جمهورية العراق

وزارة التعليم والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية العلوم

دراسة وراثية وجزيئية لبكتريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة وعلاقتها بالعاثي في محافظة ديالى

رسالة مقدمة إلى مجلس كلية العلوم- جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

رغدة اياد طه

بكالوريوس علوم حياة – كلية العلوم

جامعة ديالى 2014

بإشراف

أ.د هادي رحمن رشيد الطائي

م.د. زهراء جعفر جميل

1439 هـ

*2018*م

1.1 المقدمة Introduction

تمتاز أنواع *Acinetobacter* بكونها عصيات مكورة سالبة لصبغة غرام، هوائية غير متحركة غير مخمرة لسكر اللاكتوز، بزرت أهميتها في الآونة الأخيرة كممرض أنتهازي مسؤول عن العديد من الإصابات المكتسبة من المستشفيات (Nosocomial infection) ، فضلاً عن قدرتها على اكتساب المقاومة لمضادات الحياة ، وقدرتها على تكوين الغشاء الحيوي الذي يزيد من فرص بقائها في بيئة المستشفيات لمدة طويلة مما يساعد على أنتشارها (Poirel *et al*., 2011).

يُعد جنس *Acinetobacter* ولاسيما النوع *baumannii* مسؤولاً عن العديد من الإصابات الخطرة وخاصة لدى المرضى المصابين بالكبت المناعي ، كما أنه احد مسببات ذات الرئة ،وتجرثم الدم و إصابات مجرى الجهاز التنفسي، والتهاب المجرى البولي ، فضلاً عن كونه من أهم المسببات للإصابات المكتسبة من المستشفيات وخاصة في ردهات الحروق والجروح (Safari *et al*., 2013).

أنّ الخصائص الإمراضية للبكتريا ترتبط مع قدرتها على مقاومة مضادات الحياة وتحملها للظروف البيئية وقدرتها على البقاء لفترات طويلة في المستشفيات ، ومن آليات المقاومة التي تمتلكها هي تغير بروتينات الغشاء الخارجي (OMP) Outer Membrane Protein والتي تعد من اخطر أنواع المقاومة لكونها عامة عن طريق تقليل أعداد وأقطار القنوات الموجودة في الغشاء ، فضلاً عن امتلاكها لأنظمة الدفق Efflux pump التي تعمل على طرح المضاد خارج الخلية ، فضلاً عن امتلاكها لأنزيمات البيتالاكتاميز التي تعمل على تحليل مضادات البنسلينات والسيفالوسبورينات والكاربابنيم (Guilfoile *et al*., 2007).

مقاومتها لمضادات الحياتية مرتبطة أيضا مع قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي الذي هو عبارة عن تجمع من خلايا ميكروبية مرتبطة على السطوح الحية أو غير حية بواسطة مادة عديد السكريد Polysaccharides والبروتينات، يُعد الغشاء الحيوي صفة مهمة لإحداث الإصابة ويتم السيطرة على تكوين الغشاء الحيوي من خلال نواتج بعض الجينات منها جين *ompA* وهو جين محافظ موجود في جميع عزلات جنس *Acinetobacter* يشفر لبروتين الغشاء الخارجي (OmpA) Outer Membrane Protein A الذي يساعد على التصاق الخلايا على السطوح الحية وبالتالي تعزيز عملية تكوين الغشاء الحيوي وفضلاً عن دورهِ الفعال في الالتصاق على الخلايا الطلائية والتي تعد الخطوة الأساسية في

استعمار بكتريا *A. baumannii* خلايا المضيف وأصابتها (Lee *et al*.,2008). وجين *bap* الموجود على كروموسوم أغلب عزلات *A. baumannii* إذ يشفر لبروتين المرتبط بالغشاء الحيوي Biofilm–associated protein(Bap) الذي هو عبارة عن بروتين منتشر على سطح الخلية ، ويُكمن دورهُ في تطور الغشاء الحيوي إذ وجد Brossard وزملاوه عام 2011 أنّ الBap ضروري لنضج الغشاء الحيوي على السطوح غير الحية كـ(Polysterene و Titanium) المستخدمة عادة في الأجهزة الطبية فضلاً عن السطوح الحية (كخلايا الطلائية للقصبات) كما أنّ له دوراً في تكوين التركيب الثلاثي الأبعاد للغشاء الحيوي وتكوين القنوات المائية. (Brossard and Campagnaria, 2011).

نظراً لازدياد المقاومة المتعددة لمضادات الحياة إذ تُعد واحدة من اخطر الممرضات المعروفة وذلك لصعوبة علاج الإصابات التي تسببها إذ أصدرت منظمة الصحة العالمية بياناً تطالب فيه بإيجاد علاجاً للإصابات التي تسببها*A.baumannii*. (http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en) . وأنّ واحدة من طرق العلاج الواعدة هي استخدام العاثيات المحللة Lytic phage ، ويُعرف العاثي على أنّه فيروس يصيب ويتضاعف داخل الخلية البكتيرية وأنّ أعدادها تفوق أعداد البكتريا ولها دوراً في السيطرة على أعداد وتوزيع البكتريا في الطبيعة ، وفعاليته ضد بكتريا قد تم تسخيرها منذ القدم للسيطرة على الإصابات البكتيرية (Mathur *et al*., 2003).

2.1 أهداف البحث

ونظرا لقلة الدراسات حول جنس *Acinetobacter baumannii* في محافظة ديالى جاءت هذه الدراسة لتسليط الضوء على:

1- عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii* من حالات سريرية مختلفة في مستشفى بعقوبة العام.والتحري عن المقاومة لبعض المضادات وتحديد التركيز المثبط الأدنى(MIC) لبعض هذه المضادات.

2- الكشف المظهري والجيني لتكوين الغشاء الحيوي لبكتريا*A.baumannii* .

3- عزل عاثي phage *A.baumannii* واختبار حساسيته على العزلات *A.baumannii* قيد الدراسة.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في مستشفى بعقوبة العام ابتداء من شهر أيلول لعام 2016 ولغاية شهر كانون الثاني عام 2017 للتحري عن بكتريا *Acinetobacter baumannii* والتي تُعد واحدة من أهم الممرضات المسببة للإصابات المكتسبة من المستشفيات وخاصة لدى المرضى الضعيفي المناعة إذ تعد الإصابات المكتسبة من المشفى واحدة من أهم المشاكل الطبية على مستوى العالم إذ تكون المسبب الرئيس لازدياد نسبة الإصابات والوفيات بين المرضى الراقدين في المستشفيات.

تضمنت الدراسة جمع 150 عينة من إصابات الجروح والحروق والمجاري البولية، إذ شكلت نسبة المرضى الذكور 52% (78) والمرضى الإناث 48% (72) تراوحت أعمارهم ما بين (5–70) ، 86% من مرضى راقدون في المشفى و14% غير راقدين. وزرعت العينات المرضية على وسط أكار المكاونكي ووسط الدم الصلب وبعد نموها شخصت باستخدام الفحص المجهري، وأجريت الفحوصات المجهرية والكيموحيوية لتشخيص العزلات السريرية، وباستخدام API-20E وتأكيد التشخيص بأستخدام جهاز VITEK 2 فضلا عن استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (الطرائق الجزيئية) لكشف عن وجود جين 16srRNA.

تمَّ عزل 14 عزلة من بكتريا *Acinetobacter baumannii* من كلا الجنسين ومن مختلف الأعمار، إذ بلغت نسبة العزلات من الذكور 64.3% ومن الإناث 36.7%، كشف التشخيص الجزيئي للعزلات قيد الدراسة أنها حاملة لجين 16srRNA وبنسبة 100% ، وبلغت نسبة العزلات من الجروح و الحروق و المجاري البولية 10.6%، 9.25%، 6.6% على التوالي .

أجري اختبار فحص الحساسية لـ14 مضاد حياة باستخدام طريقة Kirby-Bauer و حُدد تركيز المثبط الأدنى لمضادي Cefotaxime وAmikacin بطريقة التراكيز المتسلسلة المتضاعفة ، أظهرت العزلات نسبة مقاومة 100% لمضادات Cefotaxime، Cefotriaxone، Oxacilin، Chlorophancol، و Pipracillin و91.7% لمضاد Ciproflaxacin و78.6% لمضاد Tetracycline 85.7% لمضادي cefepime وGentamycin , 71.4% لمضاد Amikacin و Trimethoprime/Sulfamethoxazole و Pipracillin/tozobactam وبلغت نسبة مقاومة