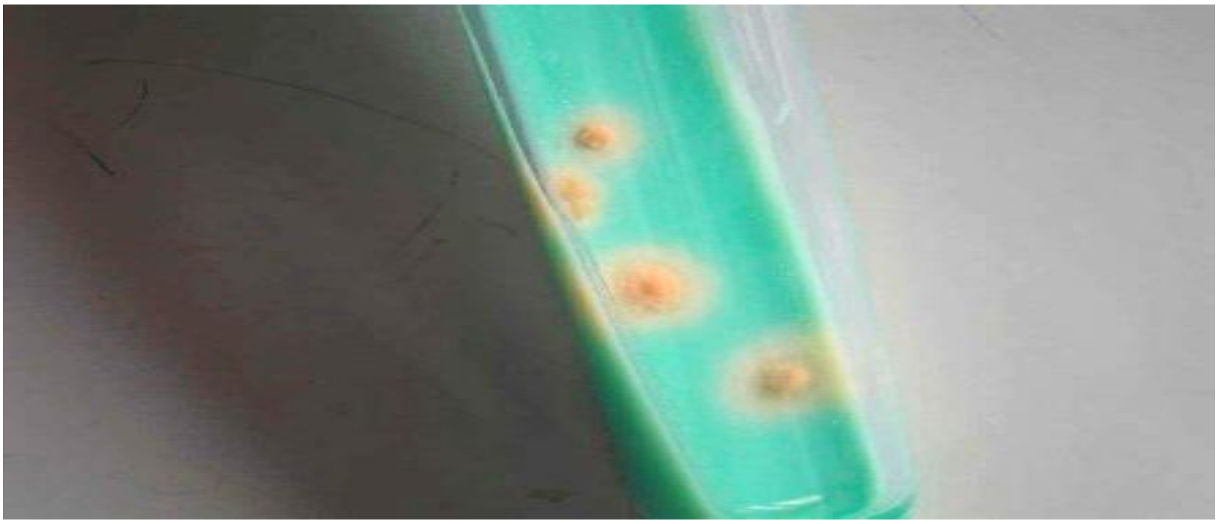
اجري فحص القشع المباشر بالعدة الخاصة بصبغة زيل نلسون لجميع عينات المرضى وكانت النتائج ايجابية في قشع 43 مريضاً وبنسبة 28.66% (شكل.a 4-1). تم زرع عينات150 مريضاً في مركز الأمراض الصدرية والتنفسية /المختبر المرجعي للتدرن على وسط لوفنشتاين جنسن وكانت النتائج موجبة في زرع عينة 50 مريضاً وبنسبة 33.33%، فُحصت المستعمرات النامية بالفحص المباشر باستخدام العدة الخاصة بصبغة زيل نلسون وكانت جميع العزلات موجبة للفحص، تتفق هذه النتائج جزئياً مع ما توصلت إليه دراسة أُجريت في اليونان Kalafati, *et al.*,(2008) لتشخيص المتفطرات السُلية لمرضى السل الرئوي إذ تم كانت نتيجة الفحص المباشر للقشع موجبة في 75 وبنسبة (55%) بينما كانت نتائج زرع العينات على وسط لوفنشتاين جنسن موجبة في 102 عينة وبنسبة (75%)، من الواضح من هذه النتائج انه لا يمكن الاعتماد تماما على نتيجة الفحص المباشر للقشع فهي اقل حساسية في تشخيص المتفطرات السُلية

البشرية من الزرع على وسط لوفنشتاين جنسن إذ إن زرع العينات على هذا الوسط الصلب يعدّ وسيلة أكثر حساسية في التحري عن المتفطرات السُّلية البشرية ولكن الفحص المباشر للقشع يبقى طريقة مفضلة في التشخيص لسهولة تحضيرها وقلة كلفتها وبساطة طريقة عملها(Rider, 2002)، إن الفحص المباشر لعينة قشع واحدة غير كافٍ فطريقة التصبيغ حساسة بنسبة (22-43%) في الكشف عن المتفطرات السُّلية البشرية، ولكن عمل المسحات لأكثر من مرة يمكننا من الكشف عن 96% من مرضى السُل الرئوي (Hanna, 1996)، وبالنتيجة فإن الزرع دليل مهم مساعد في التشخيص .

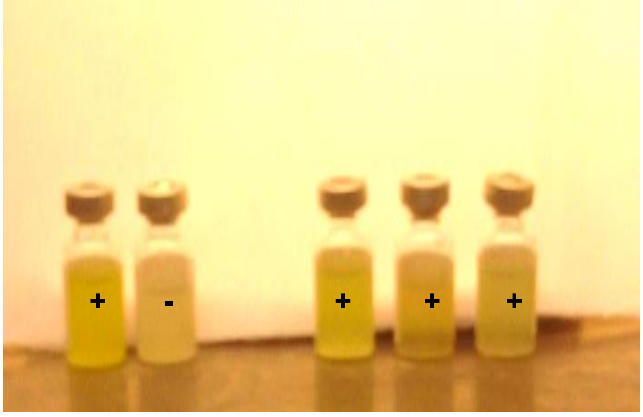
شكل (1-4 a.) شكل المتفطرات السُّلية تحت المجهر الضوئي عند استخدام صبغة (Z.N)×1000

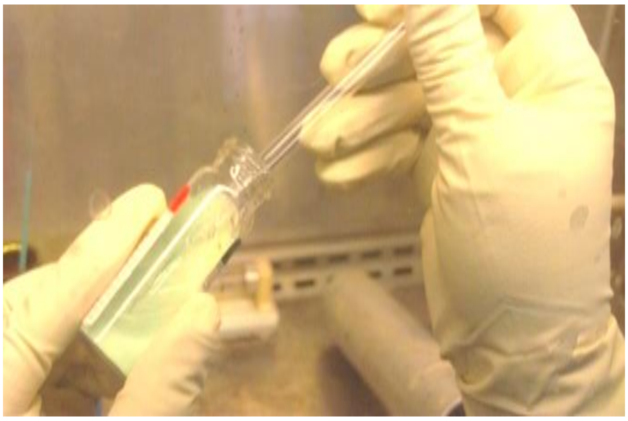
أجريت الفحوصات التقليدية في التشخيص الجرثومي لكل العزلات الجرثومية اعتماداً على المظهر الخارجي للمستعمرات الجرثومية morphology وعددها 3 فحوصات كانت جميع العزلات الجرثومية خشنة وبلون ابيض مصفر شكل (1-4b.)،(دليل العمل ألمختبري,2009). إن الفحص الأكثر أهمية في تشخيص المتفطرات السُّلية البشرية وأنواعها الأخرى هو الفحص البايوكيميائي لإنتاج النياسين واختزال النترات ففي دراسة أجرتها منظمة CDC لتشخيص المتفطرات السُّلية وجد إن هناك 95% من العزلات منتجة للنياسين شكل (1-4 c.) و 97% مختزلة للنايتريت شكل (1-4 d.) (Hanna, 1996)، من أهم الصفات الاخرى لعزلة المتفطرة السُّلية البشرية هو مقاومتها TCH 2mg\ml إذ تعدّ هذه المادة الكيميائية ضرورية لتمييز المتفطرة السُّلية البشرية *Mycobacterium tuberculosis* عن باقي أفراد مجموعة *Mycobacterium tuberculosis* complex التي تكون حساسة لهذا الاختبار. تكون عزلات المتفطرة السُّلية البشرية حساسة Para Nitro Benzoic (PNB) إذ تثبط هذه المادة الكيميائية نمو بعض أفراد مجموعة *Mycobacterium tuberculosis* complex منها *M. tuberculosis*

(Leao, *et al* ., 2004) شكل (1-4 e.)، بعد إجراء الفحوصات كافة أظهرت النتائج إن جميع العزلات الجرثومية تنتمي إلى مجموعة المتفطرات السُّلية *M. tuberculosis* complex وكما هو مبين في الجدول (1-4) ولم تظهر الفحوصات أي نوع من العصيات الدرنية سريعة النمو Rapid growing Mycobacteria أما فيما يخص تحديد مصادر العدوى إلى بشرية أو حيوانية فبسبب عدم توافر الإمكانيات والمستلزمات المختبرية لم يتم تحديد مصدر العدوى.

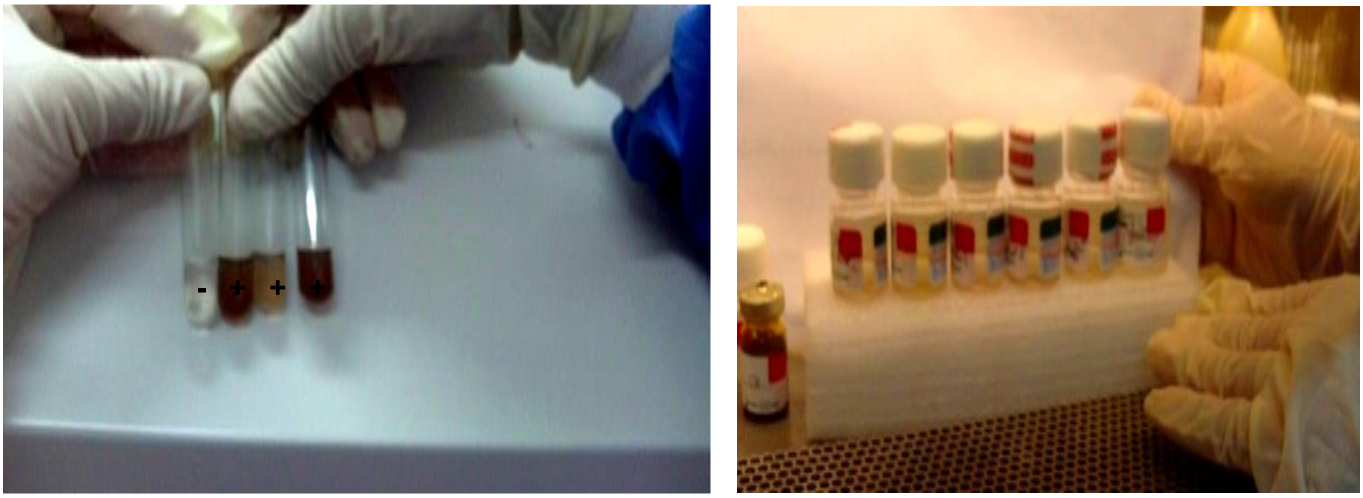


شكل رقم (1-4 b.) شكل مستعمرات المتفطرات السُّلية النامية على وسط لوفنشتاين جنسن





اختبار النياسين (1-4 c.)



اختبار اختزال النترات d.1-4

الأوساط الزرعية التفريقية للمتفطرات السلية والوسط الزرعي e.1-4

جدول (4-1) نتائج فحوصات التشخيص الجرثومي للمتفطرات السُلية

Catalase		Nitrate	Niacin	PNB	TCH	Pyruvate	نوع الفحص / نتيجة الفحص
68 c°	37 c°						
50	0	1	2	49	1	48	النتائج السالبة
0	50	49	48	1	49	2	النتائج الموجبة
50	50	50	50	50	50	50	المجموع

3.4. البيانات الديموغرافية الاجتماعية Social Demographic Data

1.3.4. العمر Age

تراوحت أعمار المرضى الذين شملتهم الدراسة من سنة واحدة إلى 90 سنة ولكن أعداد المرضى في هذه الفئات لم تتساو فعدد مرضى الفئة العمرية (1-10) كانت 5 مرضى فقط أما عدد مرضى الفئتين العمريتين(31-40) و(41-50) كانت 28 مريضاً لكل فئة, يعزى قلة عينات الأطفال لعدم قدرتهم في هذه المرحلة من العمر على إعطاء عينات القشع وصعوبة تشخيص مرضى السّل الرئوي من الأطفال عن باقي الإمراض الأخرى مثل ذات الرئة أو ذات الجنب, سجلت منظمة الصحة العالمية عام(1990) 1.3 مليون حالة سل رئوي جديدة في الأطفال وبلغ عدد الوفيات450.000 طفل دون سن الخامسة عشر(Lawrence, 1996) أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فروق معنوية عند مستوى معنوية (P<0.05) إذ إن أعلى معدلات الإصابة بالسل الرئوي كانت ضمن الفئة العمرية (21-30) سنة التي بلغت 9.3% وأقل نسبة كانت ضمن الفئتين العمريتين (11-20) و(71-80) سنة إذ بلغت 1.3 % من مجموع 150مريضاً, كما هو موضح في الجدول(4-2), اتفقت هذه النتائج جزئيا مع النتائج التي حصل عليها (Abdul razzak,(2000 في دراسته التي أجراها في محافظة ديالى إذ بلغت أعلى نسبة إصابة في الفئة العمرية (19-49) وبنسبة 79.2% اما الفئتين العمريتين (50<) و(5-18) فبلغ عدد الاصابات 64 و39 وبنسبة 12.9% و7.9% على التوالي، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي أجرتها(Khalida (2008 في بغداد إذ سجلت أعلى نسب الإصابة في الفئة العمرية (21-30) وبلغت 36,6%, أشارت دراسة أجريت في جنوب أفريقيا (Schaaf, *et al.*,(2010 إلى إن وبائية السل متباينة

بالنسبة للفئة العمرية وبحسب المناطق الجغرافية فأعلى حالات الإصابة بالسل الرئوي في البلدان النامية تحدث في الأطفال الرضع الأقل من سنة إذ يكون الجهاز المناعي غير ناضج أما في البلدان المتقدمة التي تتصف بالشيخوخة السكانية فإن أعلى حالات السل الرئوي في فئة كبار السن (أكبر من 65) سنة.

جدول (4-2) العدد والنسبة المئوية لمرضى السل الرئوي مقسم حسب الفئة العمرية من عينة حجمها 150 مريض

الفئة العمرية	عدد الحالات السالبة	عدد الحالات الموجبة	النسب المئوية للحالات الموجبة %
10-1	5	0	0
20-11	7	2	1.3
30-21	14	14	9.3
40-31	15	13	8.7
50-41	18	10	6.7
60-51	16	5	3.3
70-61	20	4	2.6
80-71	4	2	1.3
90-81	1	0	0
المجموع	100	50	*3.80

* (P<0.05).

2.3.4. الجنس Sex

أظهرت نتائج الدراسة الحالية فروقاً معنوية عند مستوى معنوية (P<0.05) بين نسبة الإصابة في كلا الجنسين إذ أظهرت ارتفاع نسب الإصابة بالسُل الرئوي عند الذكور مقارنة بالإناث فبلغت النسبة المئوية للذكور 21.3% أما الإناث فكانت 12% وكما هو موضح في الجدول (4-3)، تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسة التي أجرتها بديوي (2011) إذ سجل الذكور أعلى نسب الإصابة بالسل الرئوي

وبنسبة 65,42% أما نسبة الإصابة في الإناث فبلغت 34,58% وتتفق أيضا مع الدراسة التي أجراها Azher (2006) في بغداد إذ بلغت نسبة إصابة الذكور 23% ونسبة الإصابة في الإناث 7% الذي أشار إلى إن نسبة حدوث السُل الرئوي في الذكور أعلى من الإناث يعزى ذلك إلى السلوك الاجتماعي في مجتمعنا إذ يكون فيه الذكر هو المسؤول عن كسب لقمة العيش مما يجعله أكثر عرضة لمرضى السُل الرئوي أشارت منظمة الصحة العالمية (WHO, (2008d في إحصائية لها إلى إن تشخيص حالات السل الرئوي عند الذكور أكثر من الإناث وكذلك نسبة الوفيات الناجمة عنه ويعزى ذلك إلى الاختلاف في التعرض لخطر العدوى، كما أشارت منظمة الصحة العالمية (WHO,(2012 أنّ إصابات السل الرئوي ووفياته في معظم أنحاء العالم، بين الرجال تفوق إصاباته ووفياته بين النساء، غير أنّ السل الرئوي من أهمّ الأمراض المعدية المسبّبة للوفاة بين النساء، فلا يمرّ عام واحد إلاّ ويشهد وفاة نحو 750000 امرأة بسبب هذا المرض وإصابة أكثر من ثلاثة ملايين امرأة به. لكن هذه النسب لا تتفق مع الدراسة التي أجراها(Abood (2004 إذ أظهرت دراسته ارتفاع نسب الإصابة بالسل الرئوي عند الإناث مقارنة بالذكور في محافظة الديوانية وعزى ذلك إلى إن مجتمع الديوانية يسمح للإناث بكسب عيشهن وبالتالي سيكن عرضة لمصادر العدوى. اتفقت هذه النتائج جزئياً مع دراسة أُجريت في المملكة العربية السعودية (Mohamad,*et al*.,(2009 إذ كان عدد إصابات السل الرئوي في الذكور أعلى من الإناث لسكان السعودية من العرب ولكن عدد الإصابات كان أعلى في الإناث مقارنة بالذكور بين العمال الأجانب في السعودية .

جدول (4−3) النسب المئوية لإصابات السُل الرئوي موزعة بحسب الجنس

الجنس	الذكور	الإناث	قيمة مربع كاي (χ^2)
النسبة المئوية للعينات الموجبة	%21,3	%12	* 3.72
النسبة المئوية للعينات السالبة	%38,7	%28	* 3.72
قيمة مربع كاي	* 4.69	* 4.58	---

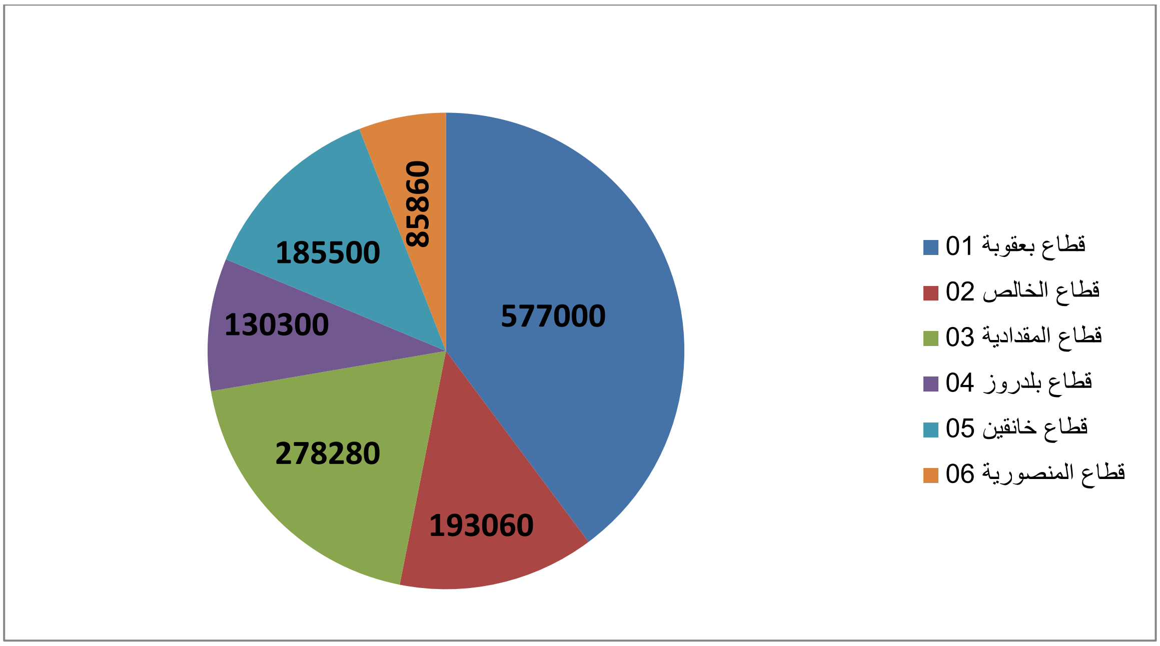
* ($P<0.05$).

3.3.4. التوزيع الجغرافي حسب القطاعات الصحية

Distribution of Tb. According to Districts

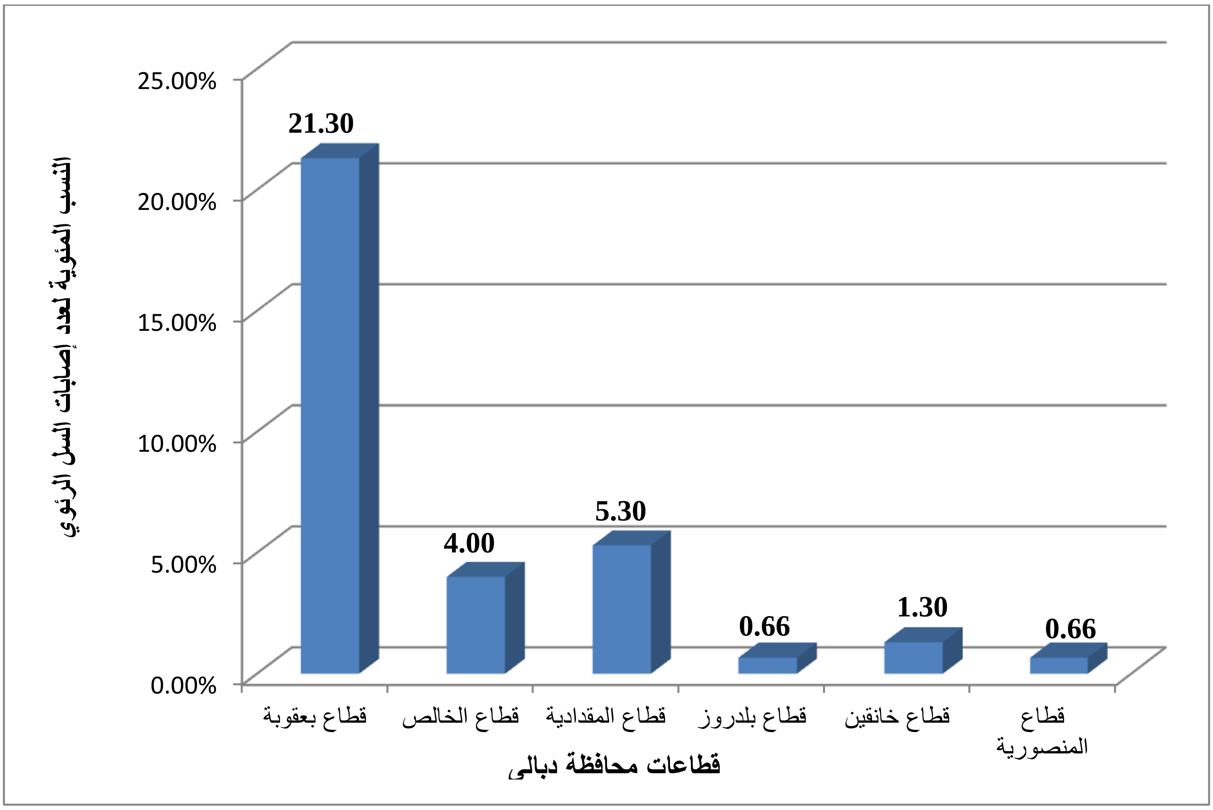
توزع المرضى حسب مناطق سكناهم خمسة قطاعات، إن أعداد المرضى من كل قطاع لم تكن متساوية إذ كان عدد المرضى من قطاع بعقوبة 91 مريضاً، من الخالص 23 مريضاً، من المقدادية 22 مريضاً، من بلدروز 4 مرضى، من خانقين 9 مرضى ومن المنصورية مريض واحد، أظهرت نتائج الدراسة الحالية فرقاً معنوياً عالياً عند مستوى (P<0.01) إذ شكّل قطاع بعقوبة أعلى نسبة من حالات الإصابة بالسُل الرئوي بلغت 32 حالة وبنسبة 21.3%، أما اقل نسبة كانت من حصة قطاعي بلدروز والمنصورية إذ سُجلت حالة واحدة فقط وبنسبة 0.66% لكل منهما وكما هو موضح فـــي الشكل (4-3)، يعزى السبب في ارتفاع نسبة السل الرئوي في قطاع بعقوبة إلى ازدياد التعداد السكاني في قطاع ديالى مقارنة بباقي القطاعات، كما هو موضح في الشكل (4-2) .

شكل (4-9) خارطة محافظة ديالى Goolemaps.@2012Google



شكل (4-2) التعداد السكاني لقطاعات محافظة ديالى

التعداد السكاني وفقا لأخر تحديث لدائرة صحة ديالى سنة 2011



قيمة مربع كاي(χ^2) **5.89 عند مستوى دلالة ($P<0.01$)

شكل (4-3)النسب المئوية للحالات الموجبة موزعة حسب قطاعات ديالى

4.3.4. حالات السل الرئوي السريرية Clinical type of Tb. Cases

تم تصنيف المرضى قيد الدراسة إلى مشتبه (حالة جديدة لم يسبق له تناول مضادات السل الرئوي)، متابعة (هو المريض ضمن فترة معالجة السل الرئوي)، ناكس و مزمن (قديم، سبق له وان تناول مضادات السل الرئوي) وملامس (حالة جديدة لم يسبق له تناول مضادات السل الرئوي، لكن احد أفراد عائلته مصاب بالسل الرئوي) وأظهرت نتائج الدراسة الحالية فروقاً معنوية عند مستوى معنوية (P<0.05) إذ كان عدد الإصابات بالسُل الرئوي في المشتبه (جديد) 18 إصابة وبنسبة 12% يعزى ارتفاع نسبة الإصابة في المشتبه إلى كبر حجم العينة التي بلغت 90 مريضاً مقارنة بباقي الحالات، عدد الإصابات في المتابعة العلاجية صفر، عدد الإصابات في الناكس 18 إصابة وبنسبة 12% يعزى ارتفاع نسبة الإصابة في الناكس إلى عدم التزامه بالعلاج بالكمية والفترة المحددة، عدد الإصابات في المزمن (قديم) 12اصابة وبنسبة 8% وعدد إصابات الملامس (جديد) 2 وبنسبة 1.3%، يعزى إصابة الملامس بالسل الرئوي إلى طول مدة تعرضه لمصدر الإصابة، اتفقت هذه النتائج جزئياً مع الدراسة التي أُجريت في بنغلادش Banu, *et al.*,(2012) إذ كانت نسبة الاصابة بالسل الرئوي في المرضى الذين سبق لهم وان تناولوا مضادات السل الرئوي هي الاعلى وبنسبة 88% مقارنة بالحالات الجديدة الذين لم يسبق لهم تناول مضادات السل الرئوي إذ بلغت نسبتهم 12% . الجدول (4-4) .

جدول (4-4) عدد الحالات الموجبة والسالبة للسُل الرئوي موزعة حسب حالات السل الرئوي السريرية

صنف المريض	المشتبه (جديد)	المتابعة	الناكس	المزمن (قديم)	الملامس (جديد)	قيمة مربع كاي (χ^2)
عدد الحالات السالبة	72	5	2	20	1	* 3.94
عدد الحالات الموجبة	18	0	18	12	2	
النسبة المئوية للحالات الموجبة	%12	%0	%12	%8	%1,3	

* (P<0.05).

4.4. المقاومة الدوائية Drug Resistant

إن السيطرة على السل الرئوي تبقى دائماً أصعب المشاكل الصحية حول العالم (WHO, 2006b)، لكن الخطر الجديد الذي يهدد العالم هو ظهور السلالات المقاومة للخط الدوائي الأول (Lawn, 2006)، تتولد المقاومة الدوائية بصورة رئيسة من وصفة طبية خاطئة أو انقطاع المريض عن تناول العلاج أو تناول المريض العلاج بصورة غير منتظمة يؤدي ذلك إلى حدوث الطفرة المكتسبة ويحدث أن يصاب الشخص أيضا بالعدوى من مريض مصاب بالسل الرئوي المقاوم, (Braden, *et al.*,1996) .

إن التحري عن المقاومة الدوائية أمر مهم في العلاج والسيطرة على السل الرئوي وتعزى المقاومة الدوائية في المتفطرة السُّلية إلى غلافها غير العادي والمتعدد الطبقات، وقابليتها على معادلة سموم المضادات الحياتية في السايتوبلازم والى عدم نفاذية العديد من المضادات الفعالة إلى داخل العصية (De Rossi, *et al* ., 2006)، تعزى المقاومة المكتسبة في العديد من أنواع الجراثيم إلى توسط البلازميدات والترنسبوزونات لكن المقاومة المكتسبة في المتفطرة السُّلية تعزى إلى طفرات في جينات الكروموسوم (Heym, *et al.*, 1994)، إذ لا توجد طفرة مفردة تؤدي إلى ظهور سلالة المتفطرة السُّلية البشرية متعددة المقاومة الدوائية (MDR. Tb.) إذ إن النمط المظهري للسلالة متعددة المقاومة الدوائية ينتج عن تعاقب وتراكم طفرات مختلفة في مختلف الجينات التي تدخل في المقاومة لدواء واحد نتيجة لعلاج غير ملائم أو فترة علاج غير كافية (Zhang, and Telenti, 2000)، مع ذلك إن بعض السلالات المقاومة لا تظهر هذه الطفرات النمطية ويعتقد بوجود آليات أخرى مثل تغيير نفاذية الجدار الخلوي cell wall permability ومضخات الدفق efflux pumps (Juan,*et al* ., 2011) .

1.4.4. مقاومة المتفطرات السُّلية لأدوية الخط الدوائي الأول

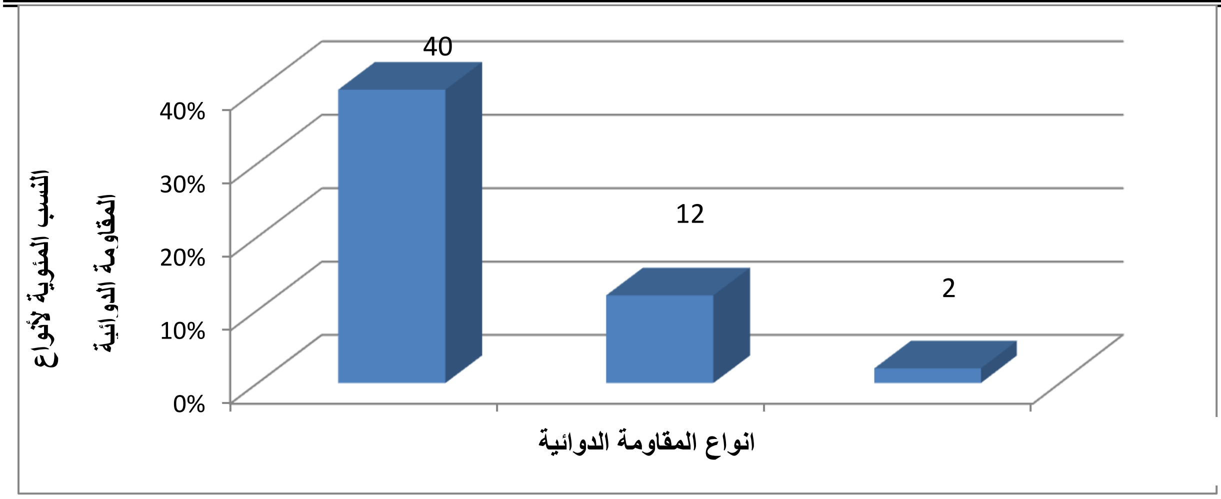
M. tuberculosis resistant to first line drug

الخط الدوائي الأول لمضادات التدرن هو التوليفة الدوائية التي أقرها برنامج العلاج القصير الأمد تحت الإشراف المباشر (DOTs) ويتألف من الأيزونيازيد، والريفامبسين، وأثيونامايد، والستربتومايسين والبيرازينامايد، تسمى العزلة المقاومة لواحد من مضادات الخط الدوائي الأول بفردية المقاومة (monoresistant)، وتسمى العزلة المقاومة لأكثر من مضاد عدا الجمع بين الريفامبسين والأيزونيازيد بعديدة المقاومة (polyresistant)، أما العزلات التي تبدي المقاومة للريفامبسين والأيزونيازيد تسمى

بمتعددة المقاومة الدوائية Multi Drug Resistant شكل (8-4.a) وهي الشكل الأكثر خطورة من المقاومة الدوائية (WHO, 2008b)، إذ يعدّ هذان المضادان الأكثر فاعلية وأقل سمية وأقل كلفة، لا يتم وصف أدوية الخط الأول منفردة لمريض السّل الرئوي منعاً لظهور المقاومة الدوائية المكتسبة، إذ إن لكل مضـــاد مـــنها تأثير مـختلف بمجموعها وضـمن فـترة مـعينة تـقضي علـى جـرثومة الـسّل الـرئوي (Juan, *et al*., 2011).

إن التشخيص المبكر للمقاومة الدوائية خطوة مهمة في برامج السيطرة على السل الرئوي بوساطته يتمكن المريض من الحصول على الدواء المناسب لعلاجه ويسمح بالكشف عن المقاومة الدوائية في منطقة جغرافية معينة، في الدراسة الحالية اعتمدت الطرق التقليدية في تشخيص المقاومة الدوائية اعتماداً على المظهر الخارجي phenotype إلا إنها استغرقت فترة زمنية طويلة (6-8) أسابيع للخط الدوائي الأول و(6-8) للخط الدوائي الثاني مقارنة بالطرائق الحديثة التي تعتمد على المظهر الجيني genotype ، مثل تقنية سلسلة تفاعل البوليمرات (PCR) ، إذ أنها أسرع ولا تحتاج إلى نمو المتفطرات السُلية على الأوساط الزرعية وتمكننا من التحري المباشر للعينة واقل خطورة على العاملين علما إن ليست كل الميكانيكيات الجزيئية للمقاومة الدوائية متوافرة (Juan,*et al* , 2011) .

إن الطرائق التقليدية في التحري عن المقاومة الدوائية للمتفطرات السُّلية تعتمد على النمط المظهري لمستعمرات المتفطرة السُّلية النامية على الأوساط الزرعية الصلبة والتي تحتوي على التركيز المثبط الأدنى للمضادات الرئيسة للسّل الرئوي تضمنت زراعة 50 عزلة من عزلات المتفطرات السلية على العدة الخاصة بفحص الحساسية للخط الدوائي الأول وبعد مدة حضن استمرت (6-8) أسابيع أظهرت نتائج الدراسة الحالية لفحص الحساسية للخط الدوائي الأول فروقاً معنوية عالية عند مستوى معنوية ($P<0.01$) إذ ظهرت 20 عزلة متعددة المقاومة الدوائية وبنسبة 40% ، وعدد العزلات فردية المقاومة الدوائية 6 عزلات وبنسبة 12% و 1عزلة عديدة المقاومة وبنسبة 2%، لم تتفق هذه النتائج مع الدراسة التي أُجريت في النيبال Bijaya, *et al*.,(2012) إذ كانت النسبة المئوية any-resistant لفردية ومتعددة المقاومة الدوائية هي الاعلى إذ بلغت 19.2% لخمسين عزلة أما عدد العزلات المتعددة المقاومة الدوائية فبلغت 16 عزلة وبنسبة 16.1% كما في الشكل (4-4) .



قيمة مربع كاي(χ^2) 7.388 ** عند مستوى معنوية ** (P<0.01).

شكل (4-4) النسب المئوية للمقاومة الدوائية للخط الدوائي الأول لعزلات المتفطرة السلية 50عينة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فروق معنوية عند مستوى معنوية (P<0.05) في مقاومة عزلات المتفطرة السُّلية لمجموعة مضادات الخط الدوائي الأول إذ كانت 10 من العزلات مقاومة IRS و7 من العزلات مقاومة IERS ولم تتفق هذه النتيجة تماماً مع ما توصل إليه(2006) Azher إذ أظهرت نتائج دراسته 40 عزلة مقاومة IERS و8عزلات مقاومة IRS واتفقت نتيجة مقاومة IERS مع ما توصلت إليه بديوي (2011) إذ احتلت المقاومة IERS المرتبة الثانية و حصلت على 23 عزلة مقاومة IERS, وأظهرت نتائج الدراسة الحالية 2 من العزلات مقاومة IEPRS و1 من العزلات مقاومة IPRS وكما هو موضح في الجدول (4-5) .

جدول (4−5): مجموعة المضادات الحياتية للخط الدوائي الأول التي

تقاومها عزلات المتفطرة السُلية المتعددة المقاومة الدوائية

مجموعة من مضادات الخط الدوائي الأول	عدد عزلات MDR المقاومة	النسبة المئوية (%)
IRS	10	20
IERS	7	14
IEPRS	2	4
IPRS	1	2
قيمة مربع كاي(χ^2)	---	* 4.79

* ($P<0.05$) .

I = Isoniazid **P = Pyrazinamide** **E = Ethambutol**

R = Rifampcin **S = Streptomycin**

2.4.4. مقاومة المتفطرات السُلية لكل مضاد من الخط الدوائي الأول

M. tuberculosis **Resistant to each anti-Tb. of first line drug**

أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فروق معنوية عالية عند مستوى معنوية ($P<0.01$) في مقاومة عزلات المتفطرة السُلية لكل مضاد الخط الدوائي الأول كما هو موضح في الجدول (4-6) .جدول

(4-6) النسب المئوية للعزلات المقاومة لكل مضاد من مضادات الخط الدوائي الأول

أسم المضاد	عدد المقاوم	النسبة المئوية (%)	عدد الحساس	النسبة المئوية (%)	المجموع	مجموع النسب المئوية(%)
I	22	44	28	56	50	100
E	9	18	41	82	50	100
P	3	6	47	94	50	100
R	23	46	27	54	50	100
S	21	42	29	58	50	100
قيمة مربع كاي(χ^2)	--	** 7.691	--	** 6.452	--	($P<0.01$)**

1.2.4.4. المقاومة للريفامبسين Resistance to Rifampicin

يعدّ الريفامبسين من أقوى مضادات الخط الدوائي الأول إذ يرتبط بوحدات β لإنزيم RNA polymerase،إن التردد الطبيعي للطفرة التلقائية في المتفطرة السُلية لمقاومة الريفامبسين هو 10^{10} (David, 1970)، أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن عدد العزلات المقاومة للريفامبسين هي الأعلى من بين مضادات الخط الأول وبلغت 23 عزلة وبنسبة 46%، يعزى السبب في مقاومة المتفطرات السُلية لهذا المضاد إلى استخدامه الشائع في معالجة الأمراض المختلفة غير مرض السل الرئوي فضلاً عن الطفرات في الوحدات الفرعية β للإنزيم الهدف وهو المسؤول عن فقدان الحساسية الدوائية لهذا المضاد ويتم ذلك تحت سيطرة الجين *ropB* الذي يشفر للوحدات الفرعية β، (Herrera, *et al*., 2003)، تتفق هذه النتائج مع النتائج التي حصلت عليها(2008) Khalida إذ كانت العزلات أعلى مقاومة لمضاد الريفامبيسين وبنسبة 67.4% وتتفق كذلك مع النتائج التي حصل عليها (2006) Azher إذ كانت العزلات أعلى مقاومة للريفامبيسين وبنسبة 50%، تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة Jun, *et al*.,(2007) إذ بلغت نسبة عدد العزلات المقاومة 97%. لم تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره(2002) Issam إذ أظهرت هذه الدراسة أن نسبة مقاومة مضاد الريفامبيسين لم تكن أعلى نسبة وبلغت25,7%، ولم تتفق ايضا مع الدراسة التي أُجريت في بنغلادش(2012) Banu, *et al*., إذ احتلت نسبة المقاومة للريفامبيسين المرتبة الثالثة وبنسبة 76.7% من بين مضادات الخط الدوائي الاول .

2.2.4.4.المقاومة للأيزونيازيد Resistance to Isoniazide

يعدّ الأيزونيازيد حجر الزاوية في علاج السل الرئوي (Ridar, 2002). يمكن للمتفطرات السُلية مقاومة الأيزونيازيد من خلال حذف جين *kat G*الذي يكون مرتبطاً catalase-peroxida sesystem الذي يكون موجوداً فقط في خلية المتفطرة السُلية (بدائية النواة) بالإضافة إلى طفرة في الجين *inh A* الذي يمكن أن يؤدي إلى مقاومة الأيزونيازيد، إذ أن الاوبيرون *inh A* في المتفطرة السُلية يتكون من جينين يتداخلان في الصناعة الحيوية للدهون(Riska, *et al*., 2000)، تحدث الطفرة التلقائية في جين الإنزيم الهدف للأيزونيازيد بمعدل 10^8 (David, 1970)، أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن المقاومة لمضاد الأيزونيازيد تأتي بالمرتبة الثانية فعدد العزلات المقاومة للمضاد هو 22عزلة وبنسبة 44% ، تتفق هذه النتائج مع النتائج التي حصل عليها Azher(2006) إذ بلغت نسبة المقاومة للمضاد 29% ولم

تتفق مع النتائج التي حصل عليها Issam(2002) الذي أظهرت نتائج دراسته أن أعلى نسبة مقاومة كانت لمضاد الأيزونيازيد إذ بلغت 30% ولم تتفق أيضا مع الدراسة التي أجريت في السعودية Khan, *et al*, (2001) إذ أظهرت أعلى نسبة مقاومة في الايزونيازيد وبلغت 28,7% .

3.2.4.4.المقاومة للستربتومايسين Resistance to Streptomycin

يعدّ الستربتومايسين مضاداً مهماً من مضادات الخط الدوائي الأول إذ يعمل على تثبيط صناعة البروتين في خلية المتفطرة السُلية تحدث المقاومة للستربتومايسين في خلية المتفطرة السُلية نتيجة للطفرة في جين *rrs* الذي يشفر 16SrRNA أو طفرة في الجين *rps L* الذي يشفر للبروتين الرايبوسومي S_{12} (Sharma, *et al*., 2007)، تتولد الطفرة التلقائية بمعدل 10^8 (David, 1970)، أظهرت نتائج الدراسة الحالية 21 عزلة مقاومة للستربتومايسين وبنسبة 42% تتفق هذه النتائج مع ما توصلت إليه بديوي (2011) إذ بلغت نسبة العزلات المقاومة للمضاد في دراستها 17.54% وتتفق مع الدراسة التي أجراها Azher(2006) إذ بلغت نسبة المقاومة للمضاد في دراسته 21% وتتفق هذه النتائج مع الدراسة التي أجراها Issam(2002) إذ جاءت نسبة المقاومة للستربتومايسين بالمرتبة الثالثة في دراسته إذ بلغت نسبة المقاومة للستربتومايسين22.9 % ، لكن لم تتفق مع الدراسة التي أجريت في أديس أبابا في أثيوبيا Abate, *et al*.,(2012) إذ سجلت أعلى نسبة مقاومة في الستربتومايسين وبلغت 67,3% .

4.2.4.4.المقاومة للأيثامبيتول Resistance to Ethambitol

يعمل الأيثامبيتول على تثبيط الصناعة الحيوية لجدار خلية المتفطرة السُلية من خلال تداخله غير المباشر في الصناعة الحيوية لحامض المايكولك إذ يتداخل الأيثامبيتول في الصناعة الحيوية للأرابينوكالاكتان (Zhang and Telenti, 2000)، معدل الطفرة التلقائية الطبيعية للأيثامبيتول هـو 10^7 (David, 1970)، أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن عدد العزلات المقاومة للأيثامبيتول بلغت 9عزلات وبنسبة 18%، توافقت نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي حصلت عليها بديوي (2011) إذ بلغ عدد العزلات المقاومة 3عزلات وبنسبة 5.27% و اتفقت مع النتائج التي حصل عليها (2006) Azher إذ بلغ عدد العزلات المقاومة للريفامبسين 13عزلة وبنسبة 61.9% وتتفق أيضا مـع دراسـة Su. *et al*.,(2008) التي أجريت في تايون إذ بلغت نسبة العزلات المقاومة 1.6% وكانت بالمرتبة

الرابعة، واتفقت جزئياً هذه النتائج ايضا مع الدراسة التي أُجريت في بنغلادش(Banu, *et al*.,(2012 إذ كانت نسبة مقاومة العزلات 79.4% واحتلت المرتبة الرابعة .

5.2.4.4.المقاومة للبيرازيناميد Resistance to Pyrazinamide

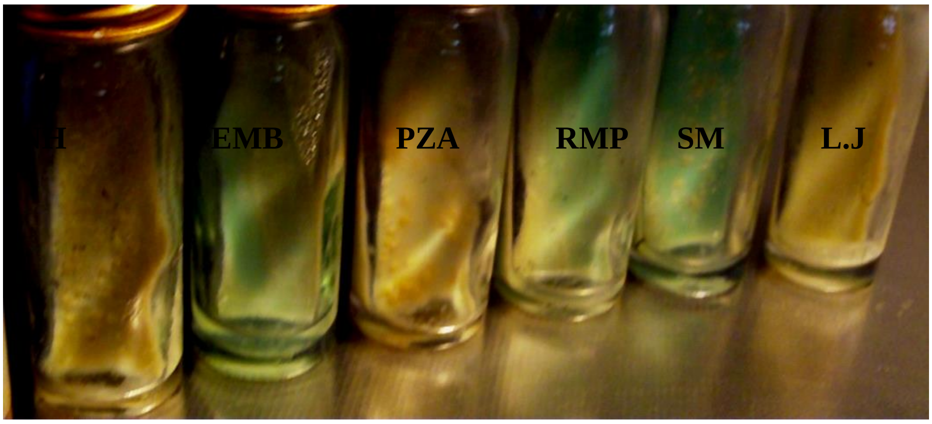
ينتشر البيرازيناميد الى داخل خلية المتفطرة السُّلية ويعمل انزيم بيرازيناميديز pyrazinamidase المتوافر في الخلية على تحويل البيرازيناميد الى حامض البيرازينويك pyrazinoic acid الذي بدوره يتراكم في خلية المتفطرة السُلية تحت ظروف حامضية ويعمل على تعطيل الانزيم المسؤول عن صناعة الدهون fatty acid synthase وبالتالي تعطيل الصناعة الحيوية للدهون في خلية المتفطرة السُلية(Zimhony, *et al*.,2000)، تتولد المقاومة للبيرازيناميد نتيجة لطفرة في الجين *pnc A* الذي يشفر للانزيم بيرازيناميديز (Scorpio and Zhang, 1996). أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن عدد العزلات المقاومة للبيرازيناميد بلغ 3عزلات فقط وبنسبة 6% ، يوصف البيرازيناميد مع بقية الخط الدوائي الأول في معالجة السل الرئوي إذ يعمل على تقليل فترة المعالجة فالوصفة الدوائية الخالية من البيرازيناميد تستمر لتسعة أشهر أو أكثر، يعدّ البيرازيناميد مضاداً قوياً إلا انه لا يوصف لعلاج السل الذي تسببه المتفطرة السُّلية البقرية بوصفها مقاومة له بالفطرة (CDC, 2000) ولم تتفق نتائج هذه الدراسة مع دراسة Su. *et al*.,(2008) التي أجريت في تايون إذ أظهرت العزلات في تايوان أعلى نسبة مقاومة للبيرازيناميد وبلغت 80% وهي نسبة عالية جداً مقارنة بالدراسة الحالية، كما هو مبين في الجدول (4-6) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم توافر فروق معنوية بين العزلات فردية المقاومة الدوائية للخط الدوائي الأول كما هو موضح في جدول (4-7) .

جدول (4-7) عدد العزلات فردية المقاومة الدوائية monoresistant من مجموع 50 عزلة

رمز المضاد	I	E	P	R	S	قيمة مربع كاير(χ^2)
عدد العزلات المقاومة له فقط	2	0	0	3	1	--
النسبة المئوية	%4	%0	%0	%6	%2	1.09 NS

NS: غير معنوي.



شكل (8-4.a)الأوساط الزرعية الخاصة بمضادات الخط الدوائي الأول (عزلة MDR)

3.4.4. البيانات الديمغرافية الاجتماعية Social Demographic Data

1.3.4.4 العمر Age

أظهرت نتائج الدراسة الحالية فرق معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05) بين نسبة الإصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية حسب الفئة العمرية إذ شكلت الفئات العمرية من 21 إلى 50 أعلى نسب إصابة بالمقاومة الدوائية المتعددة وكانت فئة (21–30) هي الفئة الأعلى من بين المجموعة وبنسبة 16% كما هو موضح في الجدول(4–8)، وجاءت هذه النتائج متفقة مع الدراسة التي أجرتها Ola,(2012) في مصر في الإسكندرية إذ سجلت أعلى نسبة إصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية في الفئة العمرية (25–45) وتتفق هذه النسبة أيضا مع النسبة التي أجريت في أحد مستشفيات جورجيا عام 2009 (Vashakidze,*et al*, 2009)، إن اقل نسب المقاومة الدوائية المتعددة سجلت في الفئتين العمريتين (61–70) و (71–80) وبنسبة 0.6%، وجاءت هذه النتائج متفقة مع النتائج التي حصلت عليها (Ola(2012 إذ سجلت اقل نسبة للمقاومة الدوائية المتعددة في الأعمار التي تزيد عن 65 سنة ويعزى ذلك إلى نمط حياة كبار السن بوصفهم قليلي الحركة والاختلاط وكثيراً ما يفضلون البقاء في البيت، وتتفق هذه النسب أيضا مع إحصائيات منظمة الصحة العالمية التي أجرتها في نهاية التسعينيات إذ أظهرت إن انتشارية السل الرئوي المتعدد المقاومة اقل نسبة عند المسنين (WHO, 2000b)، اتفقت نتائج الدراسة الحالية جزئيا مع دراسة Balaji, *et al*.,(2010) التي أجراها في الهند إذ كانت أعلى معدلات الإصابة بالسل الرئوي في الفئة العمرية (20-31) وبلغت 0.78% واقل معدلات الإصابة في الفئة العمرية (31-40) وبنسبة 0.12%، الجدول (8).

جدول (4-8): العدد والنسبة المئوية لمرضى المقاومة الدوائية

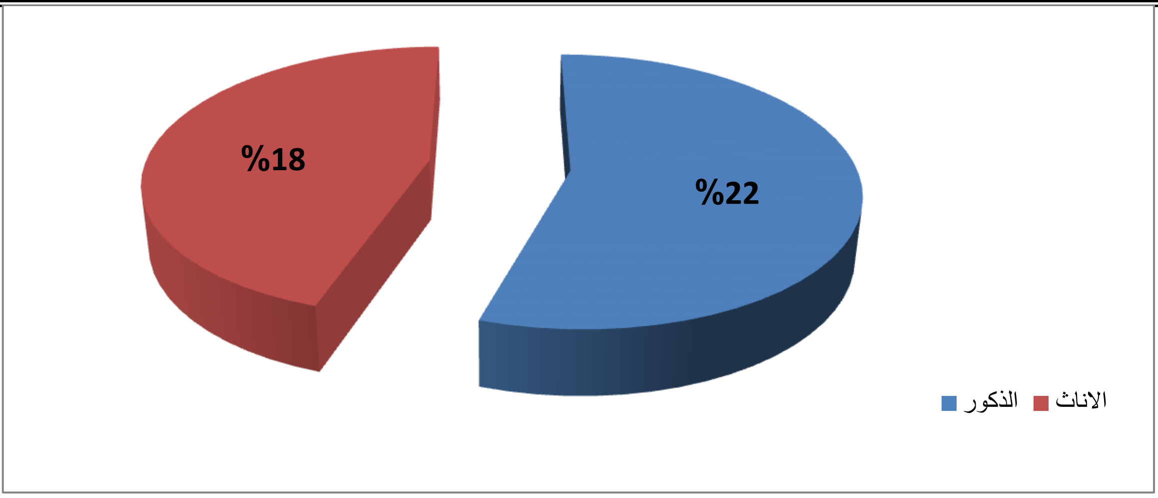
المتعددة من مجموع 50 عزلة موزع حسب الفئة العمرية

الفئة العمرية	عدد مرضى المقاومة الدوائية المتعددة	النسبة المئوية (%)
10-1	0	0
20-11	0	0
30-21	8	16
40-31	4	8
50-41	4	8
60-51	2	4
70-61	1	0.6
80-71	1	0.6
90-81	0	0
المجموع	20	13.3
قيمة مربع كاي(χ^2)	---	4.277 *

* ($P<0.05$).

2.3.4.4. الجنس Sex

أظهرت نتائج الدراسة الحالية عدم توافر فرق معنوي بين نسبة عدد الإصابات بالسّل المتعدد المقاومة الدوائية في الذكور والإناث إذ بلغت النسبة في الذكور والإناث 22% 18% على التوالي من مجموع 50 عينة، كما موضح في الشكل (4-5)، جاءت هذه النتائج مختلفة عن النتائج التي حصلت عليها Ola (2012) ونتائج منظمة الصحة العالمية (WHO,M\XDR-TB Survelance and response, 2010b) إذ إن 90% من المقالات حول العالم أشارت إلى غالبية إصابة الذكور بالمقاومة الدوائية المتعددة، عزت منظمة الصحة العالمية ذلك إلى إن الذكور هم الأكثر عرضة لمصادر العدوى وليس لذلك علاقة بالجنس .



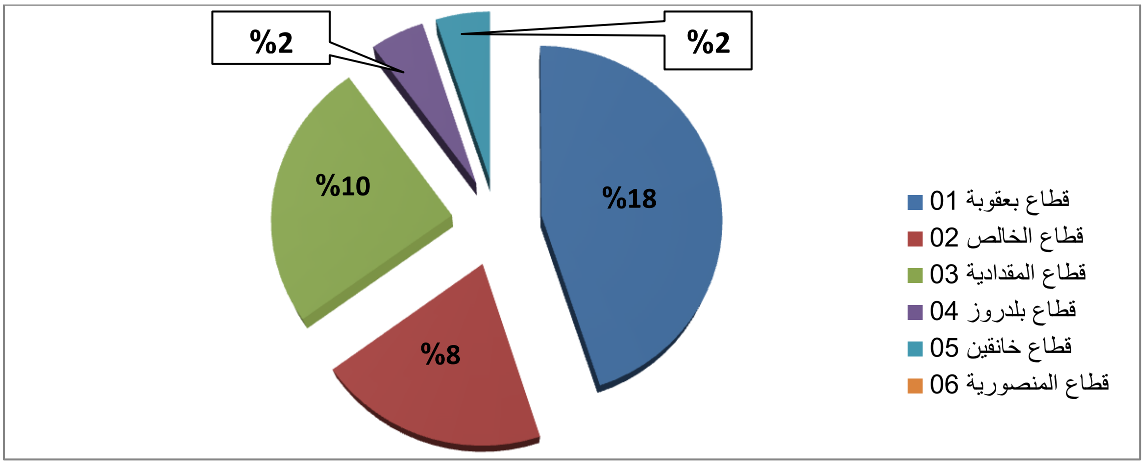
قيمة مربع كاي(χ^2) 0.859 NS .   NS: غير معنوي.

شكل (4-5) النسبة المئوية لعدد الذكور والإناث المصابين بالسل التعدد المقاومة الدوائية

3.3.4.4. التوزيع الجغرافي حسب القطاعات

Distribution of Tb. According to geographic Districts

أظهرت نتائج الدراسة الحالية توافر فرق معنوي عند مستوى معنوية (P<0.05) في عدد إصابات السل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية لخمسين مريضاً موزعين حسب قطاعات بعقوبة إذ سجل قطاع بعقوبة 01 أعلى نسبة إصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية وتبلغ 18% بلغت النسبة المئوية لقطاع الخالص 8%، بلغت النسبة المئوية في قطاع المقدادية 10 % وفي قطاعي بلدروز وخانقين بلغت النسبة المئوية 2% ، ولم تسجل أي حالة سل متعدد المقاومة الدوائية في قطاع المنصورية، الشكل (4-6) .



قيمة مربع كاي (χ^2) * 4.629   * (P<0.05).

شكل (4-6) النسب المئوية لمرضى المقاومة الدوائية المتعددة موزعين حسب قطاعات محافظة ديالى

4.3.4.4. حالات السل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية السريرية

MDR-Tb. And clinical Cases

أظهرت نتائج الدراسة الحالية فرق معنوية عالية عند مستوى معنوية (P<0.01) في نسبة الإصابة بالسّل المتعدد المقاومة الدوائية وبالنسبة إلى صنف المريض إن العينة المدروسة شملت خمسة أصناف من المرضى، المريض الناكس وهو المريض الذي سبق وان تناول مضادات الخط الدوائي الأول ولكنه اظهر أعراض الإصابة مرة ثانية شكل هذا الصنف أعلى نسبة من عزلات المقاومة الدوائية المتعددة إذ بلغت 28%، المريض المشتبه وهو المريض الذي تظهر عليه أعراض الإصابة بالسل الرئوي ولم يسبق له تناول مضادات الخط الأول وبلغت نسبة إصابته 8%، أما المريض المزمن، وهو المريض الذي سبق وإن تناول الخط الدوائي الأول وبلغت نسبة المقاومة الدوائية المتعددة 4%، تتطابق هذه النتائج مع النتائج التي حصلت عليها Ola (2012) ونتائج منظمة الصحة العالمية لسنة 2000 وسنة 2004(WHO, 2000b; WHO,2004c) لكن هذه النسب لا تتطابق مع دراستين أجريت في الهند (Atre, *et al*, 2007) و (Paramsevan, *et al*, 2002) إذ إن أعلى نسب المقاومة الدوائية المتعددة كانت من بين المرضى الذين لم يسبق لهم تناول الخط الدوائي الأول وعزت ظهور المقاومة الدوائية إلى حدوث الطفرة في سلالات المتفطرات السُّلية بنسبة (44% و69%), (Kaul,1998) إن السبب في ذلك هو رفض الهنود تناول العلاج خوفا من إصابتهم بالصمم، وقد تم عدّهم ضمن برنامج العلاج القصير الأمد تحت الأشراف المباشر DOTs حالات مستعصية العلاج، إن إهمال العلاج قبل انتهاء مدته هو عامل قوي جدا في تطور المقاومة الدوائية المتعددة (Kimerling, *et al*, 2003) وهذا يظهر واضحاً في صنف المريض الناكس الذي يعزى سبب تطور المقاومة الدوائية المتعددة عنده إلى عدم التزامه بتناول الخط الدوائي الأول كاملاً وضمن المدة المحددة وكما ظهر في الدراسة الحالية إصابة 14 مريضاً بالمقاومة الدوائية المتعددة من مجموع 20 مريض، كما هو مبين بالجدول (4-9) .

جدول (4-9): عدد مرضى المقاومة الدوائية المتعددة من مجموع 50 عزلة

موزعة حسب حالات السل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية السريرية

صنف المريض	المشتبه (جديد)	المتابعة	الناكس	المزمن (قديم)	الملامس (جديد)	قيمة مربع كاي(χ^2)
عدد مرضى المقاومة الدوائية المتعددة	4	0	14	2	0	---
النسبة المئوية	%8	%0	%28	%4	%0	6.411 **

** (P<0.01).

4.4.4. مقاومة المتفطرات السُلية لمضادات الخط الدوائي الثاني

***M. tuberculosis* resistant to second line drugs**

السّل الشديد المقاومة يعرف على إنهُ سّل متعدد المقاومة الدوائية (MDR-TB) مقاوم لمضادات الكينولون (quinolones) ولواحد من مضادات الامينوكلوكوسايد الاتية الكنامايسين، والأميكاسين والكبرامايسين (Kanamycin, Capramycin, Amikacin) (WHO, 2008c) شكل (8-4.b).

أعلنت منظمة الصحة العالمية ظهور خطر شديد يهدد الحياة البشرية، إذ تم في عام 2006 تسجيل حالات السل الشديد المقاومة في مختلف بقاع العالم ولم يعد مقتصراً على المناطق التي تفشى فيها مرض فقدان المناعة المكتسبة، إذ يتم تسجيل 25.000 حالة من السل الشديد المقاومة حول العالم في كل سنة، يعدّ السّل شديد المقاومة مشكلة صحية بوصفه يختزل عدد الخيارات الدوائية وتشخيص المتفطرات السُلية الشديدة المقاومة مكلف مادياً ويحتاج إلى جهد كثيف بالإضافة إلى أن مضادات الخط الدوائي الثاني أغلى كلفة وأعلى سمية وأقل تأثيراً ومع ذلك تبقى مضادات الخط الدوائي الثاني ضرورية في علاج مرضى السل الرئوي الشديد المقاومة (WHO,2011\2012) .

تم إتباع الطرق التقليدية في تشخيص المقاومة الدوائية لعزلات المتفطرات السُلية المتعددة المقاومة الدوائية، 20 عزلة، بالاعتماد على زراعة العالق الجرثومي على وسط زرعي صلب لوفنشتاين جنسن (L.J.) حاوي على مضادات السل الرئوي للخط الدوائي الثاني وهي كنامايسين، وأميكاسين، وأثيونامايد، ودي.سايكلوسيرين، وكلرثرومايسين، وسيبروفلكساسين، وبارا أمينوساليسايلك أسد و ريفابيوتين التي من

المفترض أن تثبط نمو المتفطرات السُلية الحساسة للتفريق بين السُلالات الحساسة والمقاومة، استمرت فترة الحضن (6-8) أسابيع لحين تحري النتائج وهذه من سلبيات الطرق التقليدية إذ إن التشخيص المتأخر للسُلالات المقاومة وتحديد المضادات الملائمة لعلاج المريض يستغرق فترة طويلة ربما تؤدي إلى موت مرضى نقص المناعة المكتسبة المصابين بالسل الرئوي الشديد المقاومة كذلك أن تناول المرضى لمضادات غير كافية أثناء فترة التشخيص قد تؤدي إلى مقاومة دوائية إضافية والى استمرار نشر السُلالات المقاومة في المجتمع (Giovanni, *et al* .,2008). يتداخل المضاد دي.سايكلوسيرين في الصناعة الحيوية للجدار الخلوي من خلال تثبيط صناعة حامض المايكولك وصناعة الببتيدوكلايكان (Anastasia and Petros, 2012) وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أعلى نسبة مقاومة دوائية لمضاد دي.سايكلوسيرين إذ كان عدد العزلات المقاومة 7عزلات من مجموع 20عزلة متعددة المقاومة الدوائية، لقد لوحظ توافر فروق معنوية عالية عند مستوى معنوية $P<0.01$ بين نسبة المقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني فسجلت أعلى نسبة مقاومة في المضادين دي.سايكلوسيرين وريفابيوتين وبنسبة 35% و30% على التوالي وأقل نسبة مقاومة للمضادين كنامايسين وباراأمينوساليسايلك أسد وبنسبة 10% لكلا المضادين ولم تظهر العزلات أي مقاومة للمضادين أميكاسين والسيبروفلوكساسين، يعزى قلة مقاومة المتفطرات السلية لمضادات الكينولين إلى احتياجها لطفرات مضاعفة (multiple mutation) في ألجين *gyrA* أو إلى طفرات متزامنة (concurrent mutation) في الجينين *gyrA, gyrB* (Anastasia and Petros, 2012)، جدول (4-10) .

جدول (4-10):النسب المئوية لمقاومة عزلات المتفطرات السُلية المقاومة

للأدوية المتعددة MDR للخط الدوائي الثاني من مجموع 20 عزلة

رمز المضاد	عدد العزلات الحساسة	عدد العزلات المقاومة	النسبة المئوية % للعزلات المقاومة
KM	18	2	10
AN	20	0	0
ETA	15	5	25
C.S	13	7	35
CLR	17	3	15
C.P	20	0	0
PAS	18	2	10
RFB	14	6	30
قيمة مربع كاي(χ^2)	---	---	5,79 **

** $P<0.01$

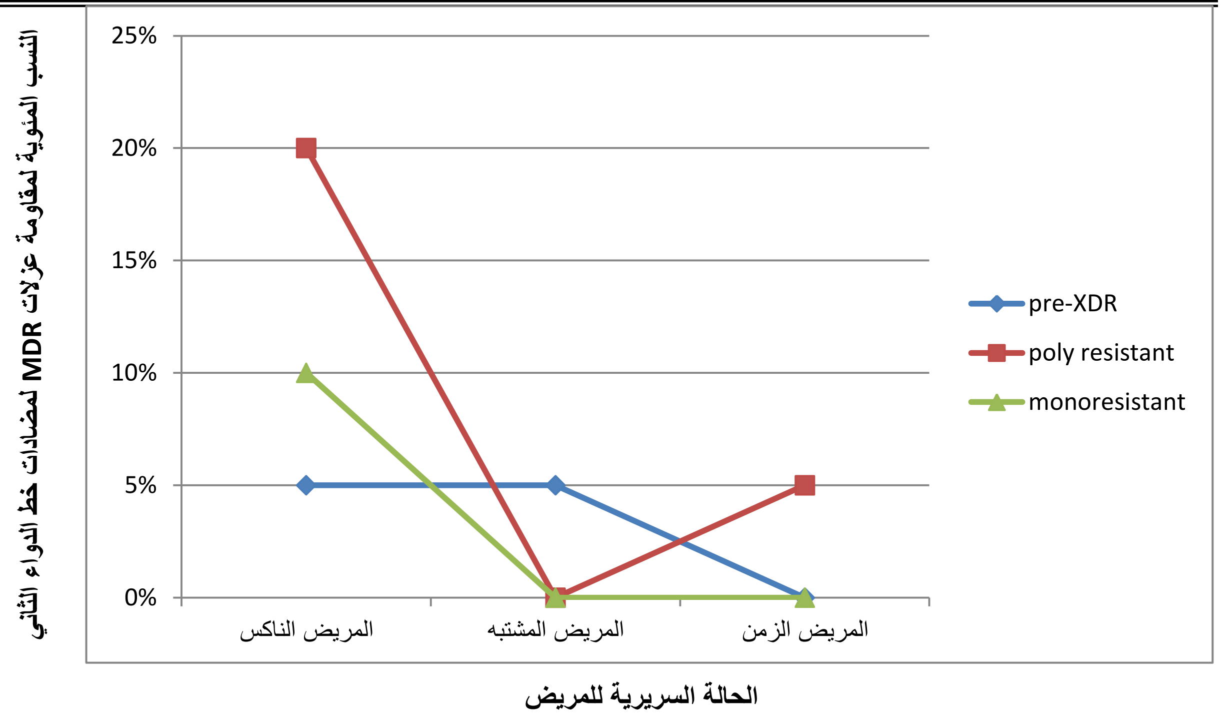
أظهرت نتائج الدراسة الحالية من 50عزلة للمتفطرات السُّلية كان عدد العزلات المتعددة المقاومة الدوائية 20عزلة وبنسبة 40% وعدد العزلات Pre-XDR 2عزلة وبنسبة 10%، 5 عزلات عديدة المقاومة الدوائية poly resistant بنسبة 25% و 2 عزلة فردية المقاومة الدوائية mono resistant من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية ولم تسجل أي حالة سّل شديد المقاومة، وتتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة أجريت في جنوب شرقي إيران في منطقة زهيدان التي تعدّ المنطقة الأكثر ارتفاعا بنسب الإصابة بالسل الرئوي إذ وجد إن نسبة12.2 % عزلة متعددة المقاومة الدوائية من مجموع عزلات المتفطرة السلية لمرضى السل الرئوي و1 حالة فقط هي Pre-XDR ولم تسجل أي حالة سل شديد المقاومة (Metanat , *et al.*,2012)، لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصلت إليه دراسة

رصد أجريت في طهران إذ وجدت نسبة 5.3% عزلة متعددة المقاومة الدوائية من مجموع عزلات المتفطرة السلبية لمرضى السل الرئوي وأن نسبة 10.9% من هذه العزلات تحولت إلى السل الشديد المقاومة الدوائية (Masjedi,*et al.*,2006) و في دراسة رصد أجريت في كاليفورنيا وجد من بين424 حالة سل متعدد المقاومة الدوائية و18 حالة سل شديد المقاومة الدوائية وبنسبة 4.2% و77 حالة Pre-XDR وبنسبة 18% (Banerjee, *et al* , 2008) .

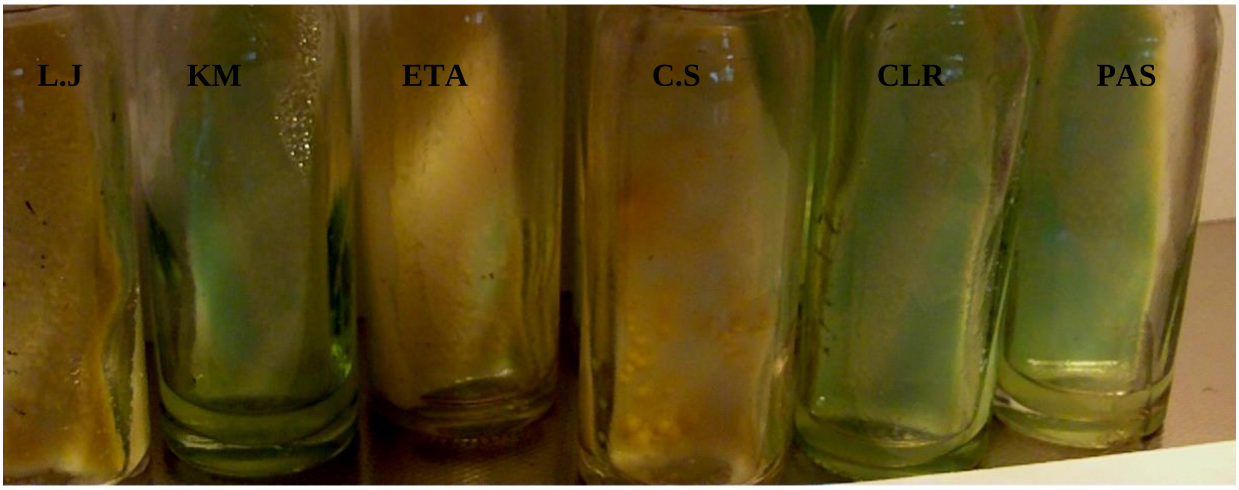
1.4.4.4. حالات السل الرئوي الشديد المقاومة الدوائية السريرية

XDR-Tb. and Clinical Cases

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى نسب المقاومة الدوائية للخط الدوائي الثاني كانت ضمن المريض الناكس فمن مجموع 14 عزلة متعددة المقاومة الدوائية أظهرت 7عزلات مقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني وبنسبة 35% من كل العزلات المتعددة المقاومة الدوائية، إذ ظهرت1 عزلة pre-XDR وبنسبة 5% و 4 عزلات عديدة المقاومة للخط الدوائي الثاني poly resistant وبنسبة 20% و2 عزلة فردية المقاومة الدوائية monoresistant وبنسبة 10% ، أما عدد العزلات الحساسة للخط الدوائي الثاني من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية بلغ 7 عزلات وبنسبة 35%، تتفق هذه النتائج مع ما توصل إليه (Masjedi ,*et al*,2006) إذ أظهرت نتائج دراسته إن نسبة المقاومة الدوائية المتعددة والشديدة تزداد عند المرضى الذين يعالجون بعلاج غير كافٍ أو إن المريض لا يلتزم بتناول العلاج لفترة زمنية كافية واتفقت هذه النتائج أيضا مع دراسة الرصد التي أجريت في كاليفورنيا (Banerjee, *et al*, 2008) إذ وجد إن 29% من حالات السل الشديد المقاومة كانت مكتسبة، أظهرت نتائج الدراسة الحالية وجود عزلة واحدة pre-XDR من 4عزلات متعددة المقاومة الدوائية لمريض المشتبه وبنسبة 5% من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية كما ظهرت عزلة واحدة عديدة المقاومة للخط الدوائي الثاني poly resistant من 2 عزلة متعددة المقاومة الدوائية للمريض المزمن وبنسبة 5% من مجموع العزلات المتعددة المقاومة الدوائية، لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي أجاها Ming,*et al.*,(2009) في شنغهاي إذ كانت نصف حالات إصابة M-XDR-Tb. في المرضى من الحالات الجديدة الذين لم يسبق لهم تناول مضادات السل الرئوي. الشكل (4-7) والجدول (4−11) يوضح عدد مضادات الخط الدوائي الثاني وعدد العزلات التي تقاومها وصنف المريض ونوع المقاومة .



شكل (4-7) أنواع المقاومة للخط الدوائي الثاني ونسبها في العزلات متعددة المقاومة الدوائية موزعة حسب الحالة السريرية للمريض



شكل (8-4.b)الأوساط الزرعية الخاصة بمضادات خط الدوائي الثاني للمتفطرات السلبية

(عزلة Pre-XDR)

جدول رقم (4−11): مجموعة مضادات الخط الدوائي الثاني , عدد العزلات المقاومة لها وصنف المريض ونوع المقاومة الدوائية

نوع المقاومة الدوائية	صنف المريض	عدد العزلات المقاومة	مجموعة من مضادات الخط الدوائي الثاني
pre-XDR	ناكس	1	KM , RFB
pre-XDR	مشتبه	1	KM, ETA,C.S,CLR, PAS
poly resistant	ناكس	1	ETA, C.S, CLR, RFB
mono resistant	ناكس	1	RFB
mono resistant	ناكس	1	C.S
poly resistant	ناكس	1	ETA, C.S, RFB
poly resistant	ناكس/ مزمن	2	ETA, C.S, CLR, RFB
poly resistant	ناكس	1	C.S, PAS

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recomandation

الاستنتاجات Conclusions

1- ارتفاع نسبة الإصابة بالسل الرئوي في فئة الشباب مقارنة بكبار السن, و ارتفاع نسبة الإصابة بالسل الرئوي في الذكور مقارنة بالإناث .

2- سجل قطاع بعقوبة أعلى نسبة إصابة بالسل الرئوي إذ بلغت 21,4%, واقل نسبة إصابة كانت في قطاعي بلدروز والمنصورية وبنسبة 0,66% لكل منهما .

3- أظهرت نتائج الدراسة الحالية نسبة 40% من العزلات كانت متعددة المقاومة الدوائية أما نسبة العزلات فردية المقاومة الدوائية فكانت 12% وعديدة المقاومة الدوائية 2% .

4- ارتفاع نسبة الإصابة بالسل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية في فئة الشباب مقارنة بكبار السن .

5- سجل قطاع بعقوبة أعلى نسبة إصابة بالسل الرئوي المتعدد المقاومة الدوائية إذ بلغت 18% واقل نسبة كانت في قطاعي بلدروز وخانقين بنسبة 2% لكل منهما ولم تسجل أي حالة سل متعدد المقاومة الدوائية في قطاع المنصورية .

6- أظهرت نتائج الدراسة الحالية أعلى نسبة إصابة بالسل المتعدد المقاومة الدوائية في المريض الناكس وبلغت 28% .

7- لم تسجل حالة سل شديد المقاومة الدوائية في محافظة ديالى ,ضمن العينة المدروسة .

8- أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن أعلى نسبة مقاومة لمضادات الخط الدوائي الثاني في المريض الناكس فمن مجموع 14 عزلة متعددة المقاومة الدوائية ظهرت 7 عزلات حساسة لمضادات الخط الدوائي الثاني وبنسبة 35% و7 عزلات أظهرت مقاومة مختلفة لمضادات الخط الدوائي الثاني وبنسبة 35% وتوزعت كالاتي عزلة واحدة pre-XDR وبنسبة 5% و 4 عزلات عديدة المقاومة للخط الدوائي الثاني poly resistant وبنسبة 20% و2 عزلة فردية المقاومة الدوائية monoresistant وبنسبة 10% .

التوصيات Recommendation

1- دعم البحوث والمسوح الميدانية للتحري عن انتشارية السل الرئوي والسل الرئوي المقاوم و دعم استخدام التقنيات الحديثة في مختبرات محافظات العراق للكشف عن مرضى السل الرئوي والسل الرئوي المقاوم .

2- العناية ببرنامج DOTs من خلال متابعة تناول مرضى السل الرئوي لمضادات الخط الدوائي الأول للحد من تطور المقاومة المكتسبة و العناية بمرضى السل الرئوي المقاوم ومتابعة تناولهم علاجاتهم وإجراء فحص الحساسية الدوائية بشكل دوري والتحري عن الآثار الجانبية للخط الدوائي الثاني .

ملحق رقم (1)

استمارة مختبر التدرن

طلب فحص البلغم

اسم وحدة المعالجة ---------------------- التاريخ : ------------

اسم المريض -------------------العمر : ----- الجنس : ذكر ☐ انثى ☐

العنوان الكامل : --------------------- المنطقة: ---------------

تصنيف المريض : رئوي ☐ خارج الرئة ☐

سبب الفحص : تشخيص ☐ متابعة للمعالجة الكيميائية ☐

الرقم المميز للعينة :------------------- رقم مريض التدرن في المنطقة : ---------

تاريخ جمع البلغم : ------------------- توقيع اخذ البلغم : ----------------

- تأكد من تدوين رقم مريض في المنطقة الذي تجرى متابعته في اثناء المعالجة الكيميائية

الرقم المتسلسل في المختبر : -------------

(أ) المنظر المرئي للبلغم :

تقيح مخاطي ☐ ملطخ بالدم ☐ لعاب ☐

(ب) الفحص المجهري

التاريخ	العينة	النتائج*	(درجة) الايجابي
	1		+++ ☐ ++ ☐ + ☐ ضئيل <3 ☐
	2		

التاريخ : ---------------------- اسم القائم بالفحص (التوقيع):-------

Foreign References المصادر الأجنبية

Abate, D.; Taye, B.; Abseno, M.; and Biadgilign, S.(2012). Epidemiology of anti-tuberculosis drug resistance patterns and trends in tuberculosis referral hospital in Addis Ababa, Ethiopia.PLOS ONE,Journal ;5(1):462.

Abood, E.A.; Abd Al-Razzak, S.H. and Mohamed, N.R.S. (1999). Identification of mycobacterium species using some biochemical test and drug resistance. J.F.O.C. Med. Baghdad 41 (2): 345-350.

Abdul razzak shafic Hassan.(2000). The common blood transmitted viruses among Tuberculous and cancer patient . A thesis submitted to the college of Medicine and committee of postgraduate studies of Al-Mustansiriyh Universty.

Agerberth and Gudmudsson. (2001). Host antimicrobial defense peptide human disease. Current topics in microbiology and immunology. 306:67-90.

American Thoracic Society ,Center for Disease Control ,ATS\CDC ,infectious Disease Society of America (2003). Treatment of Tuberculosis.Am.J.Respir. Crit. Care Med. 167:602-662.

Anderson,S.T.;Wiliams,A.J. and Brown,J.R.(2006).Transmission of *Mycobacterium tuberculosis* undetected by tuberculin skinTesting. Am.J. Respir Crit Care Med.; 173:1038-1042.

Andreas, S.; Michael, S.; Preetika, M.;Brian, K.; W.; George M.C. and Megan,B.M.(2009). Tuberculosis Drug Resistance Database. J. Clin. Microbial. 40:1091-1094.

Anastasia, S. Kolyva and Petros C. Karakousis .(2012). Old and New TB Drugs: Mechanisms of Action and Resistance, Understanding Tuberculosis - New Approaches to Fighting Against Drug Resistance, Dr. Pere- Joan Cardona (Ed.), ISBN: 978-6.

Atre, S.R.; D'Souza, T.B.; Dholakia, Y.N. and Mistry, N.F. (2007). Observations on categorization of new TB cases: implications for controlling drug resistance. INT J TUBERC LUNG DIS; 11(10): 1152-3.

Azher Subhi Khamees. (2006). Multi Drug Resistance among population of Mycobacterium tuberculosis complex isolated from Iraqi patient . MSC. College of Health and Medical technology technical education .

Balaji, V.; Daley, P.; Anand, A.A.; Sudarsanam, T. and Michael; J.S. (2010) Risk Factors for MDR and XDR-TB in a Tertiary Referral Hospital in India. PLoS ONE, journal. 5(3): e9527.

Banerjee, R.; Allen, J.; Westenhouse, J. Oh P.; Elms, W.; Desmond, E.; Nitta, A.; Royce, S. and Flood J.(2008). Extensively drug-resistant tuberculosis in california, 1993-2006. Clin Infect Dis.;47:450–7. doi: 10.1086/590009.

Banu, S.; Mahmud, A.M.; Rahman, M.T.; Hossain, A. and Uddin, M.K.M. (2012) Multidrug-Resistant Tuberculosis in Admitted Patients at a Tertiary Referral Hospital of Bangladesh. PLoS ONE, journal. 7(7): e40545.

Bastian,I.;Rigouts,L.;Deun,A. V.and Oortaels,F.(2000). Directly Observed treatment ,short-course strategy and multidrug-resistant-tuberculosis. Bulletin. 78(2):238-246.

Bermudez, L. E. and Goodman, J.(1996). *Mycobacterium tuberculosis* invades and replicates within type II alveolar cells. Infect. Immun. 64:1400-1406.

Bhamidi, S.(2009). Mycobacterial cell wall arabinoglactan. Bacterial Polysaccharides :Current Innovations and Future Trends. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-45-5.

Bijaya, B.; Stucki, D.; Borrell, S.; Feldmann, J.and Maharjan, B..(2012). First Insights into the Phylogenetic Diversity of Mycobacterium tuberculosis in Nepal. PLoS ONE, journal. 7(12): e52297.

Boyton, R. J. and Openshaw, P. J. (2002). Polmonary defences to acute respiratory infection. British Medical Bulletin 61:1-12.

Braden, C.; Onorato, I. and Kent, J. (1996). Tuberculosis Epidemiology. In: [Tuberculosis]. W. Ram & S. Garay (Eds.) 1st Edition. Little, Brown & Company : Boston & New York.

Brightbill, H. D. D. H.; Libraty, S. R.; Krutzik, R. B.; Yang, J. T.; Belisle, J. R.; Bleharski, M.; Maitland, M. V.; Norgard, S. E.; Plevy, S. T.; Smale, P. J.; Brennan, B. R.; Bloom, P. J.; Godowski, and Modlin R. L. (1999). Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. Science 285:732-736.

British Medical Journal . (1948). "Streptomycin Treatment of Pulmonary Tuberculosis: A Medical Research Council Investigation". 2 (4582): 769–82.

Brosch, R.; S. V. Gordon; M. Marmiesse; P. Brodin; C. Buchrieser; K. Eiglmeier, T. Garnier; C. Gutierrez; G. Hewinson; K. Kremer; L. M. Parsons; A. S. Pym; S. Samper; D. van Soolingen and S. T. Cole.(2002). A new evolutionary scenario for the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:3684-3689.

Brown, A. E. (2007). Bensons's Microbiological applications. Laboratory Manual in General Microbiology. 10th edition Publisher: Janice Roerig-Blong. 431 pp.

Brown, M. ;Varia, H. ;Basset, P. ;Davidson, R. N. ;Wall, R. and Pasvol, G. (2007). Prospective study of sputum induction, gastric washing, and bronchoalveolar lavage for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in patient who are unable to expectorate. Clin Infect Dis 44(11):1415-20.

Casali, N. (2009). Hypervirulent Mycobacterium tuberculosis. Mycobacterium: Genomics and Molecular Biology. Caister Academic Press.

Centers for Disease Control and Prevention (2000). "Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection". MMWR 49 (RR–6): 31–32.

Center for Disease Conterol and Prevention,(CDC). (2005). Surveillnce reports: reported tuberculosis in the United States .

Center for Disease Conterol and Prevention,(CDC).(2006). MMWR Weekly 55(11): 301-05.

Center for Disease Conterol and Prevention, (CDC).(2009a). Mantoux tuberculin skin test.

Center for Disease Conterol and Prevention, (CDC).(2009b). Transmission and pathogenesis of tuberculosis.

Dannenberg, A. M., Jr., and J. A. Rook.(1994). Pathogenesis of pulmonary tuberculosis: an interplay of tissue-damaging and macrophage-activating immune responses. Dual mechanisms that control bacillary multiplication, Tuberculosis: pathogenesis, protection, and control. American Society for Microbiology, Washington, D.C. p. 459-483. In B. R. Bloom (ed.),

David, H.L. (1970). "Probability Distribution of Drug-Resistant Mutants in Unselected Populations of *Mycobacterium tuberculosis*. Applied Microbiology 20 (5): 810–14.

Davidson, S. and Macleod, J. (2001). The principles and practice of medicine. Churchile livingstone. London:1196pp.

Davies, P. (1998). Extra-pulmonary tuberculosis. Director tuberculosis research unit Liverpool, 4th Edition. 5:234-239.

Davis, E. O.; Thangaraj, H. S. Brooks, ; P. C. and Colston. M. J. (1994). Evidence of selection for protein introns in the RecAs of pathogenic bacteria. EMBO J. 13:699-703.

DeRossi, E.; Ainsa, J.A. and Riccardi, G.(2006). Role of mycobacterial efflux transporters in drugresistance: an unresolved question. FEMS Microbiol Rev; 30: 36-52.

Dinnes,J.; Deeks, J.; Kunst, H.; Gibson, A.; Cummins, E.; Waugh, N.; Drobniewski, F. and Lalvani, A.(2007). A systematic review of rapid diagnostic tests for the detection of tuberculosis infection. Health Technol Assess 11 (3):1-314.

Drobniewski, F. ;Caws, M. ;Gibson, A. and Young, D.(2003). Modren laboratory diagnostic of tuberculosis. Lancet Infect Dis 3(3): 141-7.

Dubnau, E.; Laneelle, M.-A.; Soares, S.; Benichou, A.; Vaz, T.; Prome, D.; Daffe, M. and Quemard, A. (1997). *Mycobacterium bovis* BCG genes involved in the biosynthesis of cyclopropyl keto- and hydroxy-mycolic acids. Mol. Microbiol. 23: 313-322.

Edward, A. and Nardell, M.D. (2009). The Merck Manual of Diagnosis and Therapy.p.p. (Eighteenth edition) Merch Sharp& Dohme Corp.

Elsea, SH.; Osheroff, N.;and Nittis, JL. (1992). Cytotoxicity of quinolones toward eukaryotic cells. Identification of topoisomerase II as the primary cellular target for the quinolone Cp-115,953 in yeast. Biol Chem 267 (19): 13150-3.

Elzinga G, Raviglione MC,and Maher D (2004). "Scale up: meeting targets in global tuberculosis control". Lancet 363 (9411): 814–19.

Farmer,P.(2001). The major infectious diseases in the world to treat or not to treat?.N. Engl. J. Med. 345(3):208-10 .

Fenton, M. J.; and Vermeulen M. W . (1996). Immunopathology of tuberculosis: roles of macrophages and monocytes. Infect. Immun. 64:683-690.

Garrett, L.(2000). Betrayal of trust: the collapse of global public health. New York: Hyperion. pp. 268.

Gene, M.(2006). Immunology-chapter one innate (Non-specific) Immunity, Immunology, Section of Microbiology and Immunology On-line. University of South Carolina.

Gillespie, S.H. (2002). "Evolution of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: clinical and molecular perspective". Antimicrob Agents Chemother 46 (2): 267–74.

Giovanni Battista Miglioi; Alberto Matteelli; Daniela cirllo; and Madhukar pai. (2008). Diagnosis of multidrug resistant tuberculosis and extensively drug-resistant tuberculosis : current standards and challenges. J. Infect. Dis. Med. Microbiol, 19(2):169-172.

Gomez, J. E.; and Bishai. W. R. (2000). whmD is an essential mycobacterial gene required for proper septation and cell division. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:8554-8559.

Hanna, B. (1996). Diagnosis of Tuberculosis by Microbiologic Techniques. "Tuberculosis". W. Rom and S. Garay (Eds.) 1st Edition. Little, Brown & Company : Boston & New York.

Harries, A.D.; Hargreaves, N.J.; kumwenda, J.; Kwanjana, J.H. and Salaniponi, F.M. (2008). Trials of anti-tuberculosis treatment in areas of high human immunodeficiency virus prevalence in sub-Saharan Africa. Int.J. Tuberc Lung Dis. 4(11):998-1001.

Herrera, L.; Jimenez, S.; Valverde, A.; Garci Aranda, M.A. and Saez-Nieto, J.A. (2003). Molecular analysis of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolated in Spain (1996-2001). Description of new mutations in rpoB gene and review of the literature. Int. J. Antimicrobial. Agents 21,403-408.

Heym, B.; Honore, N.; and Truffot-Pernot C.(1994). Implications of multidrug resistance for thefuture of short-course chemotherapy of tuberculosis: a molecular study. Lancet;344: 293-8.

Huang, W.L.; Chi, T.L.; Wu, M.H.; and Jou, R.(2011). Performance assessment of the GenoType MTBDRsl test and DNA sequencing for detection of second-line and ethambutol drug resistance among patients infected with multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. J. Clin Microbiol.;49:2502–2508.

Humphries, M. (1999). Tuberculosis: history of directly observed therapy. The Lancet; V.353: P.755-756.

Iannini, P.B. (2007). The safety profile of moxifloxacin and other fluoroquinolones in special patient populations. Curr Med Res Opin 23(6):1403-13.

Iseman, M. (1993).Treatment of multidrug-resistant tuberculosis. NEJM; 329 (11): 784-91.

Issam Juma´a Nasser, 2002. Advance Technology (Bactec MGIT 960 and Polymerase Chain Reaction) use in isolation, identification, and antibiotic susceptibility test for Mycobacterium. B.SC. Medical Laboratory science Technology.

Iademarco, M.F. and Castero, K.J. (2003). Epidemiology of tuberculosis Seminars in respiratory infections. Lancet, 18(4):225-40.

Isser Smith; Davis, E. O.; Thangaraj, H. S.; Brooks, P. C. and Colston, M. J. .(2003). *Mycobacterium tuberculosis* Pathogenesis and Molecular Determinants of Virulence . doi: 10.1128/ CMR.16.3.463-496.2003 Clin. Microbiol. Rev. vol. 16 no. 3 463-496.

Janeway, C.A.; Paul,T.; Mark, W. and Mark, S.(2001). Immunobiology. Fifth Edition. New Yourk and London: Garland Science. I. S. B. N. Sero- 8153 4101-6.

John Crofton; Norman Horne and Fred Miller. (1996). Clinical Tuberculosis. Arabic Edition . The Arab Center for Medical Literature, 6-230 .

Juan Carlos Palomino; Sylvia Cardoso Leão and Viviana Ritacco.(2011). Tuberculosis 2007 From basic science to patient care Tuberculosis. 1st Edition.55-350.

Jun, I.S.; Zofia, Z.F.K. ; Emiko, T.; Intetsu, K.; Koji, K.; Seiya, K.; Tadatoshi, K.; Toru, M. and Tero,K. (2007). Detection of Multidrug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. J. Clin. Micro. V. 45.N.1.P.179-192.

Kalafati, E.; Georgitzikis, D.; Delikatzi, D.; Chatzidimtriou, M.;Tzimaka; and Patakas, D.(2008). Use of the AmplifiedTM Mycobacterium tuberculosis direct test for the diagnosis of tuberculosis. Eastern Mediterranean Health Journal, vol.14, No.5.

Kang, P.B.; Azad, A.K. and Torrelles, J.B. (2005). The human macrophage mannose receptor directs *Mycobacterium tuberculosis* lipoarabinomannan-mediated phagosome biogenesis," Journal of Experimental Medicine, V.202, N.7, P.987-999.

Karageorgopoulos, D.E.; Giannopoulou, K.P.; Grammatikos, A.P.; Dimopoulos, G.;and Falagas, M.E. (2008). Flouroquinolones compared with β-lactam antibiotics for the treatment of acute bacterial sinusitis: a meta analysis of randomized controlled trial. CMAJ 178(7): 845-54.

Kaul, S. (1998). An observational study of RNTCP and DOTS strategy in three districts. New Delhi, India: Voluntary Health Association of India. Report and Opinion 2012;4:(9).

Khalida K. AL-Kareemi. (2008). Epidemiological Study on the Resistance of *Mycobacterium tuberculosis* to Antimicrobials and the Effect of Diacetyl .C. Med.Baghdad Universty.

Khan, M.Y.; Kinsara, A.J.; Osoba, A.O.; Wali, S.; Samman, Y.; and Memish, Z. (2001). Increasing resistance of *M. tuberculosis* to anti-TB drugs in Saudi Arabia. PLOSE ONE,Journal ;17(5):415-8.

Kimerling, M.E.; Slavuckij, A.; Chavers, S.; Peremtin, G.G.; Tonkel, T.;and Sirotkina. O. (2003).The risk of MDR-TB and polyresistant tuberculosis among the civilian population of Tomsk city, Siberia, 1999. INT J TUBERC LUNG DIS;7(9):866-72.

Lawn, S.D.(2006). Wilkinson R. Extensively drug resistant tuberculosis. BMJ, 333(7568): 559.

Lawrence, R.(1996). Tuberculosis in Children. In "Tuberculosis". W. Rom and S. Garay (Eds) 14. Edition. Little, Brown & Company: Boston & New York.

Leão, S.C.; Martin, A.; Mejia, G.I.; Palomino, J.C.; Robledo, J.; Telles, M.A.S.; and Portaels, F.(2004). Practical hand book for the phenotypic and genotypic identification of *Mycobacteria*. Brugges, Vanden BROELLE,164 p.

Lehman and Neuman.(1907). Mycobacterium tuberculosis var. hominis. Bergey et al., 1934.

Leimane, V. (2005). Clinical outcome of individualized treatment of multidrug-resistant tuberculosis in Latvia: a retrospective cohort study. Lancet 365(9456): 318-26.

Lisa, M. Wolfe; Spencer, B. Mahaffey; Nicole, A. Kruh; and Karen, M. Dobos . (2010). Proteomic Definition of the Cell Wall of *Mycobacterium tuberculosis*, Department of Microbiology, Immunology and Pathology, 1682 Campus Delivery, Colorado State University, Fort Collins, Colorado 80523. J. Proteome Res., 2010, 9 (11), pp 5816–5826.

Metanat, M.; Sharifi-Mood, B.; Shahreki, S.h.; and Dawoudi, S. H .(2012). Prevalence of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant Tuberculosis in Patients with Pulmonary Tuberculosis in Zahedan, Southeastern Iran. Iran Red Crescent Med, Journal; 14(1): 53–55.

Malik, S.; Willby, M.; Sikes, D.; Tsodikov, O.V.; and Posey, J.E. (2012). New Insights into Fluoroquinolone Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: Functional Genetic Analysis of *gyrA* and *gyrB* Mutations. PLoS ONE, Journal ; 7(6): 39754.

Maryann, M.P.; Anne, L.D. ; Neil, W. ; Schlugar, H.C.; and Williana, N.R. (1996). Outcome of MDR-TB patient, 1983-1993: Prolonged survival with appropriate therapy. Amj. Respir. Crit. Care Med. 153: 317-24.

Masjedi, M.R.; Farnia, P.; Sorooch, S.; Pooramiri, M.V.; Mansoori, S.D.; Zarifi, A.Z.; Akbarvelayati, A.; and Hoffner, S.(2006) Extensively drug-resistant tuberculosis: 2 year of surveillance in Iran. Clin Infect Dis.pp;43:841–7.doi: 10.1086/507542.

Mattmann, N. N.; Jivarj, F. F.; Wong, A. A.; and Yoon, A. A. (2002). Oral fluoroquinolones in the treatment of pneumonia, bronchitis and sinusitis, Canadian Journal of Infection Diseases 13(5): 293-300.

McCann. (2009). "Secreted and Exported Proteins Important to *Mycobacterium tuberculosis* Pathogenesis". Bacterial Secreted Proteins: Secretory Mechanisms and Role in Pathogenesis. Caister Academic Press. ISBN 978-1-904455-42-4.

Ming Zhao equal contributor, Xia Li equal contributor and Peng Xu.(2009). Transmission of MDR and XDR Tuberculosis in Shanghai, China. PLoS ONE/journal. 4(2).

Mitnick, C. (2003). Community-based therapy for multidrug-resistant tuberculosis in Lima, Peru. N Eng J. Med 348(2):119-128.

Mohammad,S.; Zumla AI.; Felemban S.; Alotaibi B.; O'Grady J. . (2012). Tuberculosis Trends in Saudis and Non-Saudis in the Kingdom of Saudi Arabia – A 10 Year Retrospective Study (2000–2009). PLoS ONE, journal. 7(6): e39478.

Murroy, P.R.; Barom, E.J.; and Pfaller, M.A. (2005). Manual of clinical microbiology 7th, 124: 1601-1617.

Neel, R. Gandhi; Anthony Moll, A.; Willem Sturm; Robert Pawinski; Thiloshini Govender; Umesh Lalloo; Kimberly Zeller; Jason Andrews and Gerald Friedland. (2006). Extensively drug-resistant tuberculosis as a cause of death in patients co-infected with tuberculosis and HIV in a rural area of South Africa, 368: 1580-1575.

Nelson, S.M.; Deike, M.A.; and Cartwright, C.P.(2001). Value of examining multiple sputum specimens in the diagnosis of pulmonary tuberculosis. J Clin Microbiol; 36: 467-9.

Ngo, S.C.; Zimhony, O. ; Chang, W.J.; Sayahi, H.; Jacobs, W.R.; and Welchpi,J.T. (2007). Inhibition of isolated *Mycobacterium tuberculosis* .Fatty Acid Synthesis I by Pyrazinamide Analogs. J. Antimicrob Agents Chemother .;1 2430-5.

NTP.(2008).Overview of National Tuberculosis Conterol Program. Vision, goal and Stop TB strategy Burden of Tuberculosis in Iraq.

NTP.(2012). Overview of National Tuberculosis Conterol Program. Vision, goal and Stop TB strategy Burden of Tuberculosis in Iraq.

Ola Abdel Moneim Akl;and Azza Ali El.Mahalli, (2012) Drug Resistant Tuberculosis: Risk Factors and Resources- Utilization at a Chest Disease Clinic, Alexandria, Egypt Report and Opinion 2012;4:(9).

Ormerod, L.P.; and Horsfield, N. (1987). "Short-course antituberculous chemotherapy for pulmonary and pleural disease: 5 years' experience in clinical practice". British Journal of Diseases of the Chest 81 (3): 268–71.

Owens, R.C.; and Amberose, P.G. (2005). Antimicrobial safety : focus on fluoroquinolones. Clin. Infect. Dis. 42 Suppl 2:S144-57.

Paramsivan, C.N.; Venkatraman, P.; and Chandrasekaran, V.(2002). Surveillance of drug resistance in tuberculosis in two districts of South India. INT J TUBERC LUNG DIS; 6: 479-84.

Pasipanodya, J. (2010). Tuberculosis and other Mycobacterial disease. In:Bope ET. Conn′s Current Therapy. Philadelphia, Pa.: Saunders Elsevier; eid=4-ul. 0-B978-1-4160-6642-2.Pharmacotherapy 21(9): 1037-1045.

Patrick Brennan .(2011). The Whole Ball of Wax: TB's Distinctive Cell Wall. Michael Niederweis, Universität Erlangen, Germany .

Raviglione, M.C.; and O′Brien, R.J. (2001). Tuberculosis″.Harrisons′s Principles of Internal Medicine. 4th Ed.

Ray, C.G.; Ryan, K.J.; and Ryan, K.(2004). ″Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases .(4th Ed.) McGraw Hill. P.237.LCCN2003-054180.

Reid, G.; Jass, J. ; Sebulsky, M.T.; and McCormick, J.K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. Clinical Microbiology Reviews16(4):658-72.

Rider, H. (2002). Interventions for Tuberculosis control and Elimination. International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD).

Riska, P.; Jacobs, W.; and Alland, D.(2000). Molecular determinant of drug resistance in tuberculosis. Int. J. Tuberc. Lung. Dis.:4-10.

Sabero, R. and Peabody, J. (2006). Tuberculosis control in Bolivio chils, Colombia and Peru; Why does incidence vary so much between neighbors?. Int. J. Tubercl Lung Dis. 10(11); 1292-5.

Salminen, S. (2001). Human studies on probiotics: Aspects of Scientific documentation. Scand. J. Nutrition. 45: 8-12.

Sarah McGregor.(2006). New TB strain could fuel South Africa AIDS toll. Reuters. Retrieved, health news and story,J.:13448940.

SAS. 2004. Statistical Analysis System, User's Guide. Statistical. Version 7th ed. SAS. Inst. Inc. Cary. N.C. USA.

Schaaf, HS.; Collins, A.; Bekker, A.; and Davies, P.D. (2010). Tuberculosis and extreme of age, South Africa.PLOS ONE,Journal; 747-63.

Schlesinger, L. S. (1993). Macrophage phagocytosis of virulent but not attenuated strains of *Mycobacterium tuberculosis* is mediated by mannose receptors in addition to complement receptors. J. Immunol. 150:2920-2930.

Scorpio, A.; and Zhang, Y. (1996). "Mutations in pncA, a gene encoding pyrazinamidase/nicotinamidase, cause resistance to the antituberculous drug pyrazinamide in tubercle bacillus". Nature Medicine 2 (6): 662–7.

Selvakumar, N. ; Rahman, F. ; Rajasekaran, S. ; Narayanan, P.R.; and Frieden, T.R. (2002). Inefficiency of 0.3% carbol fuchsin in ziehl-neelsen staining for detecting acid-fast bacilli.J.Clin. Microbial. 40(8):3041-3.

Sharma, D. ; Cukars, A.R. ; Rogers, E.G. ; Southworth, D.R.; and Green,R. (2007). Mutational analysis of S12 protein and amplications for the accuracy decoding by the ribosome.J. of Molecular Biology 374(4):1065-1076.

Sherman, D. R.; Voskuil, M. ; Schnappinger, D.; Liao, R.; Harrell, M. I.; and Schoolnik, G. K. (2001). Regulation of the *Mycobacterium tuberculosis* hypoxic response gene encoding alpha-crystallin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98:7534-7539.

Slyden, R.A.; and Barry, C.E.(2000). The genetics and biochemistry of isoniazed resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. Microbes.Infect. 2,659-669.

Sophia, B. Georghiou; Marisa Magana; Richard, S. Garfein; Donald G. Catanzaro; Antonino Catanzaro; and Timothy, C. Rodwell.(2012). Evaluation of Genetic Mutations Associated with *Mycobacterium tuberculosis* Resistance

to Amikacin, Kanamycin and Capreomycin: A Systematic Review. PLoS One. 2012; 7(3): e33275. Published online 2012 March 29.

Steering Group and Ernesto Jaramillo. (2008). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: emergency update 2008 (WHO/HTM/TB/2008.402). Geneva, Switzerland: World Health Organization. p. 51.

Steingart, K.; and Henry, M.V. (2006). Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systemic review. Lancet Infect Dis 6(9):570-81.

Sterling, T.R.; Lehmann, H.P.; and Frieden, T.R. (2003). Impact of DOTs compared with DOTs-plus on multidrug resistant tuberculosis and tuberculosis deaths decision analysis. BMJ 326 (7389):547.

Su, W.J.; Feng, J.Y.; Huang, C.C.; and Perng, R.P.(2008). Increasing drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* isolates in a medical center in northern Taiwan. Am. Rev. Respir. Dis. 107(3):259-64.

Suarez, J.; Ranguelova, K.; and Jarzecki, A.A. (March 2009). "An oxyferrous heme/protein-based radical intermediate is catalytically competent in the catalase reaction of *Mycobacterium tuberculosis* catalase-peroxidase (KatG)". The Journal of Biological Chemistry 284 (11): 7017–29.

Thomas, A. ; Chandrasekaran, V. ; Paulin, J. ;Vijay, B. ; Patil, A.B.; and Jain, D.K. (2008). Increased yield of smear positive pulmonary TB cases by screening patients with > or =2 weeks cough, compared to > or =3 weeks and adequacy of 2 sputum smear examinations for diagnosis. Indian Journal of Tuberculosis. 55: 77-83.

Todar, K. (2009). *Mycobacterium tuberculosis* and tuberculosis. Todar's Online textbook of bacteriology. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology. P.4.

Troesch, A. H.; Nguyen, C. G.; Miyada, S.; Desvarenne, T. R.; Gingeras, P. M.; Kaplan, Cros, P.; and Mabilat, C. (1999). Mycobacterium species identification and rifampin resistance testing with high-density DNA probe arrays. J. Clin. Microbiol. 37:49-55.

Vashakidze. L.; Salakaia, A.; Shubladze, N.; Cynamon, K.; Barbakadze, M.;and Kikvidze, M .(2009). Prevalence and risk factors for drug resistance among hospitalized tuberculosis patients in Georgia. INT J TUBERC LUNG DIS. 31(9):1148-53.

WHO.(1998). Laboratory services in TB control, Part II: Microscopy. Geneva, WHO, 1998 (WHO/TB/98.258).

WHO.(2000a). Department of Communicable Disease Surveillance and Trends Anti-Tuberculosis Drug Resistance in the World Report no. 2: Prevalence and Trends. The WHO/IUATLD Global Project on Anti tuberculosis Drug Resistance Surveillance WHO/CDS/TB/2000.278. Geneva, World Health Organization. 2000.

WHO /International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance in the World. Prevalence and Trends. Anti tuberculosis drug resistance in the world. Report no. 2. WHO/CDS/TB/200.273. Geneva, World Health Organization. 2000b.

WHO. (2004a). TB\HIV: a clinical manual, 2 nd ed. Geneva.

WHO.(2004b). Global TB control. WHO report. P 12.

WHO /International Union Against Tuberculosis and Lung Disease. Global Project on Anti-tuberculosis Drug Resistance. Surveillance. (2004c). Anti-tuberculosis drug resistance in the world. Report no. 3 WHO/HTM/TB/2004.343. Geneva, World Health Organization.

WHO.(2006a). WHO Global Task Force outlines measures to combat XDR-TB worldwide.

WHO.(2006b). Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing Geneva, World Health Organization. 2006.

WHO.(2007). Tuberculosis Fact sheet No. 104.

WHO.(2007-2008a). The Global MDR-TB & XDR-TB Response Plane.

WHO.(2008b). Drug-resistant Tuberculosis. Report No.3.

WHO.(2008c). Guidelines for the programmatic management of drug-resistant tuberculosis: Emergency Update 2008. Document no. WHO/ HTM/ TB/ 2006.402. Geneva: WHO, 2008.

WHO.(2008d). Tuberculosis and gender.

WHO.(2009a). Women and TB. Global Tuberculosis Control. Geneva WHO.

WHO/HTM/TB.(2009b).420 Treatment of tuberculosis: guidelines – 4th ed.

WHO.(2010a). Pursue high-quality DOTs expansion and enhancement An explanation of the five components of DOTs and their role in the Stop TB Strategy organized by the World Health Organization.

WHO.(2010b). Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB). Global report on Surveillance and Response Geneva, World Health Organization. 2010.

WHO. (2011/2012). GLOBAL TUBERCULOSIS CONTEROL 2011. WHO TUBERCULOSIS GLOBAL FACTS 2011/2012.

WHO. (2012). GLOBAL TUBERCULOSIS CONTEROL 2011. Fact Sheeth N.104.

Yendapally, R.; and Lee, R.E. (2008). Desgin, synthesis, and evaluation of novel ethambutol analogues. Bioorg. Chem. Lett. 18(5): 1607-11.

Zhang, Y.;and Telenti, A. (2000). Genetics of Drug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. In: Hatfull, G., Jacobs, W. (Eds.) "Molecular Genetics of Mycobacteria. Washington, DC.: ASM Press; 235-254 (Cited in ref. 56).

Zhu, M. ; Burman, W.J.; Jaresko, G.S.; Berning, S.E.; Jelliffe, R.W.; and Peloquin, C.A. (2001). Population pharmacokinetics of intravenous and ontramascular streptomycin in patient with tuberculosis. Pharmacotherapy 21(9): 1037-1045.

Zimhony, O.; Cox, J.S.; Welch, J.T.; Vilchèze, C.; and Jacobs, W.R. (2000). Pyrazinamide inhibits the eukaryotic-like fatty acid synthetase I (FASI) of *Mycobacterium tuberculosis*. Nature Medicine 6 (9): 1043–47.

Zink, A. ; Sola, C.; Reischl, U. ; Grabner, W. ; Rastogi, N. ; Wolf, H.; and Nerlich, A. (2003). Characterization of *Mycobecterium tuberculosis* complex DNAs from Egyptian mummies by spoligotyping. J. Clin. Microbial 41(1): 359-67.

المصادر العربية :

القران الكريم

منظمة الصحة العالمية, إدارة دحر السل التابعة لمنظمة الصحة العالمية الأول\أكتوبر 17 تشرين 2006 ,أسئلة متكررة عن السل الشديد المقاومة للأدوية .

دليل العمل في البرنامج الوطني لمكافحة التدرن .2009. جمهورية العراق وزارة الصحة، دائرة الصحة العامة والرعاية الصحية الأولية، معهد الأمراض الصدرية والتنفسية، البرنامج الوطني لمكافحة التدرن.

دليل العمل ألمختبري لبرنامج التدرن في العراق .2009. . جمهورية العراق وزارة الصحة، دائرة الصحة العامة والرعاية الصحية الأولية، معهد الأمراض الصدرية والتنفسية، البرنامج الوطني لمكافحة التدرن

بديوي سلوى غالي. (2011). تقييم مقاومة بكتريا التدرن *Mycobacterium tuberculosis* للمضادات الحيوية والتحري عن البكتريا المرافقة في المصابين. جامعة بغداد, كلية العلوم للبنات M.S.C.\Thesis 86 – 101.

SUMMARY:

This study was conducted for the period from the 1st of September 2011 to 20th of July 2012 to investigate the infection rate of resistant tuberculosis in Diyala Province in sample of 150 TB.patients which included 210 sputum sampls and 45 of washing bronchitis.

The result of direct microscopical examination of sputum using the Zhell Nelson stain were positive in 43 patient samples, all samples were cultured (positive and negative) on sold Lowenstein Jensen media , culture were positive in fifty patient samples. All isolates were tested on biochemical tests and the results showed all isolations were *Mycobacterium tuberculosis*.

Results showed a significant difference in the number of tuberculosis cases in the age groups (21-30) years. The results also showed a significant difference in number of TB. infection in males compared to females (21.3% ,12%). Results showed a significant difference in the number of tuberculosis infection in suspect and relapse (12%) compared with other clinical cases chronic, tread and follow-up (8%, 1.3% and 0%), respectively. The results showed that there was significant differences in the number of TB infection in the Baquba sector (21.4%) compared to other sector.

The sensitivity test for the first line drugs showed a highly significant differences at in the number of M.TB. isolates resistant (MDR-TB.) was 40% and the percentage of monoresistant isolates 12% and the rate of polyresistant isolates 2%. The highest resistance was aganest IRS group (20%) followed by IPRS, IEPRS, IERS groups (14%, 4% and 2%) respectively.

The results showed highly significant difference at the level ($P<0.01$) of the resistant isolates to each antituberculosis drug of first line the highest resistance to rifampicin (46%), followed by isoniazid, streptomycin, Ethambetol and Pyrazenamaid (44%, 42%, 18% and 6%) respectively.

Results showed significant difference at the level ($P <0.05$) in the rate of MDR-TB. by age groups as the age group (21-30) has highest rates of pulmonary TB (16%) and the lower rates of multi-drug resistance were recorded in age groups (61-70) and (71-80) (0.6%). The reselts also show no significant differences in the rate of MDR- TB in males and females 22% and 18% respectively.

Baquba sector has highest MDR-TB. (18%), in relapse patient (28%) compared to new cases and chronic patients (8% and 4%) respectively.

The sensitivity test M.TB. isolates to second line drugs, the results of the showed no XDR-TB., 2 isolates Pre-XDR (10%), and5 isolates were poly resistant (25%), and 2 isolates monoresistant (10%). There was significant difference in the proportions of resistance to antibiotics of second line drug with higher rate of resistance in the D-Cycloseren and Rafabutin antibiotics(35% and 30%) respectively, while the lowest percentage resistance was to Knamaycin and P-Amino Salicylic with rate (10%) for both the antibiotics. All isolates showed no resistance to Amikacin and Ciprofloxacin.

Patient relapsing cases patient showed the highest rates of resistance to antibiotics of second line drug 7 isolates showed resistance to antibiotics of second line drug with (35%), 1 isolate was pre-XDR with (5%) and 4 isolation were poly resistant to second line drug with (20%), and 2 isolates were monoresistant (10%), while the number of sensitive isolations to second line drug from the total isolations of MDR-TB. are 7 (35%). The results also showed there was a 1 isolate pre-XDR from 4 isolates of MDR-TB. Patient with new cases (5%) ,and 1 poly resistant isolate, 2 isolates of MDR-TB. Chronic patients (5%) from the total of MDR-TB. isolates.