

دراسة بكتريولوجية لجرثومة الزوائف الزنجارية
Pseudomonas aeruginosa المعزولة من بعض الحالات المرضية في
مستشفى الديوانية التعليمي و مستشفى النسائية و الأطفال وإختبار حساسيته
لبعض المضادات الحياتية

جميلة راضي اسماعيل بلسم ميري المحنة سجي مهدي

كلية الطب البيطري

جامعة القادسية

تأريخ التسليم 26/11/2008

تأريخ القبول 1/6/2009

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لتسليط الضوء على بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* لدورها المهم في التسبب بالعديد من الاصابات المرضية و اعتبارها عامل إصابة ثانوي وإنتهازي خصوصاً للمرضى الراقدين في المستشفيات، وفي نفس الوقت إختبار مدى حساسية هذه البكتريا لبعض المضادات الحياتية المستخدمة لعلاجها
تم جمع 90 عينة من حالات مرضية مختلفة من مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى الولادة و الاطفال، بينت النتائج عزل 29 عذلة من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة 32.2% من مجموع العينات المأخوذة.
شخصت البكتريا بأستخدام الفحص المجهرى والصفات الاستنباتية للعزلات المستحصلة على اوساط زرعية انتخابية وتفرقية بالإضافة الى دراسة بعض الصفات الكيموحيوية لهذه البكتريا لدعم عملية التشخيص . احتبرت حساسية جميع العزلات تجاه بعض المضادات الحياتية (% فيما كانت مقاومة لمضاد الامبيسلين بنسبة 2.3 بطريقة الانتشار حول الاقراص ،أذ أظهرت حساسية عالية لمضاد السيبروفلوكساسين)
% واعطت نسب مختلفة لبقية المضادات المستخدمة في البحث.100

**Bacteriological Study of pseudomonas aeruginosa Isolate from
some pathogenic cases at diwaniya teaching hospital and
hospital for obstetrics and pediatrics and its sensitivity to some
antibiotics**

AL- abedey S.j.m

AL- muhna B.M.M

AL- shwelly J.R.E

College of vet.medicine
University of AL-qadisiya

Summary

The aim of this study was to determine the important role of *Pseudomonas aeruginosa* in secondary infection of hospitalized patients, and test the sensitivity of this bacteria to some antibiotics were used in treatment of its infection .

90 samples were collected from different cases in Diwanya teaching hospital ,maternity & children hospital .The results show isolation of 29 isolates Of *Pseudomonas aeruginosa* (32.2%) .

Microscopic examination,cultural characteristic on selective and differential media and biochemical testing were used in the diagnosis of this bacteria.

The sensitivity test of this bacteria to some antibiotics was done by using disc diffusion method .All isolates were resistant to ampicillin (100%),while it gave high sensitivity to ciprofloxacin(2.3%).

المقدمة

تعد الزوائف الزنجارية العائدة للعائلة Pseudomonaceae من الكائنات المجهرية الواسعة الانتشار في الطبيعة أذ تتواجد في التربة و المياه وعلى بعض النباتات وفي الانسان والحيوانات المختلفة،وهي رمية التغذية (Saprophytic) تستطيع التكاثر في البيئات الرطبة دون الحاجة للمواد الغذائية المعقدة فضلاً عن كونها المسبب للإصابات الثانوية (Secondary infection) في المرضى الراقدين في المستشفى، كما انها احد الاسباب المهمة للإصابة بالإسهال في الرضع (14) . وتعد بكتريا انتهازية (Opportunistic) بتوافر الظروف الملائمة لحدوث المرض،فهي ممرضة جدا عند وجودها في المناطق الخالية من دفاعات الجسم المناعية كالتى تحدث في حالات الجروح والحروق او الاشخاص المصابين بداء السكري (20) .

جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* سالبة لصبغة كرام،هوائية اجبارية،متحركة وغير مكونة للمحفظة،تعطي تحللاً كاملاً حول المستعمرات على وسط اكار الدم اثناء نموها عليه (13) .

وتتمتلك الزوائف الزنجارية عوامل الضراوة المسببة للمرض في الانسان فهي تتميز بإنتاج الأنزيمات والسموم المختلفة مثل Staphylolytic endopeptidase, Elastase, las A protease وكذلك Exotoxin A (7) . إضافة الى انزيم Estrease الذي يضعف الاستجابة المناعية للجسم مما يهيئ الظروف الملائمة لإحداث المرض (8) . وتفرز الزوائف الزنجارية العديد من الصبغات التي تسهم في امراضيتها مثل pyocyanin, pyomelanin, pyoverdine, pyorubin (10) . إضافة الى ذلك فقد اشار الكثير من الباحثين لأهمية الأهداب التي تمتلكها الجرثومة في التصاقها بالخلايا الطلائية المبطنة للقناة التنفسية والهضمية (6) .

ونظراً لأهمية الجرثومة في كونها من الممرضات الانتهازية واسهامها في حدوث الإصابات الثانوية خصوصاً في المستشفيات لذا ارتأينا القيام بهذه الدراسة التي هدفت الى :

- عزل وتشخيص جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* من حالات مرضية مختلفة لمرضى راقدين في المستشفيات .
- تحديد حساسية البكتريا المعزولة لبعض المضادات الحيوية المستخدمة كعلاج لها .

المواد وطرائق العمل

* جمع العينات

جمعت ٩٠ عينة من المرضى الراقدين في مستشفى الولادة والأطفال ومستشفى الديوانية التعليمي لحالات مرضية مختلفة وتم التركيز على عينات الادرار والجروح ومسحات الاذن والبراز . تم نقل العينات مباشرة الى مختبر الأحياء المجهرية في كلية الطب البيطري لإختبارها .

* العزل الجرثومي

تم زرع العينات على اوساط الاكار المغذي و اكار الدم و اكار الماكوني ثم حُضنت الأطباق بدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة (15).

* الفحص المجهرى

تم اجراء الفحوص المجهرية اعتماداً على المصادر العلمية المتبعة لتشخيص البكتريا (10) إذ تضمنت عمل مسحات من النماذج المرضية وصبغها مباشرة بصبغة كرام للتعرف على شكل الجرثومة وحجمها وطرق تجمعها وتفاعل الصبغة معها .

* التشخيص الكيموحيوي

أجريت عدد من الفحوصات الكيموحيوية الأولية على العزلات، إذ تم استخدام عدة فحوصات منها فحص الإندول، الأوكسيديز، اليوريز، الكاتليز، تمييع الجيلاتين واستهلاك النترات .

* فحص الحساسية للمضادات الحيوية (Antibiotic sensitivity)

أستُخدمت طريقة الانتشار حول الأقراص (Disc diffusion) لدراسة حساسية البكتريا لعدد من المضادات الحيوية إذ تم استخدام تسعة مضادات حيوية . تم قياس منطقة التثبيط باستعمال مسطرة مدرجة مروراً بمركز القرص وقورنت مع مناطق التثبيط القياسية (Nccls 2000) وعلى اساسه اعتبرت الجراثيم حساسة Susceptible او متوسطة الحساسية Intermediate او مقاومة Resistant .

النتائج

يبين جدول (1) انواع العينات المأخوذة من الحالات المرضية واعدادها وعدد العزلات المستحصلة من كل عينة ونسبتها المئوية .

نوع العينة	العدد	عدد العزلات	النسبة المئوية
Urin	35	14	40 %
Wounds	10	6	60 %
Ear swabs	30	6	20 %
Blood	10	3	30 %
Stool	5	0	
المجموع	90	29	

أظهرت النتائج الحصول على 29 عزلة من جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* أخذت من حالات مرضية مختلفة من خلال جمع عينات تضمنت الادرار و الجروح ومسحات الانن والبراز وبالنسب التالية وعلى التوالي 40%، 60%، 20%، فيما لم يتم الحصول على اي عزلة من نماذج البراز المأخوذة .

بينت نتائج الزرع الجرثومي ظهور مستعمرات مخاطية كبيرة الحجم نسبياً، حالة للدم من نوع β (تحلل كامل) بعد زرعها على وسط اكار الدم بعد فترة حضان ٢٤ ساعة بدرجة ٣٧ م° وظهرت بعض المستعمرات النامية على وسط اكار الماكونكي متوسطة الحجم مع تغير في لون الوسط. اعطت البكتريا لون ازرق مخضر عند زرعها على وسط الاكار المغذي، كما ظهرت تحت المجهر بشكل عصوي وسالبة لصبغة كرام .

ومن ملاحظة نتائج الفحوصات الكيموحيوية لهذه العزلات فقد اعطت تفاعلاً موجباً لفحوصات الكاتليز و الاوكسيديز وتميع الجيلاتين واستهلاك السترات وتحلل اليوريا واختبار الحركة فيما كانت سالبة لفحص الاندول و المثل الاحمر .

اما فيما يخص اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحياتية المنتخبة في هذا البحث (9) مضادات حياتية فقد تبين من النتائج ان جميع العزلات أظهرت مقاومة تامة بنسبة 100 % لمضاد الامبيسيلين و بنسبة 93 % لمضادى التتراسايكلين والنالدسك اسد و 89 % للاموكسسلين و 81.2 % للكلورامفينيكول و 61.4 % للريفامبين و 62.2 % للسيفوتاكسيم و 14.2 % للاميكاسين و 2.3 % للسبروفلوكساسين .

المناقشة

عندمقارنة نتائج العزل الجرثومي للعزلات التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة مع بعض البحوث والدراسات فقد وجد (1) ان جرثومة *Ps.aeruginosa* سجلت اعلى معدل لها في خمج المسالك البولية وبنسبة 29% فيما كانت نسبة ما حصل عليه من الجروح 24% و 11% من خمج الانن الوسطى .

اما (4) فقد وجد ان جرثومة *Ps.aeruginosa* سجلت اعلى معدل لها من خمج المسالك البولية 48.3% و 18.3% من الجروح و 10% من اصابات اخرى .

حصل (18) في دراسة على 139 عزلة لهذه الجرثومة وان نسبة الاصابة في الجهاز البولي قد بلغت 40.3 % فيما وجدت (3) ان بكتريا *Ps.aeruginosa* هي المسبب الاول لالتهاب الاذن الوسطى بنسبة 39 % .

ووجد (2) ان اعلى معدل لهذه البكتريا في العينات التي تم جمعها من المرضى الراقدين في المستشفى والمصابين بخمج الحروق بلغت 14 عزلة وبنسبة 29 % وقد يعود السبب الى ان هذه البكتريا تعد من الممرضات الثانوية الانتهازية حيث انها تنتهز فرصة حدوث اختلال عام او موضعي في احد دفاعات الجسم الميكانيكية او المناعية او كليهما معاً (12) .

ومن خلال استعراض بعض البحوث والدراسات التي تناولت هذه البكتريا ،وجدنا ان بعضها يتفق تقريباً مع نتائج هذه الدراسة والبعض الآخر يختلف معها ،وربما يعود هذا الاختلاف الى تباين في وقت جمع العينات واعدادها او نوع الحالة المرضية ،كذلك قد يعود الى تباين في موقع اجراء البحوث .

وكانت نتائج اختبار الحساسية مقارنة لما حصلت عليه (5)، وتشير نسبة المقاومة المتدنية لمضاد السيبروفلوكساسين (وهو من الجيل الثاني من مركبات الكوينولونات) الى فعالية هذه المضادات ضد العزلات البكتيرية قيد البحث ،وقد يعزى هذا الى الطبيعة الكيمياوية لهذه

المضادات إذ تقوم بتنشيط تصنيع الحامض النووي DNA في الخلايا البكتيرية (11) و(19). وقد قاربت نسبة حساسية العزلات لمضاد السيبروفلوكساسين في هذا البحث تلك التي وجدها (2) و(9) في دراسته عن هذا العقار ضد الاصابات المتسببة عن *Ps.aeruginos* . وجاءت النتائج مقارنة لما تم الحصول عليه من قبل (16) فيما يخص كفاءة مضاد السيبروفلوكساسين في علاج الاصابات المتسببة عن بكتريا *Ps.aeruginos* .

وتعد مقاومة البكتريا لمضادات البيتا لكتام من المشاكل الطبية المعقدة في العديد من البلدان (17) . وقد تعزى هذه المقاومة الى تناول هذه المضادات بجرعات كبيرة ، استخدامها بدون الرجوع الى الطبيب، تكرار الاصابة بنفس المسبب المرضي ، طول فترة الاقامة في المستشفى فضلاً عن عدم اللجوء الى استخدام فحص الحساسية لتحديد المضاد المناسب في علاج الحالات المرضية المختلفة .

المصادر العربية والاجنبية

- 1 -الدليمي،عباس عبود فرحان (1999).دراسة مناعية وكيميائية حيائية على الجين المنقى من *Pseudomonas.aeruginos* المعزولة من المرضى .رسالة دكتوراه.كلية العلوم -الجامعة المستنصرية.
- 2 -الربيعي ، علي جعفر سليم . (2006) . دراسة كيموحيوية لانزيم البروتيز القاعدي المنتج من بكتريا *Pseudomonas.aeruginos* المعزولة من المرضى .رسالة ماجستير .كلية التربية -جامعة ديالى .
- 3 -الرماحي ، سيوف خومان علوان . (2006) . دراسة بكتيرية ومناعية على مرضى خمج الاذن الوسطى في محافظة القادسية .رسالة دكتوراه .كلية التربية - جامعة القادسية .
- 4- السامرائي ،بيداء حسين علوان.(2001). دراسة بعض العوامل المؤثرة على عملية التصاق بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* .رسالة ماجستير .كلية العلوم -الجامعة المستنصرية.
- 5-الشبياني ،انتصار ناظم خلخال . (2004) . دراسة بكتريولوجية للأنواع التابعة لمجموعة *Pseudomonas* المعزولة من المستشفيات في بغداد وتأثير بعض العوامل عليها .رسالة دكتوراه .كلية العلوم -الجامعة المستنصرية .
- 6- Amitani,R.;Wilson,R.(1991).Effects of neutrophil elastase and *Ps.aeruginos* protease on respiratory epithelium,Am- Rev.Resoir.Call Mol.Biol.,4,26-32 .
- 7- Barequet,I.S.;Bensimon,G.I.;Safrin,M.;Ohman,D.E.and Kessler,E.(2004).*Pseudomonas aeruginosa* las A protease in treatment of experimental Staphylococcal keratitis.Antimicrob .Agents Chemother.;48(5):1681-1687.
- 8 Brooks,G.F.;Butel,J.S.and Mose,S.A.(1998).Pathogenesis of bacterial Infection :In Jawetz,Merick and Adelbergs medical microbiology, 21th.ed.Appelton and Lange, Stamford,Connecticut.pp:134-144.
- 9- Dronova,O.M.(1990).Ciprofloxacin in the treatment of infections in oncology patients.Antibiot-Khimioter 35(11):51-54.
- 10- Holt,J.G.;Krieg,N.R.;Sneath,P.H.;Staley,J.T.and Williams,S.T.(1994).Bergeys manual of determinative bacteriology .9th.ed.Williams & Wilking,U.S.A.
- 11- Hopper,D.C.(1999).Mode of action of Fuorgluinolones.Drugs.58 Supp 12:6-20.
- 12-Jawetz,E.;Melnick,J.L.;Adelberg,E.A.;Brooks,G.E.;Butel,J.S. and Ornston, L.M.(1987).Review of medical microbiology.7thed.Middle East Edition.Appleton and Large Norwak,Connection.
- 13-Kiska,D.L.and Gilligan,P.H.(2003):Pseudomonase In:Manual of clinical microbiology .8thed.Murray,P.R.(ed.).ASM press.
- 14- Lennette,E.H.;Balows,A.;Hausler,W.J.and Shadamy,H.J.(1985).Manual of clinical microbiology.4th.ed. American Society for microbiology. Washington .D.C.U.S.A.
- 15- Macfaddin,J.F.(2000).Biochemical test for identification of medical bacteria .3rded.The Williams & Wilkins Co.,London.
- 16- Margariti,P.A.;Astorri,A.L.and Mastromarino,c.(1997).Urinary tract infections:Risk factor and therapeutic trends Recenti.Prog.Med.88(2):65-98.
- 17- Neu,H.(1985).Contribution of β lactamase to bacterial resistance and mechanisms of inhibit β lactamases .Am.J.Med 79(Suppl 58):2-14.
- 18- Puri,J.;Revathi,G.;Kundra,Pand Talawar,V.(1996).Activation of third generation cephalosprins against *Ps.aeruginosa* in high risk hospitals units.Indian J.of Med.Sci.50(7):239-243.
- 20- Reese,R.E.;Betts,R.F.and Gumustop,B.(2000).Handbook of antibiotics. 3rded.Lippincott Williams and Wilkins.
- 22- Ryan,J.J.(2000).Diseases of skin In:Concise Oxford textbook of medicine.Ledingham,J.G.and Warrell,D.A.ed.4thed.Oxford University Press,U.S.A.