وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة ديالى

كلية التربية للعلوم الصرفة

قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة سريريا

بحث مقدم الى

مجلس كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهو جزء من متطلبات نيل درجة الدبلوم العالي في علوم الحياة

من الطالبة

سحر حسين رشيد

بكالوريوس علوم حياة/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ ابن الهيثم/ جامعة بغداد

1993-1992

بأشراف

أ.د. صبا جاسم جواد

1443 هـ 2022م

1.1 المقدمة Introduction

تمتاز أنواع *Acinetobacter* بكونها عصيات مكورة Coccobacilli سالبة لصبغة غرام Gram– negative pacteria، هوائية غير متحركة Non–motile pacterie غير مخمرة لسكر اللاكتوز ، برزت أهميتها في الأونة الأخيرة كممرض انتهازي opportunistic pathogens مسؤول عن العديد من الاصابات المكتسبة من المستشفيات (Nodocomial infection) ، فضلاً عن قدرتها على إكتساب المقاومة لمضادات الحياة ، وقدرتها على تكوين الغشاء الحيوي الذي يزيد من فرص بقائها في بيئة المستشفيات لمدة طويله مما يساعد على إنتشارها (Poirel واخرون، 2011) .

يعد جنس *Acinetobacter* ولاسيما نوع *baumannii* مسؤولا عن العديد من الاصابات الخطرة وخاصة لدى المرضى المصابين بالضعف المناعي unocompromised patients ، كما انه أحد مسببات ذات الرئة pneumonia وتجرثم الدم Pacteremia و آصابات مجرى الجهاز التنفسي Respiratory tract ، وألتهاب المجرى البولي Urinary trast nfection ، فضلا عن كونه من أهم المسببات للاصابات المكتسبة من المشتشفيات وخاصة في ردهات الحروق Burns والجروح Wounds (Safari واخرون،2013).

ان الخصائص الامراضية للبكتريا ترتبط مع قدرتها على مقاومة مضادات الحياة وتحملها للضروف البيئية وقدرتها على البقاء لفترات طويلة في المستشفيات ، ومن اليات المقاومة التي تمتلكها هي تغيير بروتينات الغشاء الخارجي (OMP) Outer Membrane Protine والتي تعد من اخطر انواع المقاومة لكونها عامة عن طريق تقليل اعداد واقطار القنوات الموجودة في الغشاء فضلا عن امتلاكها لانظمة الدفق Efflux pump التي تعمل على طرح المضاد خارج الخلية ، فضلا عن امتلاكها انزيمات البيتالاكتاميز التي تعمل على تحليل مضادات البنسلينات و السيفالوسبورينات و الكاربابنيم (Guilfoile واخرون ،2007)

ترتبط مقاومتها للمضادات الحياتية ايضا مع قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي الذي هو عبارة عن تجمع من خلايا مايكروبية مرتبطة على السطوح الحية او غير الحية بواسطة مادة عديدة السكريد Polysaccharisdes والبروتينات ، يعد الغشاء الحيوي صفة مهمة لاحداث الاصابة ويتم السيطرة على تكوين الغشاء الحيوي عن طريق نواتج بعض الجينات منها جين *ompA* وهو جين محافظ موجود في جميع عزلات جنس *Acinetobacter* يشفر لبروتين الغشاء الخارجي (OmpA) Outer Membrane Protine A الذي يساعد على التصاق الخلايا على السطوح الحية ومن ثم تعزيز عملية تكوين الغشاء الحيوي وفضلا عن دوره الفعال في الالتصاق على الخلايا الطلائية والتي تعد الخطوة الاساسية في استعمار بكتريا *A. baumannii* خلال المضيف واصاباتها (Lee واخرون، 2008) .

ان زيادة المقاومة المتعددة لمضادات الحياة تعد واحدة من اخطر الممرضات المعروفة وذلك لصعوبة علاج الاصابات التي تسببها اذ اصدرت منظمة الصحة العالمية (WHO) بيانا تطالب في ايجاد علاجا للاصابات التي تسببها *A. baumannii* وان واحدة من طرق العلاج الواعدة هي استخدام العاثيات المحللة Pacterial phages ويعرف العاثي على انه فايروس يصيب ويتضاعف داخل الخلية البكتيريا وان اعدادها تفوق اعداد البكتريا ولها دورا في السيطرة على اعداد وتوزيع البكتريا في الطبيعة ، وفعاليته ضد بكتريا قد تم تسخيرها منذ القدم للسيطرة على الاصابات البكتيرية (Mathur واخرون، 2003) .

نظرا لاهمية هذا البكتريا وقدرتها العالية على الاصابة ومقاومتها العالية للمضادات الحيوية جاءت هذه الدراسة لتهدف الى عزل وتشخيص البكتريا الراكدة البومانية من مصادر سريرية مختلفة وتحديد حساسيتها لبعض المضادات الحيوية الشائعة الاستخدام وتحديد ايجابيتها لبعض عوامل الضراوة وكان ذلك عن طريق الخطوات التالية:

1. عزل البكتيريا الراكدة البومانية *A. baumannii* في عينات سريرية مختلفة (جروح ، حروق ، ادرار ، قشع ، دم) في مستشفى بعقوبة التعليمي.
2. تشخيص البكتريا بالاعتماد على التشخيص الزرعي ، التشخيص المجهري ، التشخيص الكيموحيوي (catalase كتاليز ، oxidase اوكسيديز) .
3. اجراء تشخيص البكتريا باستخدام عدة API20E وتاكيد التشخيص باستخدتم جهاز الفايتك VITEK2 computer system .
4. اجراء اختبارات الحساسية لبعض المضادات الحيوية ومعرفة مدى مقاومة بكتريا *A. baumannii* لهذه المضادات .
5. الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة (protease بروتيز ، المحفظة . الهيمولاسين ،الانزيمات البيتا لاكتام المعدنية).

الخلاصة

الراكدة البومانية *Acinetobacter baumannii* هي بكتريا ممرضــة انتهازية تسـبب العديد من الإصـابات المكتسبة من المستشفيات او من المجتمع وتسبب مشاكل صـحية عديده تم جمع عينات في مستشفى بعقوبة التعليمي ابتداءً من 2021/6/1 لغاية 2021/8/1 للتحري عن بكتيريا*A. baumannii* والتي تعد واحدة من أهم الممرضات المسببة للإصابات المكتسبة من المستشفيات وخاصة لدى المرضى الضـعيفِ المناعة, اذ تعد الاصـابات المكتسبة من المشفى واحدة من أهم المشاكل الطبية على مستوى العالم، اذ تعد المسبب الرئيسي لازدياد نسبة الاصابات والوفيات بين المرضى الراقدين في المستشفيات.

تضمنت الدراسة جمع 90 عينة من أصابات الجروح والحروق والتهاب المجاري التنفسية والتهاب المجاري البولية وتجرثم الدم وزرعت العينات المرضــية على وسـط اكار الماكونكي ووسـط الدم الصــلب وبعد نموها شخصت باستخدام الفحص المجهري ، اذ كانت سالبة لصبغة كرام أما على الوسط الماكونكي ظهرت المستعمرات صغيرة الى عديمة اللون شاحبة دائرية منتظمة غير مخمرة لسكر اللاكتوز، كما ثبت انها غير محللة للدم على وســط أكار الدم وظهرت بالون الابيض او الرصــاصــي الفاتح وكانت محدبة الشكل, وأجريت الفحوصـات الكيموحيوية لتشـخيص العزلات السريرية أذ اظهرت جميع النتائج أنها كانت إيجابية للعزلات لفحص الكاتليز وأنها ســالبة لفحص الُأوكســديز وكانت نســبة 33.33 % من العزلات ايجابية لفحص Protase وأن نسبة 66.66% كانت سالبة لهذا الفحص, وباستخدام API-20E وتأكد الفحص باسـتخدام جهاز (VTTEK2) وتم عزل 15 عزلة من بكتيريا *Acinetobacter baumannii* وبواقع 7 عزلات من الحروق 3 عزلات من تجرثم الدم و2 من ألتهاب المجاري البولية (الادرار) و2 من ألتهاب المجاري التنفسية (القشع) و1 من الجروح.

أجري اختبار فحص الحساسية لـــ10 مضادات حيوية باستخدام طريقة Kirby– Bauer , أظهرت العزلات نسبة مقاومة 100% لمضادات البيتالاكتام (Ceftozidim, Ceftrioxone,) وكانت المقاومة بنسبة 86% للمضاد Trimethprim و59.30 % للمضاد Ceftazidim و 46.66 % للمضاد Ciprofloxacin و 33.33% للمضاد Lerofloxacin و 13.33 % لكلاً من Amikacin و Impenem على التوالي وكانت حساسة بنسبة 100% للمضاد Polymixin إذ ان هذه المقاومة التي تمتلكها هذه البكتيريا من المشاكل الصحية الخطيرة في جميع انحاء العالم.

أجري الكشف عن بعض عوامل الضراوة منها قدرتها على إنتاج انزيم الهيمولاسين وإنتاج انزيمات البيتالاكتام ووجود المحفظة اظهرت النتائج ان هذه البكتيريا كانت سالبة لإنتاج انزيم الهيمولايسين وانتاج البيتالاكتام المعدنية ووجود المحفظة, وكانت نسبة 33.33% من العزلات (5) كانت قادرة على انتاج انزيم protase وهو يعتبر عامل ضراوة للبكتريا الراكدة البومانية , اما نسبة 66.66% من العزلات (10) كانت سالبة لهذا الفحص ان الاصابة بالبكتيريا البومانية *A. baumannii* تعتمد على عوامل عدة وأهمها هو ضعف المناعة وطول فترة الرقود في المستشفيات.