# دراسة تأثير الخل في الجراثيم الملوثة للحروق في جسم الإنسان

خضر داؤد سليمان
قسم علوم الحياة/كلية التربية

منال فوزي محمد الحائك
فرع الأدوية/كلية الصيدلة

جامعة الموصل

تاريخ الاستلام
٢٠٠٦/٧/١٧

تاريخ القبول
2006/10/3

## ABSTRACT

The study concerned the inhibitory effect of vinegar towards the bacteria isolated from burn infections including *Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus ,Klebsiella pneumoniae،Escherichia coli,Proteus mirabilis,Klebsiella oxytoca* by choosing five samples of vinegar as the Iraqi apple vinegar, Iraqi date vinegar,(both from Al-Badawi trademark),home made apple and date vinegar, Jordanian apple and grape vinegar . The Acetic acid contents was estimated in each type. The results showed that all vinegar types, has high inhibitory effect against the isolated bacterial species when compared with Floumizin ointment which was used as control supremacy in its effect against most of the isolated bacterial species. *Pseudomonas aeruginosa* showed high sensitivity towards the various types of vinegar. More over this study included also, the effect of the Iraqi apple vinegar (Al-Badawi) in treating burns in three patients and comparing it with the Floumizin ointment. The number of bacteria in (1) gm of tissues before and after the treatment with vinegar were estimated. The results showed a reduction in the number of bacteria in the area treated with vinegar which was ($8.5x10^8$) cell/gm compared with their numbers before treatment which was ($11.5x10^{13}$) cell/gm in contrary to treatment with Floumizin which was ($17.5x10^8$) cell/gm. More over this study included also, the effect of vinegar in the burned tissues and showed that it had good effect in restoring of damaged tissue layers and aids to their healing.

## الملخص

حدد في هذه الدراسة التأثير التثبيطي للخل على عدد من بعض الجراثيم المعزولة من الحروق والتي شملت *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* و*Klebsiella pneumoniae* و *Escherichia coli* و *Proteus mirabilis* و *Klebsiella oxytoca* اذ اختيرت خمسة أنواع من الخل وهي خل التفاح العراقي وخل التمر العراقي

وخل التفاح والتمر المنزلي وخل التفاح الأردني وخل العنب الأردني. قدرت نسبة حامض الخليك في كل منها ودرس تأثيرها التثبيطي في الجراثيم المعزولة. أظهرت النتائج أن أنواع الخل جميعها تمتلك فعالية تثبيطية عالية ضد الأنواع الجرثومية المعزولة مقارنة بمرهم الفلومازين Floumizin الذي أستخدم عينة سيطرة. واظهر خل التفاح العراقي تفوقا واضحا ومتميزا في تأثيره التثبيطي في أغلب أنواع الجراثيم المعزولة. وأظهرت جرثومة *Pseudomonas aerugiosa* حساسية عالية تجاه الأنواع المختلفة من الخل. كما حدد تأثير خل التفاح العراقي في الجراثيم الملوثة للحروق في ثلاثة مرضى مقارنة بمرهم الفلومازين المستخدم في معالجة إصابات الحروق وقدرت اعداد البكتريا في(1) غم من النسيج قبل المعاملة بالخل وبعدها وأظهرت النتائج انخفاضا في عدد البكتريا في منطقة الحرق بعد المعاملة بالخل إلى ($10^{8}$X8.5) خلية/غم مقارنة بإعدادها قبل المعاملة به ($10^{14}$X1.15) خلية/غم وبعد المعاملة بمرهم الفلومازين ($10^{9}$×1.75) خلية /غم. فضلا عن تأثيره الجيد والمتميز في التئام الحروق وإعادة تكوين الطبقات المفقودة من الأنسجة المصابة في مناطق الحرق.

## المقدمة

يعد تلوث الحروق بالجراثيم من المشكلات الرئيسة والمهمة في علاج إصابات الحروق اذ تعد اخماج الحروق (Burn Infection) من أكبر الأخطار التي يواجهها مرضى الحروق على الرغم من التقدم الكبير الحاصل في أساليب المعالجة عن طريق استخدام العلاجات الكيميائية الموضعية الفعالة وأجراء عملية القشط ( Excision) التي لها أهمية كبيرة في التقليل من غزو الأحياء المجهرية الممرضة لمنطقة الإصابة فضلا عن تطوير العديد من المواد المضادة للجراثيم.(١،٢،٣) وهذا التلوث اما أن يكون داخليا أي من النبيت الطبيعي(Normal Flora) المنتشر على جسم المريض نفسه أو يكون خارجيا المريض يكتسبه من المرضى أو العاملين في المستشفى أو من البيئة(4,2) تشكل المناطق المصابة بالحروق موقعا حساسا لغزو الجراثيم الانتهازية بسبب فقدان الحماية الطبيعية التي توفرها أنسجة الجلد فضلا عن ضعف الجهاز المناعي نتيجة حدوث الإصابة وتمثل الأنسجة الميتة وسطا ملائما لنمو هذه الجراثيم وتكاثرها ومن ثم حدوث الخمج (Infection) (5).

## المواد وطرائق العمل:

استخدمت في هذه الدراسة ستة انواع من الجراثيم المعزولة من اصابات الحروق هي: *Klebsiella pneumoniae* ، *Staphylococcus aureus*،*Pseudomonas aeruginosa* *Klebsiella oxytoca*، *Proteus mirabilis*،*Escherichia coli* شخصت العينات أوليا

بملاحظة الصفات المزرعية للمستعمرات النامية على الاوساط الزرعيةالمستخدمة ثم حضرت مسحات رقيقة (Smears) من هذه المستعمرات وصبغت بصبغة كرام لملاحظة قابليتها على الاصطباغ بهذه الصبغة وملاحظة أشكال الخلايا وترتيبها. اجريت الاختبارات الكيمياحياتيـة كما ذكرت في انظمة التشخيص المعتمدة (7,6) وتم التأكد من التـشخيص باسـتخدام نظـام API 20E.

**جمع عينات الخل المستخدمة في الدراسة:**

جمعت عينات الخل المستخدمه في الدراسة من الاسواق المحلية في مدينـة الموصـل، وضعت في قنان زجاجية وحفظت في درجة حرارة الغرفة الى حين استخدامها في الدراسـة. وقدرت نسبة حامض الخليك في أنواع الخل قيد الدراسة باستخدام طريقة المعايرة حسب (٨). اذ حضر محلول عياري من هيدروكسيد الـصوديوم (NaOH) بوجـود مـادة (P.H.P) Potassium hydrogen phthalate ودليل الفينونفثالين وبتطبيق قانون العيارية

$$\text{العيارية} = \frac{\text{الوزن ( wt )}}{\text{الوزن الجزئي (Mwt )}} \times \frac{1000}{\text{الحجم ( V )}}$$

وقد اذيب(4) غم من هيدروكسيد الصوديوم في لتر من الماء المقطـر و(2.4) غـم من(P.H.P) في (100) مل من الماء المقطر وتم وضع (10) مل من محلول (P.H.P) في دورق زجاجي وأضيفت إليه قطرة الى قطرتين من دليل الفينونفثالين ثـم سـححت مـع هيدروكسيد الصوديوم إلى أن وصلت إلى نقطـة التعـادل اذ كـان الحجـم المطلـوب (10.6)، بذلك حضر محلول عياري من هيدروكسيد الصوديوم تبعاً للمعادلة الاتية:

$V_1 N_1 = V_2 N_2$

$10.6 \times N_1 = 10 \times 0.1$

$N_1 = 0.094$

وبذلك عينت نسبة حامض الخليك لكل نوع من أنواع الخل المستخدمة في الدراسـة مـن خلال المعايرة مع هيدروكسيد الصوديوم ، كما حسبت درجة ألـ (pH) لأنـواع الخـل المختلفة باستخدام جهاز(pH Meter).

**اختبار الفعالية التثبيطية لأنواع الخل المختلفة:**

لتقدير الفعالية التثبيطية لأنواع الخل المختلفة في نمو الجراثيم استخدمت طريقة اختبـار الحساسية (طريقة الانتشار بالأقراص). اجري الاختبار اعتماداً علـى طريقـة(٩)،إذ نقلـت

(5-4) مستعمرات فتية من الجراثيم المستخدمة في الدراسة والمعزولة من إصابات الحـروق بواقع ثلاث عزلات لكل نوع من ألأنواع الجرثومية إلى وسط المرق المغذي ، وحضن الوسط بدرجة حرارة (37) م مدة (14-16) ساعة وبعد ذلك خفف المعلـق الجرثـومي بـالمحلول الملحي الفسلجي للحصول على تركيز جرثومي يعادل انبوب رقم 3 من انابيـب ماكفرلانـد القياسية الذي يعادل ($10^8$)خلية / سم$^3$ ، نقل (0.1) سم$^3$ من المعلق الجرثـومي إلـى وسـط الاكار المغذي ونشر المعلق على سطح الطبق باستخدام مسحة قطنية معقمة. ولغرض دراسة تأثير الأنواع المختلفة من الخل في نمو الجـراثيم حـضرت أقـراص مـن ورق الترشـيح (Whatmann No.1) بقطر (6) ملم المعقمة مشبعة بتراكيز مختلفـة مـن أنـواع الخـل المستخدمة في الدراسة اذ اضيف (0.1) سم$^3$ من كل تركيز من التراكيز المختلفة من الخـل إلى قنينة حاوية ل (10) أقراص معقمة (٣٠). ثبتت الأقراص بوساطة ملقط معقم وحـضنت الأطباق بدرجة حرارة (37 ) لمدة (14-16) ساعة. أتبعت طريقـة (١٠) لبيـان الحـساسية لأنواع الخل المستخدمة التي تعتمد على حزام التثبـيط. وقـد اسـتخدم مـرهم الفلومـازين Floumizin (silver sulphadiazine) بوصفه عينة سيطرة موجبة للجراثيم لانه يـستخدم موضعيا في علاج إصابات الحروق .

## دراسة تأثير الخل في الجراثيم الملوثة للحروق في جسم الإنسان:

لدراسة تأثير الخل داخل الجسم الحي (*in vivo*) اختير خل التفاح العراقي لدراسة تـأثيره في الجراثيم الملوثة للحروق في ثلاثة من المرضى المصابين بالحروق ممن أدخلوا إلى ردهة الحروق في مستشفى الزهراوي التعليمي في الموصل نتيجة لإصابتهم بحروق مـن الدرجـة الثانية (Second degree Burn ) في مناطق مختلفة من الجـسم وكانـت نـسبة الحـروق (20,25,30) % على التوالي من المساحة السطحية الكلية للجسم ( Total Body Surface Area TBSA ) حسب تقرير الطبيب الاختصاصي وكانت أعمار المرضـى (38,56,26) سنة على التوالي وبوزن (68,75,52) كغم على التوالي وكان سـبب الحـرق هـو اللهـب (Flame) في الحالات قيد الدراسة جميعها. حددت مساحة صغيرة من المناطق المصابة فـي جزأين متناظرين من الجسم كالذراعين أو الساقين وأخذت عينات من منطقة الحرق بوسـاطة المـسحات القطنيـة المعقمـة ثـم أجـري التخـدير الموضـعي باسـتخدام الليـدوكائين (%2Lidocaine) ،أخذت الخزع النسيجية من منطقة الحرق وذلك لتحديد عدد البكتريا قبـل المعاملة ولمعرفة عمق الحرق ، ثم أجري التضميد بوضع كمادات من الخل بتركيـز (25%) في الجهة اليمنى واستخدام مرهم الفلومازين (Floumizin) في الجهة اليسرى للمقارنة لأنـه يستخدم لعلاج الإصابات الجرثومية في الحروق ، استمر التضميد مرتين يوميا مدة (7) أيـام

وفي اليوم الثامن من المعاملة أخذت الخزع النسيجية من منطقة الحرق لتحديد عدد البكتريـا بعد المعاملة ولملاحظة تأثير الخل في الأنسجة المصابة مقارنة بمـرهم الفلومـازيين الـذي يستخدم في معالجة الحروق ، وقد استمرت المعاملة مدة (10) أيام وتحت إشـراف الطبيـب المختص .

**الفحص البكتريولوجي:**

أخذت عينات من منطقة الحرق بين يوم وآخر من التجربة بوساطة المـسحات القطنيـة المعقمة وزرعت على وسط اكار الدم ووسط اكار الماكونكي وحضنت بدرجة حرارة (37)م مدة (18-24) ساعة ثم نقلت المستعمرات المعزولة والنقية إلى وسط الاكار المغـذي المائـل وشخصت العينات أوليا بملاحظة الصفات المزرعية للمستعمرات النامية مـن حيـث حجـم المستعمرة وارتفاعها وشكل حافاتها ولونها ،وحضرت مسحات رقيقة (Smears) مـن هـذه المستعمرات وصبغت بصبغة كرام لملاحظة قابليتها على الاصطباغ بهذه الـصبغة وأشـكال الخلايا وترتيبها. ثم اجريت الاختبارات الكيمياحياتية كما ذكرت في انظمة التشخيص المعتمدة (7,6). وتم التأكد من التشخيص باستخدام نظام API 20 E.

**تقدير عدد البكتريا:**

أخذت خزع نسيجية من منطقة الحرق قبل المعاملة وبعد المعاملة بثمانية أيام وذلك بعد التخدير الموضعي باستخدام الليدوكائين وباستخدام جهاز (Punch Biopsy) ولتقـدير عـدد البكتريا استخدمت طريقة العد بالأطباق (Plate Count Method) اعتماداً على ما ورد فـي (10) اذ وضعت النماذج في قنان صغيرة تحتوي على(9) سم$^3$ من المحلول الملحي الفـسلجي للحصول على التخفيف ($10^{-1}$) الذي أستخدم لتحضير سلسلة من التخافيف بعـد رجـه عـدة مرات رجاً جيداً اذ نقل (1)سم$^3$ من هذا التخفيف الى قنينة تحتوي على (9) سم$^3$ من المحلول الملحي الفسلجي للحصول على التخفيف ($10^{-2}$) ، كررت هذه العملية الى حين الوصول إلـى التخفيف ($10^{-9}$) مع متابعة الرج الجيد في كل خطوة ثم نقل (1) سم$^3$ من التخفيفات الخمـسة الأخيرة إلى أطباق زجاجية معقمة وبواقع ثلاثة مكررات من كل تخفيف ثم صب وسط الاكار المغذي المبرد إلى درجة حرارة (45-50 ) م ومزج مع العينات بتحريك الطبق بشكل الرقم (8) وبعد تصلب الوسط قلبت الأطباق وحضنت بدرجة حرارة(37) م مدة (24) ساعة ، بعد التحضين اختيرت الأطباق التي تراوح عدد المستعمرات فيها من (25-250) مستعمرة. (10)

**الفحص النسيجي:**

بعد إكمال عملية تحضير التخفيفات رفعت الخزع النـسيجية مـن المحلـول الملحـي الفسلجي ووزنت باستخدام الميزان الحساس ثم نقلت إلى قنان صغيرة حاوية للمحلول المثبـت

مـررت العينـات بعـد ذلـك بسلسلة تـصاعدية مـن تراكيـز الكحـول الاثيلـي ( 50%,70%,90%,100% ) مدة (2-4) ساعات في كل تركيز ، ثم مررت العينات بثلاث مراحل من الزايلين (Xylene) وبمعدل ساعتين في كل مرحلة لغرض الترويق ، ثم مررت بثلاث مراحل في شمع البارفين(Paraffin Wax) درجة انصهاره(56-60) م مدة ساعتين في كل مرحلة بدرجة حرارة (60) م لغرض التشريب. وطمرت العينات بوضع الشمع في قوالب حديدية على شكل حرف (L-shape ) ، تركت في مكان بارد ، شذبت قوالب الشمع الحاوية للمقاطع النسيجية تشذيبا دقيقا وثبتت على جهاز المشراح الدوار (Microtome) من نـوع ( Reiched – Jung Mod 1130 / Biocut ) وقطعت لغرض الحـصول علـى شـرائح نسيجية بسمك (5-6) مايكروميتر ، ثم حملت الأشرطة المقطوعة بوساطة فرشاة صغيرة على الشرائح الزجاجية بعد عمل مسحة خفيفة عليها من آح البومين ماير مع بضع قطـرات مـن الماء المقطر وضعت الشرائح بعد ذلك على الصفيحة الساخنة (Hot plate) عنـد درجـة (40-45) م لفرش المقاطع وتسطيحها ثم تركت الشرائح مدة (48) ساعة في درجة حـرارة الغرفة لتجف (11). ثم صبغت الشرائح النسيجية باستخدام صبغة الهيماتوكسلين – آيوسـين وذلك بتمرير المقاطع في الزايلين بمرحلتين مدة نصف ساعة لكل مرحلة لإذابة الشمع وبعـد ذلك مررت في سلسلة تراكيز تنازلية من الكحول الاثيلي (100%,90%,70%) مدة دقيقتـين ثم نقلت إلى الماء المقطر وصبغت المقاطع بصبغة الهيماتوكسلين مدة (10-15) دقيقة وغسلت بعد ذلك بالماء الجاري لمدة (5) دقائق ثم غمست بالماء المقطر ، وضعت بعد ذلك في صبغة الايوسين مدة (2-5) دقائق ثم غسلت بالماء الجاري مدة (5) دقائق ثم غمست بالماء المقطـر ومررت بسلسلة تراكيز تصاعدية من الكحول الاثيلي (70%,90%,100%) مدة دقيقة إلـى دقيقتين ، ومررت بعد ذلك في مرحلتين من الزايلين لترويقها ثم ثبـت الغطـاء الزجـاجي بوسـاطة دسـترين بلاسـتزر- زايلـين ( Distrene – Plasticizer–Xylene ) ( D.P.X).(12).

## النتائج والمناقشة

كانت نتائج الاختبارات الشكلية والكيمياحياتية التي أجريت على العزلات الجرثوميـة مطابقة لما ورد في أنظمة التشخيص المعتمدة.(7,6).كما اظهرت النتائج نظـام (API 20E) تطابقا كاملا مع نتائج الاختبارات الكيمياحياتية السابقة الذكر ومع ما ورد فـي (13,7).كمـا موضح في الجدول (١).

| الاختبارات / الانواع الجرثومية | صبغة كرام | اختبار الكتاليز | اختبار الاوكسيدز | IMVIC | | | | | | | | TSI | | | | | | | | تخمير السكريات | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | I | MR | VP | C | | | | | H2S | Gas | Butt | Slant | اختبار لنزيم التجلط | اختبار النمو على وسط | اختبار تحلل الدم | كلوكوز | لاكتوز | مانيتول | مالتوز | سكروز | مانوز | اختبار النمو في 42 م |
| Ps.aeruginosa | - | + | + | - | - | - | + | - | - | - | -- | + | - | - | Alk | -- | -- | تحلل كامل | + | - | - | - | - | - | + |
| Staph.aureus | + | + | - | - | + | + | d | d | | -- | -- | - | -- | -- | -- | + | + | تحلل كامل | + | + | + | + | + | -- | -- |
| *K.pneumoniae* | - | + | - | - | - | + | + | + | + | - | - | - | + | A | A | -- | -- | -- | + | + | + | + | + | + | -- |
| *K.oxytoca* | - | + | - | + | - | + | + | + | + | - | - | - | + | A | A | -- | -- | -- | + | + | + | -- | + | -- | -- |
| *E.coli* | - | + | - | + | + | - | - | - | - | + | - | + | + | A | A | -- | -- | -- | + | + | + | + | d | + | -- |
| *Pr.Mirabilis* | - | + | - | - | + | - | + | + | + | + | + | + | + | A | Alk | -- | -- | -- | + | - | - | - | - | - | -- |

كما قدرت خلال هذه الدراسة نسبة حامض الخليك في أنواع الخل المـصنعة محليـا والمستوردة وأظهرت النتائج أن أعلى نسبة لحامض الخليك كانت في خـل التفـاح العراقـي إذ بلغت (5 %) يليه خل العنب الأردني إذ بلغت (4.9 %) ثم خل التفاح الأردنـي (4.7 %) ثم خل التفاح مع التمر المنزلي (4.4 %) وكانت أقل نسبة لحامض الخليك في خـل التمـر العراقي إذ بلغت (3.2 %) كما بينت النتائج أن درجة ألـ(pH) لخل التفاح العراقـي كانـت أعلى من درجة ألـ(pH) لبقية الأنواع وكما موضح في الجدول (٢).

**الجدول (٢): نسبة حامض الخليك ودرجة ألـ( PH ) لأنواع الخل المستخدمة في الدراسة**

| أنواع الخل | نسبة حامض الخليك ( % ) | درجة ألـ( PH ) |
|---|---|---|
| خل التفاح العراقي | 5 | 3.48 |
| خل التمر العراقي | 3.2 | 2.38 |
| خل التفاح والتمر المنزلي | 4.4 | 2.39 |
| خل التفاح الأردني | 4.7 | 1.79 |
| خل العنب الأردني | 4.9 | 1.78 |

يوضح الجدول (٢) نسبة حامض الخليك لكل نوع من انواع الخل ودرجة الحموضـة (pH) إذ يتضح أن نسبة حامض الخليك في خل التفاح العراقي كانت (5%) في حين كانـت درجة الحموضة (3.48) أما بقية أنواع الخل فقد اختلفت نسبة الحموضـة ودرجـة حـامض الخليك وبلغت نسبة الحامض (4.9%) في خل العنب الاردني ودرجة حموضته (1.78) ممـا يدل على احتواء هذه الانواع من الخل على حوامض أخرى تزيـد مـن انخفـاض درجـة الـ(pH). كما درس تأثير التراكيز المختلفة لخمسة أنـواع مـن الخـل المـصنعة محليـا والمستوردة وهي خل التفاح العراقي وخل التمر العراقي وخل التفاح والتمر المنزلي وخـل التفاح الأردني وخل العنب الأردني في ستة أنواع من الجراثيم المعزولة من إصابات الحروق وباستخدام طريقة الانتشار بالأقراص وقد اظهرت النتائج أن الأنواع المختلفة من الخـل لهـا تأثيرات متباينة في الأنواع الجرثومية قيد الدراسة ويعتمد ذلك على نـوع الخـل المـستخدم وتركيزه فضلا عن نوع الجراثيم ، وقد أظهرت النتائج أن أنواع الخل المستخدمة في الدراسة تمتلك جميعها فعالية تثبيطة عالية مقارنة بالفلومازين (Floumizin) الذي أسـتخدم عينـة سيطرة وكما موضح في الجدول (٣) .

**الجدول (٣): الفعالية التثبيطية لانواع الخل قيد الدراسة على الانواع الجرثومية المعزولة من أصابات الحروق**

**( قطر دائرة التثبيط مقاسا بالملم )**

| أنواع الخل بتركيز 100 % | نسبة حامض الخليك % | الانواع الجرثومية | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *Pseudo. aeruginosa* | *Staph. aureus* | *K. pneumoniae* | *E. coli* | *Pr. mirabilis* | *K. oxytoca* |
| خل التفاح العراقي | 5 | 29.3±1.5 | 26.3±0.88 | 23.3±1.4 | 19.3±1.1 | 17.0±0.88 | 20.6±1.0 |
| خل التمر العراقي | 3.2 | 23.3 ± 1.4 | 18.6±1.0 | 18.0±1.2 | 16.6±1.0 | 18.6±0.66 | 18.6±0.33 |
| خل التفاح والتمر المنزلي | 4.4 | 21.0±0.88 | 20.1±1.4 | 22.0±0.88 | 18.3±0.33 | 24.0±1.4 | 17.0±0.57 |
| خل التفاح الأردني | 4.7 | 25.6±1.5 | 24.3±1.2 | 20.6±0.33 | 22.0±0.33 | 24.6±1.6 | 19.6±0.33 |
| خل العنب الأردني | 4.9 | 28.3±0.33 | 18.6±0.33 | 22.3±1.3 | 21.3±0.66 | 20.3±1.6 | 18.6±0.66 |
| Floumizin ( 2 mg/disc) | المقارنة | 12.3±0.66 | 13.6±0.33 | 11.6±1.2 | 11.6±0.33 | 10.0±0.33 | 11.3±1.0 |

- قطر القرص (6 ) ملم
- قطر دائرة التثبيط للخل أكبر من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة تثبيطا عاليا
- قطر دائرة التثبيط مساويا لقطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة تثبيطا جيدا
- قطر دائرة التثبيط أقل من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة ( 6 - 12) ملم ( حساسية معتدلة )
- قطر دائرة التثبيط أقل من قطر دائرة التثبيط لمضاد المقارنة بأكثر من (12 ) ملم مقاومة
- Vandepitte et al. , 1991 ; Garrod et al. ,1981
- معدل قطر دائرة التثبيط حسب باستخدام ثلاث عزلات لكل نوع من الجراثيم.
- الأرقام التي تلي الإشارة (± ) تمثل الخطأ التجريبي

يتضح من الجدول (٣) أن خل التفاح العراقي قد أظهر تفوقا واضحا ومتميزا في تأثيره في الجراثيم مقارنة بأنواع الخل الاخرى قيد الدراسة ، كما يبين الجدول (٣) أن خل التفاح العراقي قد أعطى أعلى فعالية تثبيطية في جرثومتي *Staph. aureus, Pseudo. aeruginos* تليها جرثومتا *K. Pneumoniae, K. oxytoca* ثم جرثومتا *E.coli,Pr.mirabilis* اذ كانتا أقل الأنواع الجرثومية تأثرا بهذا النوع من الخل ، ويوضح الجدول (٤) تأثير التراكيز المختلفة لهذا النوع من الخل في الجراثيم قيد الدراسة.

**الجدول (٤): تأثير خل التفاح العراقي بتراكيز مختلفة في الأنواع الجرثومية( قطر دائرة التثبيط مقاسا بالملم)**

| تركيز الخل (%) | الأنواع الجرثومية | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ***Pseudo. aeruginosa*** | ***Staph. aureus*** | ***K. pneumoniae*** | ***E. coli*** | ***Pr. mirabilis*** | ***K. oxytoca*** |
| 100 | 29.3c | 26.3d | 23.3c | 19.3d | 17.0d | 20.6c |
| 75 | 23.6bc | 23.6cd | 19.5bc | 17.0c | 15.cd | 18.3bc |
| 50 | 19.3ab | 19.6bc | 16.0abc | 14.3b | 13.3bc | 15.6abc |
| 25 | 15.0a | 15.0ab | 13.5ab | 12.3ab | 11.6ab | 12.0a |
| 12.5 | 12.3a | 11.6a | 11.1a | 10.3a | 10.6ab | 10.0a |
| Floumizin (2mg/disc) | 12.0a | 13.0ab | 12.0a | 11.0a | 9.5a | 11.0ab |

معدل قطر دائرة التثبيط حسب باستخدام ثلاث عزلات لكل نوع من الجراثيم

الحروف المختلفة عموديا تعني وجود فرق معنوي عند مستوى معنوية ( $p < 0.05$)

يتضح من الجدول (٤) أن خل التفاح العراقي كان مؤثرا في التراكيز المستخدمة جميعا وقد أظهر فعالية تثبيطية عالية في الأنواع الجرثومية قيد الدراسة جميعا وكان أعلى فعل تثبيطي له عند التركيز (100%) اذ يتناسب تأثير هذا النوع من الخل طردياً مع التركيز وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية بين معدلات أقطار التثبيط لمجموعات التراكيز المختلفة. إن الفعالية المضادة للجراثيم التي يمتلكها الخل ربما تعود إلى تأثيره الحامضي فالرقم الهيدروجيني للخل يتراوح ما بين (PH 3.4 – 1.7) ، أوقد يؤثرفي نضوحية الغشاء البلازمي للخلايا الجرثومية وقد تعود الفعالية التثبيطية التي يمتلكها الخل إلى احتوائه على

حامض الخليك (Acetic acid) الذي له تأثير مضاد للجراثيم اذ يكون فعالاً ضد الجـراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام (١٦) كما أن حامض الخليك يمتلك تـأثيرا مـضادا للجـراثيم ويكون فعالاً ضد الجراثيم (*Pseudo. aeruginosa* و *Proteus spp., Klebsiella spp.,* *Enterobacter spp. Citrobacter spp., Staph. aureus , E.coli,* ) ويعد الكلور أحد مكونات الخل الذي قد يكون له تأثير قاتل للأحياء المجهرية عن طريق الاتحاد المباشـر مـع بروتين الخلية (١٧) .كما أن الفعل التثبيطي للخل قد يعزى إلى وجود عدد من المـواد التـي تنتج من عملية التخمر مثل الكحول والحوامض العضوية التي تعد موادا مثبطة لنمو الأحيـاء المجهرية(١٨). كما أن الخل يمتلك تأثيرا مضادا للطفيليـات (Antiparasitic effect ) ، و يقوم بفعل مطهر للأمعاء ويشفي التهابات الحلق التي تسببها المكـورات الـسبحية المقيحـة *Streptococcus pyogenes* و ينصح باستعماله بشكل غرغرة للفم والحلق فيطهر الفم من الجراثيم (٢٠،١٩) ويستخدم الخل في العديد من المستشفيات الأمريكيـة لعـلاج عـدد مـن الالتهابات البسيطة وهو مفيد جدا في علاج الحروق البسيطة وله فوائد علاجية عديـدة لأنـه مطهر ومضاد حيوي أيضا وقد أشارت إحدى الدراسات إلى أن الخـل يمكـن أن يـستخدم مطهراً فعـالا ضـد العديـد مـن الجـراثيم الممرضـة ومنهـا *Pseudo. aeruginosa,* *Enterobacter spp., E. coli, Staph. aureus* *(Salmonella* (21).

*choleraesuis,* وتعد جرثومة *Pseudo. aeruginosa* مـن أكثـر الجـراثيم مقاومـة للمضادات الحيوية إذ إنها تمتاز بمقاومتها الشديدة للمطهرات والمعقمات وحتـى للمـضادات الحيوية والمواد العلاجية المكتشفة حديثا (٢٣،٢٢).وقد بينت نتائج الدراسة الحالية أن جرثومة *Pseudo. aeruginosa* قد أظهرت حساسية عالية تجاه الأنواع المختلفة من الخل وكما هو موضح في الجدول (٣) وقد يعود السبب في ذلك إلى أنخفاض درجة الحموضة اذ أن جرثومة *Pseudo. aeruginosa* لا يمكنهـا أن تنمـو فـي pH حامـضي (4.5).(٢٤) والـرقم الهيدروجيني (pH) للخل يكون حامضيا وكما موضح في الجدول (٢) أوقد يعود السبب فـي ذلك إلى وجود حامض الخليك في تركيب الخل الذي يكون له تـأثير فعـال ضـد الجـراثيم العصوية السالبة لصبغة كرام ومنها جرثومة *Pseudo. aeruginosa* (٤) وقد وجد الباحث (٢٥) أن جرثومة *Pseudo. aeruginosa* تكون حساسة تجـاه حـامض الخليـك بتركيـز (0.5_5%) وذكر أنه أظهر فعالية عالية في إزالة هذه الجرثومة من إصابات الحروق. كمـا ذكر الباحث (٢٦) أن حامض الخليك يكون فعالاً ضـد جرثومـة *Pseudo. aeruginosa* على نحو خاص ويؤثر بدرجة أقل في ألانواع الجرثومية الأخرى.

كما تضمنت الدراسة الحالية دراسة تأثير الخل في الجراثيم الملوثة للحروق في جسم الإنسان وقد اختير خل التفاح العراقي لدراسة تأثيره داخل الجسم الحي (*in vivo*) اذ أخذت عينات من منطقة الحرق بين يوم وآخر، زرعت وحضنت في الظروف المثالية وكما ذكر في المواد وطرائق العمل أظهرت نتائج الفحوصات التشخيصية أن الجراثيم المعزولة من كلا المنطقتين المعاملة بالخل ومنطقة المقارنة المعاملة بمرهم الفلومازين كانت متشابهة وظهر أن الجراثيم المعزولة من منطقة الإصابة في اليومين (3,1) من المعاملة تعود إلى النوع *Staph.aureus* أما في اليومين (7,5) من المعاملة فقد عزلت جرثومة *Pseudo. aeruginosa* كما عزلت جرثومة *K.. pneumoniae* في اليومين (11,9) من المعاملة وكما موضح في الجدول (٥) وقد أشارت مجموعة من الدراسات إلى إن الجراثيم الموجبة لصبغة كرام تكون هي السائدة في ألـ(48) ساعة الأولى بعد الإصابة وهي تتأتى من النبيت الطبيعي للجسم ومنها جرثومة *Staph. aureus* وتتغير هذه الجراثيم بعد مرور (5-7) أيام اذ تصبح الجراثيم السالبة لصبغة كرام هي السائدة ومنها جرثومة *Pseudo. aeruginosa*. (27,3). وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية.

**الجدول (٥): أنواع الجراثيم المعزولة من منطقة الإصابة عند الأيام ( 1،3،5،7،9،11) من التجربة**

| الأيام | الأنواع الجرثومية |
|---|---|
| ( 3،1) | *Staphylococcus aureus* |
| (7،5) | *Pseudomonas aeruginosa* |
| (11،9) | *Klebsiella pneumoniae* |

كما قدر خلال هذه الدراسة عدد البكتريا في (1) غم من النسيج قبل المعاملة بالخل وحسب عدد البكتريا في (1) غم من النسيج باستخدام القانون الأتي :

عدد البكتريا في (1) غم من النسيج = عدد المستعمرات × مقلوب التخفيف

وقد ظهر أن عدد البكتريا في (1) غم من النسيج قبل المعاملة كان مساويا لـ( $1.15 \times 10^{14}$ ) خلية / غم في المنطقة المعاملة بالخل في حين كان عددها في المنطقة المعاملة بمرهم الفلومازين مساويا لـ ($9 \times 10^{13}$) خلية / غم . كما أظهرت النتائج أن عدد الخلايا بعد المعاملة كان مساويا لـ($8.5 \times 10^{8}$) خلية / غم في المنطقة المعاملة بالخل في حين كان عددها في المنطقة المعاملة بمرهم الفلومازين ($1.75 \times 10^{9}$) خلية/غم وكما موضح في الجدول (٦) .

**الجدول (٦): أعداد البكتريا قبل المعاملة بالخل وبعدها**

| منطقة المعاملة | عدد البكتريا في (١) غم من النسيج | |
|---|---|---|
| | قبل المعاملة | بعد المعاملة |
| المنطقة المعاملة بالخل | $10^{14}$ x 1.15 | $10^{8}$ x 8.5 |
| المنطقة المعاملة بالفلومازين ( منطقة المقارنة ) | $10^{13}$ x 9 | $10^{9}$ x 1.75 |

اذ يتبين ان عدد البكتريا في المنطقة المعاملة بالخل قد أنخفض بدرجة كبيرة بعد المعاملة وهذا يدل على أن الخل يمتلك فعالية مضادة للجراثيم واسعة الطيف فهو فعال ضد الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام وأهمها جرثومة *Pseudo. aeruginosa* التي كانت أكثر الجراثيم شيوعا في هذه الدراسة والسبب الشائع في وفاة كثير من مرضى الحروق(5,3) وقد تعزى الفعالية التثبيطية للخل إلى احتوائه على عنصر البوتاسيوم بنسبة عالية إذ إنها تؤثر في قابلية الجراثيم على امتصاص الماء من خلايا جسم الانسان مما يؤدي إلى موت الخلايا الجرثومية بسبب جفافها . كما يوضح الجدول أن الخل قد أعطى نتائج أفضل من الفلومازين في تأثيره في الجراثيم فقد كان عدد البكتريا بعد المعاملة بالخل أقل من عددها بعد المعاملة بالفلومازين علما أن عدد البكتريا قبل المعاملة في المنطقة التي عوملت بالخل كان أكثر من عددها في المنطقة التي عوملت بالفلومازين وهذا يؤكد نتائج التجارب التي أجريت خارج الجسم الحي (*in vitro*) خلال هذه الدراسة. وتوضح الصور (٣،٢،١) تأثير الخل في مناطق الحروق في جسم الإنسان مقارنة بمرهم الفلومازين الذي يستخدم في معالجة الحروق .

**الصورة:١ مناطق الحرق قبل المعاملة**

**الصورة:٢**

**A.المنطقة المعاملة بالخل في اليوم السادس بعد المعاملة**

**B.المنطقة المعاملة بمرهم الفلومازين (منطقة المقارنة) في اليوم السادس بعد المعاملة**

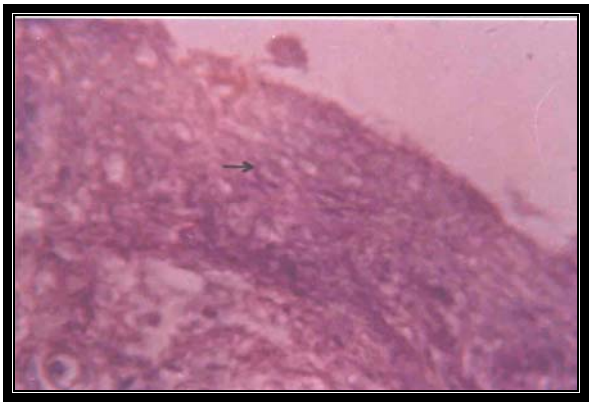
الصورة:٣

**A.المنطقة المعاملة بالخل في اليوم العاشر بعد المعاملة.**

**B.المنطقة المعاملة بمرهم الفلومازين (منطقة المقارنة) في اليوم العاشر بعد المعاملة.**

ولدراسة تأثير الخل في الأنسجة المصابة حضرت مقاطع نسيجية من المنطقة المعاملة بالخل والمنطقة المعاملة بمرهم الفلومازين قبل المعاملة وبعدها وكانت نتائج الفحص النسيجي متشابهة لكلا المنطقتين وقد أظهرت النتائج (قبل المعاملة) وجود طبقة الأدمة بمفردها مع

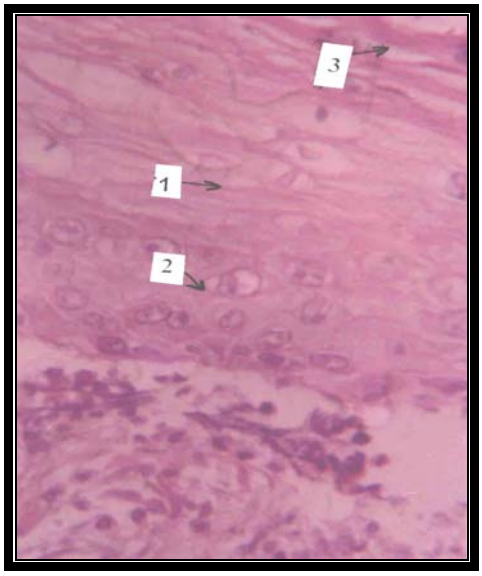
غياب طبقة البشرة كاملة نتيجة حدوث تلف تام في طبقة البشرة بسبب الإصابة وقد ظهـرت طبقة الأدمة بمحتوياتها إذ إنها لم تتأثر بالحرق (الصورة ٤).



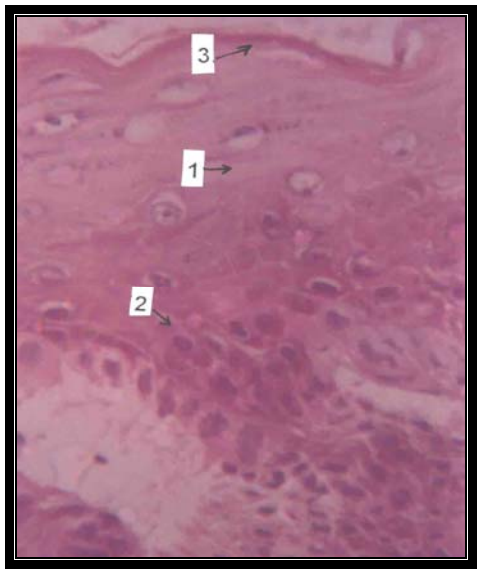
**الصورة:4 مقطع في الجلد للمنطقة المصابة بالحرق قبل المعاملة**
**لاحظ وجود طبقة الادمة فقط وفقدان طبقة البشرة .**
**الصبغة H&E، قوة التكبير X 40.**

وأظهرت النتائج (بعد المعاملة) حدوث عملية الالتئام الذي ظهر بشكل التئـام النـسيج الحبيبي في طبقة الأدمة باتجاه طبقة البشرة وحول النسيج الدهني مرتشحا بالخلايا الالتهابيـة متعددة ووحيدة النواة ولوحظ تكون طبقة البشرة في كلا المنطقتين وظهورها على نحو واضح (الصورة٦،٥) كما لوحظ النسيج الظهاري (Epithelial tissue) وشوهدت الخلايا الظهارية التي يتكون منها وبهذا تبين أن للخل دورا في عملية تكاثر الخلايا الظهارية المكونـة لطبقـة البشرة كما أظهرت النتائج أن النسيج الظهاري المتكون في الطبقة المعاملة بالخل ظهر علـى نحو أفضل وأكثر وضوحا من النسيج الظهاري المتكون في عينة المقارنة .وهذا يتفـق مـع دراسة الباحث (28) الذي ذكر أن الخل الذي يحتوي على حـامض الخليـك بنـسبة (5 %) يساعد في إعادة تكوين النسيج الظهاري ويقلل من عمق الإصابة إذ أشاروا إلى إمكان اسـتخدام الخل في معالجة الحروق الكيميائية الناتجة عن مواد قاعدية فهو يعمل على معادلة تـأثير هـذه المواد بسرعة فيقلل بذلك من الضرر الناتج عن الإصابة ، كما أن الخل يعمل علـى معادلـة الحروق الكيميائية بسرعة وله أهمية كبيرة في التقليل من التلف الذي يصيب أنسجة الجلد. كما تبين وجود طبقة الكيراتين التي تغطي طبقة البشرة في كلاالمنطقتين

(الصورة ٦،٥) مما يؤيد دور الخل في حدوث عملية الالتئام وقد يعود السبب في ذلك إلـى قدرته على اختراق طبقات الأنسجة الميتة وتنظيف منطقة الحرق من الجـراثيم ممـا يـشجع عملية الالتئام .




**الصورة:٥ مقطع في الجلد ومنطقة الإصابة المعاملة بالخل.لاحظ 1 تكون طبقة البشرة بعد طبقة الادمة و٢ النسيج الظهاري و٣ وجود طبقة الكيراتين.الصبغة H & E ،قوة التكبير X 40**




**الصورة:٦ مقطع في الجلد لمنطقة الإصابة المعاملة بمرهم الفلومازين.**

**لاحظ ١ تكون طبقة البشرة،و٢ النسيج الظهاري و٣ وجود طبقة الكيراتين. الصبغة H & E ، قوة التكبير X 40**

أن عملية إصلاح الأنسجة المتضررة عملية معقدة (29) وتتطلب تزويد المريض بالعديد من المغذيات لغرض تكوين أنسجة جديدة عوضا عن الأنسجة التالفة وبما أن الخـل يحتـوي على العديد من هذه المواد مثل فيتامين (A) الذي يساعد في عملية إصلاح الأنسجة المتضررة والبوتاسيوم الذي يعمل على تعويض الكميات المفقودة من هذا العنصر كمـا يحتـوي علـى الكالسيوم والمغنيسيوم اللذين يساعدان في عملية التئام الأنسجة ، فضلا عـن احتوائـه علـى عنصر السيلينوم الضروري لاستعادة المرونة التي تتميز بها أنسجة الجلد (30) فقد كان لـه أثر جيد في علاج الحروق في هذه الدراسة. فضلا عن أهميته من الناحية الاقتـصادية فهـو رخيص الثمن ومتوفر بكثرة في الأسواق المحلية .

## المصادر

١. Adhami, H.S. (1999). Quantitation of *Pseudomonas aeruginosa* in Burn wound. Iraqi. J. for Microbiology, 12:61-68.

2. Muir, I. F. K. ; Barelay, T. L. and settle, J. A. D. ( 1997 ). Burns and their Treatment 3rd ed.Wake Field. Leeds.

3. Reig,A.; Tejerina, C; Codina, J. and Mirabet ,V.(1992) Infections In Burn patients. J Annals of the mbc, 5 (2).

4. Mann,C.V.and Russell, R.C.G. 1991. Bailey&Love's"Short Practice of Surgery 21st ed. Chapman & Hall, British

5. Gang, R.K; Bang, R.L; Sanyal, S.C.; MoKaddas ,E. and Rani ,A.R. 1999. *Pseudomonas aeruginosa* septicemia in burns. J. Burns, 25: 611 – 616.

6. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996). Mackie & McCartney Practical Medical Microbiology14thed.Churchill Livingstone Inc.New York .

7. Koneman, E.W.; Allen, S.D; Janda,W.M; Schreckenberger, p.c and winn, W.C.W.(1997).Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology.5thed J.B. Lippincott-Raben publishers, philadelphia.

٨. العباجي ، مؤيد قاسم والغبشة ، سعيد ثابت (1989) التحليـل الوصـفي والحجمـي ، مطبعة التعليم العالي ، جامعة الموصل.

9. Bauer, A.W.; Kirbay, W.A.M.; Sherris, J.S. and Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Amer.J. Clin. Pathol. , 45: 493-496.

10. Prescott, L.M .and Harley, J.P. (1996). Laboratory exercises in Microbiology. 3rd ed. WCB McGraw-Hill, lowa , USA .

11. Luna, L.G. 1968. Manual of Histological Staining Methods. 3rded. McGraw-Hill Book comp., New York

12. Bancroft, J.D.and Stevens, A.1975. Histopathological stains and their Diagnostic uses. Churchill Livingstone, New York.

13. Atlas , R.M. ; Brown ,A. E. and Parks , L.C.( 1995 ) .Laboratory Manual Experimental Microbiology , Mosby – Comp.

14. Garrod, L.P.; Lambert. H.P. and Grady, F.O. (1981) antibiotic and Chemotherapy, 5th ed. Churchil Livingstone, New York.

15. Vandepitte, J.; Engback, K.; Piot, P., and Heuk, C. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. World Health Organization, Geneva.

16. Liptak, J.M.(1997).An over view of the Topical management of wounds Aust vet. J. 75: 408 – 413.

١٧. الزيدي ، حامد مجيد (1988) علـم الاحيـاء المجهريـة.الطبعـة الاولى،جامعـة بغداد،العراق.

١٨. ألاسود ، ماجد بشير وعبد العزيز،عمر فوزي وسولاقا،أمجد بويا (1993). مبـادىء الصناعات الغذائية.دارالكتب للطباعة والنشر،جامعة الموصل،العراق.

١٩. صابر ، محمـد دلاور (1999) نفحـات علميـة مـن القـرآن والـسنة.الطبعـة الاولى،منشورات مكتبة روشنبير ، أربيل ، العراق.

٢٠. طهمـاز ، عبـد الحميـد محمـود (2003).خيـرألادام الخـل.مكنـون الاعجـاز العلمي،الاربعون العلمية ، دار القلم، بيروت ، لبنان.

21. Sobsey, M.D.; Weber, D.J.; Barbee, S.L and Aguiar, C.(2000) Commercial disinfectants effective. J. Infection control and Hospital epidemiology, 32: 29 – 30.

22.Quattlebaum, M. (1998) *Pseudomonas aeruginosa*.J.Medicine Maladies infections, 28: 149-154.

23. Subrahmanyam, M.; Hemmady, A.R. and Pawar, S.G. (2003). The sensitivity to Honey of Multidrug – resistant *Pseudomonas aeruginosa* from infected burns . J. Annals of Burns and fire Disasterse 16 (2).

24. John, G.H., Krieg , N.R. ; Sneath, P.H.A. ; Staley, J.T. & Williams , S.T.(1994). Berge's Manual of Determinative bacteriology, 9th ed, Williams and Wilkins, USA.

25. Sloss.J.M.; Cumberland, N. and Milner, S.M.(1993).Acetic Acid used for the elimination of *Pseudomonas aeruginosa* from Burn and soft tissue wounds . J .Army med corps, 139 (3): 139.

26. Morgan, D. A. (1997). Formulary of wound management products.7th Ed. Aguid for Health care staff. Haslemere, U.K.

27. Zorgani, A.; Zaidi, M.; Franka, R. and Shahen, A. 2002. The pattern and outcome of septicemia in a Burns intensive care unit. Annals of Burns and fire Disasters, 15(4).

28. Andrews, K.; Mowlavi, A. and Milner , S.M. (2003 ) .The Treatment of alkaline burns of the skin by neutralization .J.Plast Reconstr surg., 111 (6) : 1918-1921.

29. Magliacani , G. ; Stella , M. and Castagnoli ,C. (1999).Classification of pathological Burn scars. J. Annals of Burns and Fire Disasters, 12 (1).

30. Kloss, J. (2002).Burns and (scalds). J. Back to Eden, 235, 283-284.