1 -المقدمة Introduction

تعد بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من الأجناس البكتيرية المهمة لكونها واسعة الإنتشار في الطبيعة و إمراضيتها العالية للإنسان والحيوان والنبات ، لهذه البكتريا القدرة على العيش في بيئات متنوعة فهي حرة المعيشة ، تعيش في التربة والمستنقعات ومياه الأنهار وتتواجد بصورة شائعة في البيئات الرطبة للمستشفيات (Brooks *et al*., 2007) كما تسبب ما يعرف بالإصابات المكتسبة بالمستشفيات (Vianelli *et al*., 2006).

تسبب بكتريا الزوائف الزنجارية أمراضاً عديدة في جسم الإنسان منها اخماج الجروح والحروق ، واخماج العين ، واخماج الجلد ، و المجاري البولية ، و الأذن الوسطى ، وتجرثم الدم Bacteremia ، وتسبب أمراضاً عديدة عند الأشخاص الذين يعانون من أمراض نقص المناعة والأشخاص المصابين بالأيدز (Gaynes *et al*., 2005 ; Feltzer *et al*., 2003) .

إزداد الإهتمام بدراسة عوامل الضراوة لهذه البكتريا ذات العلاقة المباشرة أوغير المباشرة بالإمراضية ، إذ تمتلك بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة التي تمكنها من تحطيم الأنسجة وإجتياح مجرى الدم ومن أهم هذه العوامل أنزيم الهيمولايسين المحلل للدم ، و اللسيثينيز ، و البروتييز ، و اليورييز ، وتلزين كريات الدم الحمر ، والقدرة على الإلتصاق بالخلايا الطلائية الظهارية (Todar , 2008 ; Choi *et al*., 2002).

تظهر صعوبة علاج هذه البكتريا بسبب مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية ، إذ إنها مقاومة لمضادات البيتالاكتام فضلاً عن مقاومتها العالية لمضادات Fluoroquinolones و Aminoglycosides مما يجعلها من أخطر الممرضات وأكثرها إصابةً للانسان (Landman *et al*., 2002) ، ويعود سبب ذلك الى إمتلاك هذه البكتريا آليات مختلفة لمقاومة المضادات الحيوية مثل تغيير حاجز النفاذية أوتغيير في موقع الهدف أو إنتاجها للأنزيمات المحللة للمضادات الحيوية مثل أنزيمات البيتالاكتاميز(β-Lactamases) (Laura *et al*., 2002).

جمهورية العراق
وزارة العليم العالي والبحث العلمي
جامعة ديالى
كلية التربية للعلوم الصرفة

دراسة بكتريولوجية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة في مدينة بعقوبة وضواحيها .

رسالة مقدمة الى

كلية التربية للعلوم الصرفة – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة – الأحياء المجهرية

من قبل

لينا عبدالأمير سلمان السعدي

بكالوريوس علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة ديالى 2004 – 2005

بإشراف

أ.د. عدنان نعمة عبد الرضا العزاوي

أ.م.د. هادي رحمن رشيد الطائي

محرَم/1433هـ

كانون الأول/2011 م

أشارت العديد من الدراسات حول صفات أنزيمات البيتالاكتاميز وأنواعها وإنتاجيتها الى إن هذه الأنزيمات هي السبب الرئيس في إفشال الكثير من العلاجات المستخدمة في علاج الاخماج سيما بين المرضى الراقدين في المستشفيات (Chanal *et al*., 2000) ، إن إنتاج هذه الأنزيمات يعود الى طبيعة العوامل الوراثية المشفرة لها والتي تكون كروموسومية فضلاً عن تواجدها على بلازميدات أقترانية مما يسهل إنتقالها بعمليتي الأقتران والتحول وربما محمولة على ترانسبوزونات أو إنتجرونات (Nass *et al*., 2003) ، ومما يزيد في خطورة هذه الأنزيمات حصول الطفرات في الجينات المسؤولة عن تشفيرها لتحولها الى أنزيمات واسعة الطيف مقاومة لمضادات البيتالاكتام الحديثة ومنها الأجيال المتطورة للسيفالوسبورينات (Baho , 2006) .

كما إن حدوث الطفرات الوراثية في الجينات يؤدي الى حصول تطور سريع في مقاومة بكتريا الزوائف الزنجارية للمضادات الحيوية وذلك خلال مدة قصيرة من إستعمال هذه المضادات في العلاج ، ويعد هذا النوع من المقاومة خطيراً جداً وذلك بسبب تطور المقاومة إثناء العلاج وهو ما قد يسبب فشلاً في علاج إصابات هذه البكتريا ، الأمر الذي يتطلب البحث عن علاجات جديدة أو إستعمال أكثر من علاج في آن واحد للحد من مقاومة هذه البكتريا (Nass *et al*., 2003 ; Lynch , 2001) . ولندرة الدراسات التي تتناول وبائية هذه البكتريا في مدينة بعقوبة جاءت هذه الدراسة لتحقق الأهداف الآتية :

1 - عزل وتشخيص بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* من مرضى مصابين باخماج مختلفة من مستشفيات مدينة بعقوبة ، ثم التحري عن بعض عوامل ضراوتها .
2 - دراسة نمط المقاومة للمضادات الحيوية وتحديد نسق المقاومة السائد بين العزلات المحلية .
3 - التحري عن أنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز، وأنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف .
4 - دراسة التركيز المثبط الأدنى MIC بدون مثبطات البيتالاكتاميز .
5 - إستخدام مثبطات البيتالاكتاميز لإسترجاع فعالية المضادات الحيوية .
6 - دراسة المحتوى البلازميدي للعزلات الاكثر مقاومة وإجراء عملية طرد لبلازميدات العزلات المختارة (Curing process) .

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص 75 عزلة من بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* من أصل 304 عينة من المرضى المصابين باخماج مختلفة في مستشفى بعقوبة التعليمي ومستشفى البتول للولادة والأطفال في مدينة بعقوبة إذ كانت نسبة عزل هذه البكتريا من اخماج المجاري البولية (41.3%) ومن اخماج الأذن الوسطى (25.3%) ومن حالات الجروح (18.6%) ومن الحروق (14.6%) . وتم التأكد من التشخيص بإستخدام نظام API 20NE فضلاً عن إجراء الإختبارات الزرعية والمجهرية والكيموحياتية .

أظهرت نتائج التحري عن عوامل الضراوة لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ان جميع العزلات منتجة لأنزيم الليسيثينيز بنسبة (100%) ، بينما كانت 67 عزلة (89.3%) منتجة للهيمولايسين ، و66 عزلة (88%) منتجة لأنزيم البروتييز ، و65 عزلة (86.6%) قادرة على الإلتصاق بالخلايا الطلائية الظهارية ، و61 عزلة (81.3%) ملزنة لكريات الدم الحمر ، و37 عزلة (49.3%) منتجة لأنزيم اليوريز .

أختبرت حساسية العزلات تجاه 16 مضادا حيويا أظهرت النتائج إن Ofloxacin و Ciprofloxacin هما المضادان الأكثر فعالية ضد العزلات المحلية وبنسبة مقاومة 3% و21% على التوالي بينما مضادات Ampicillin و Amoxicillin و Cephalexin و Co-Trimoxazol هي المضادات التي لم تظهر اية فعالية ضد العزلات إذ كانت نسبة المقاومة 100% .

أظهرت نتائج إختبارات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية إن جميع العزلات المحلية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تتصف بمقاومتها المتعددة للمضادات الحيوية ، وقسمت العزلات الى مجموعتين إعتماداً على مقاومتها للمضادات الحيوية ضمت المجموعة الاولى (23) عزلة مقاومة لـ (6–10) مضاد بينما المجموعة الثانية فقد ضمت (52) عزلة مقاومة لـ (11–15) مضاداً ، وأشارت النتائج إلى أن المجموعة الثانية هي السائدة .