P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2015 ,(9), (1) :76-81

(*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

Open Access

عزل وتشخيص بكتريا *Acinetobacter baumannii* من الحالات المرضية واختبار حساسيتها للمضادات الحيوية.

نجيب محمد حسين* ابراهيم عبد الكريم عبد الرحمن** عبد الوهاب بديوي حسين**

* جامعة الانبار – كلية العلوم

** جامعة الفلوجة – كلية الطب البيطري

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦
تاريخ النشر: / / ٢٠٢٢
DOI:10.37652/juaps.2015.124385

الكلمات المفتاحية:

عزل ،
تشخيص ،
Acinetobacter baumannii ،
الحالات المرضية ،
مضادات الحيوية.

الخلاصة:

تم في هذه الدراسة اختيار مائتي عينة سريرية لعزل بكتريا *Acinetobacter baumanni* من المرضى الذين يعانون من التهابات المختلفة، والتي شملت عينات من البلغم ، البول، الجروح والحروق. وقد استخدم نظام VITEK 2 COMPACT لتشخيص نسبة البكتيريا في العينات السريرية وكانت أعلى معدل إصابة هي الجروح؛ التهابات المسالك البولية والتهاب الحروق وكانت النسبة 20٪، 10٪ و6.6٪ على التوالي. وعلاوة على ذلك، تم اجراء اختبار حساسية المضادات الحيوية تجاه البكتيريا واستخدمت طريقة الانتشار بالاطباق، كانت معظم العزلات حساسة تجاه Amoxicillin ، Cefixime، Trimethoprim، Rifampicin، cefalexine، Amikacin، Ciprofloxacin، Ceftriaxone، Cefotaxime، Gentamicin، أظهرت النتائج مقاومة بعض عزلات بكتريا *A.baumannii* للمضادات Amoxicillin، Cefixime، Trimethoprim، Rifampicin، cefalexine، Amikacin، Ciprofloxacin، Ceftriaxone، Cefotaxime، Gentamicin حيث شملت IAN1، IAN4، IAN5، IAN6، IAN 10 وبنسبة 100 %.

المقدمة

تعد بكتيريا *Acinetobacter* من البكتيريا السالبة لملون غرام، هوائية المعيشة اجبارا"، غير مكونة للأبواغ وتتمتع بنوع من الحركة الارتعاشية نتيجة لوجود خملات قطبية .تظهر البكتيريا بشكل مكورات ثنائية أو بشكل عضوي وتمتلك معظم أنواعها المحافظة(Capsule) (1).

تعد بكتريا *Acinetobacter* من الأنواع الواسعة الانتشار في الطبيعة كعصيات حرة المعيشة ، أو رمية ، اذ انها تعزل بسهولة من التربة والمياه وفضلات المجاري ، كما تعد من الأنواع المستعمرة لجلد الأصحاء(2).

يعود سبب ازدياد الاهتمام الطبي بالنوع *A.baumannii* الى قابلية هذا النوع على التسبب بالعديد من إصابات المستشفيات Nosocomial infection، إذ يمثل النوع الأكثر شيوعا ،وعزلا من العينات الطبية في المستشفيات والمسؤول عن تكرارات الانتشار Outbreaksبالمستشفيات المتسببة عن جنس .*Acinetobacter* (3)

إن عوامل الخطورة للإصابة أو للاستعمار من قبل هذه البكتريا ولاسيما المقاومة منها للعديد من مضادات الحياة ، كثيرة منها : المكوث الطويل في المستشفى والجراحة والحروق والاستخدام المفرط لمضادات الحياة والرقود في وحدات العناية المركزة واستخدام القسطرة البلاستيكية وشدة المرض ومرضى الأورام الخبيثة والذين يتعاطون الأدوية الكابحة للمناعة والعمر (4).

* Corresponding author at: University of Anbar - College of Science .E-mail address:

طرائق العمل

جمع العينات:

جمعت 200 عينة من مرضى راقدين في مستشفى الرمادي التعليمي ومستشفى النسائية والأطفال في الرمادي، إذ شملت العينات التي جمعت تحت ظروف معقمة (قشع، إدرار، جروح، حروق) ومن كلا الجنسين وبأعمار مختلفة تراوحت من (2-45 سنة).

العزل والتنقية :

استخدمت مسحات قطنية معقمة swabs Sterile لأخذ العينات ونقلت مباشرة إلى المختبر، وزرعت على وسط أكار الدم ووسط أكار الماكونكي وحضنت الأطباق في حاضنة هوائية لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37 م° (لتنمية البكتريا الهوائية فقط)، ثم اختيرت المستعمرات المفردة من الأوساط الزرعية الأولى وأعيد زرعها مرة أخرى على أطباق جديدة من الوسط نفسه إلى أن حصلنا على عزلات نقية من البكتريا بعدها نقلت هذه المستعمرات إلى وسط الأكار المغذي المائل ثم حضنت بدرجة 37م° ولمدة 24 ساعة ثم حفظت بدرجة 4 م° لحين إجراء الاختبارات مع مراعاة تجديدها شهريا بالطريقة نفسها(3).

التشخيص:

أجري التشخيص اعتمادا على عدد من الخطوات شملت مايلي:

١: **الصفات الزرعية والفحص المجهري**

٢: **الاختبارات الكيموحيوية**

٣: **الفحوصات التأكيدية باستخدام نظام API – 20E:** جرى استعمال نظام التشخيص API-20E المنتج من شركة Biomeriux الفرنسية إذ اعتمد في تشخيص *A.baumanii* السالبة لملون كرام من عائلة البكتريا المعوية وحسب تعليمات الشركة المنتجة.

٤: **التشخيص حسب نظام VITEK 2 COMPACT**

النتائج والمناقشة

تم التحري عن بكتريا *Acinetobacter baumannii* في 200 عينة شملت هذه العينات (عينات ادرار، ومسحات جروح وحروق وعينات قشع) بعدها نميت هذه العينات على الاوساط الزرعية المستخدمة في التشخيص Maconkey agar Blood agar، اذ عزلت 20 عزلة موجبة تعود لبكتريا *Acinetobacter baumannii* وبنسبة 10%، وقد يعزى سبب انخفاض النسبة الى تناول المرضى للأدوية دون استشارة الطبيب كما مبين في جدول(1).

جدول (1) يوضح توزيع العينات (200) وعزلات بكتريا *Acinetobacter baumannii* الموجبة(20)حسب نوع الخمج

نوع الخمج	العينات		
	عدد العينات الكلي	العزلات الموجبة	النسبة المئوية %
خمج الحروق	100	10	10
خمج الجروح	30	6	20
خمج المسالك البولية	60	4	6.6
خمج المسالك التنفسية	10	–	–
المجموع الكلي	200	20	10

وقد اشار (5) وجود بكتريا *Acinetobacter* في ايدي الكادر الطبي وفي بيئة مستشفيات بريطانيا وانها تقاوم الجفاف لعدة اسابيع.وقد اشار (6) الى وجود بكتريا *Acinetobacter* في بعض المواد المطهرة والمخففة التي تستخدم في تطهير صالات العمليات في بعض مستشفيات المانيا وقد يعزى السبب الى الغلاف الخارجي لهذه البكتريا وعدم نفاذية لهذا المواد المطهرة او امتلاكها الية تعمل على تقليل سمية هذه المواد.جاءت النتائج متفقة لما اورده (6) حيث بلغت نسبة عزلات بكتريا *Acinetobacter* من عينات الجروح حوالي 19 % للمرضى الراقدين في مستشفيات المانيا.اتفقت النتائج الى حد ما لما اورده (6) في دراستها في العراق، اذ بلغت نسبة عزلات بكتريا *Acinetobacter baumanni* من مسحات الجروح 15.6 %.اما معدل عزل بكتريا *Acinetobacter baumanni* من خمج المسالك البولية فلقد بلغ 6.6 % ولاسيما لدى المرضى الذين يستخدمون القسطرة، وقد يعزى السبب الى عوامل الالتصاق التي تمتلكها هذه البكتريا والتي تسهل التصاقها بالقسطرة مما يودي الى حدوث الاصابة.

اتفقت هذه النتائج الى حد ما مع ما اورده (6) في دراستها في العراق اذ بلغت نسبة عزل بكتريا *Acinetobacter baumanni* من عينات الادرار حوالي 7.1 ولم تتفق مع ما توصل الية الباحث ابراهيم (2004) في العراق اذا بلغت النسبة 29.7 %.

توصل الباحث (8) في دراسته في الولايات المتحدة الامريكية الى اعلى نسبة لبكتريا *Acinetobacter baumanni* كانت من عينات الادرار اذ بلغت 33 % وقد يعزى السبب الى تلوث القسطرة

بهذه البكتريا او تكوين Biofilm اذ لهذه البكتريا القدره على تكوين هذا الغشاء الحيوي الذي يعتر احد اسباب ضراوتها.

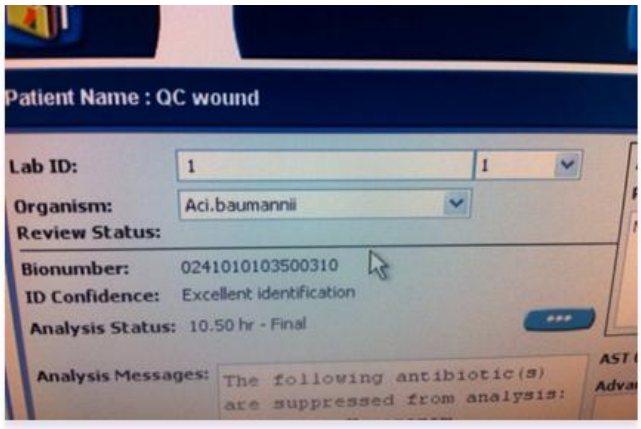
اما معدل عزل بكتريا *Acinetobacter baumanni* من خمج الحروق فلقد بلغ 10 % ولاسيما المرضى الراقدين في ردهات الحروق وقد يعود السبب الى فقدان خط الدفاع الاول الذي هو الجلد بسبب الحرق بالإضافة الى تلوث هذه الردهات بسبب سوء تعقيم هذه الردهات وكذلك الكادر الطبي الموجود، اجهزه التكيف كلها يمكنها ان تساهم في احداث الاصابة.

توصل الباحث (6) في دراسته على المرضى الراقدين في احد مستشفيات المانيا الى ان اعلى اصابة بهذا البكتريا كانت من المرضى الراقدين في ردهات الحروق اذا بلغت النسبة حوالي 34 % وقد اعزي السبب الى وجود خلل في منظومة التبريد مما ادى الى حدوث هذا التلوث.

جدول رقم (2) يوضح الاختبارات الخاصة نظام API 20E :

رمز العزلة	الرقم التسلسلي
IAN1	0004042
IAN2	2000000
IAN3	2204042
IAN4	0000042
IAN5	2004042
IAN6	0000020
IAN6	2204042
IAN7	2000000
IAN8	2204042
IAN9	0000020
IAN10	0000042
IAN11	2004042
IAN12	0000020
IAN13	2004042
IAN14	2000000
IAN15	2204042
IAN16	0000042
IAN17	2004042
IAN18	0000020
IAN19	2204042
IAN20	2000000

صورة (1) نتائج أشرطة نظام API20E المستخدمة في تأكيد تشخيص عزلات *Acinetobacter baumanni*



صوره رقم (2) توضح النتيجة الموجبة للعزلة رقم واحد

حساسية عزلات *Acinetobacter baumannii* للمضادات الحيوية.

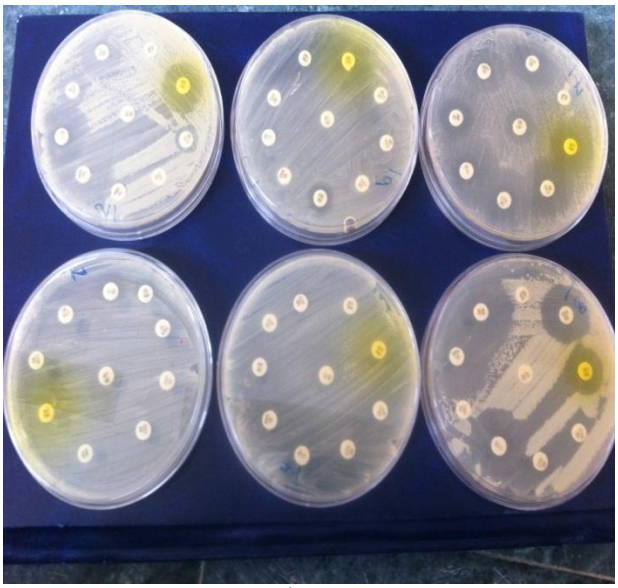
استخدم عدد من المضادات الحيوية المجهزة من شركة Bioanalysis وذلك باتباع طريقة الانتشار بالأقراص Disk diffusion method (4)، إذ نقلت **3 – 5** مستعمرات من طبق الاكار المغذي إلى أنبوبة معقمة حاوية على**5** مل من المحلول الملحي الفسلجي، رجت الأنبوبة جيداً حتى تم الحصول على عالق بكتيري متجانس، بعدها جرى تعديل العكورة بمقارنتها مع أنبوبة ماكفرلاند القياسية رقم 0.5 إذ إن عكوره هذه الأنبوبة تمثل عدداً تقريبياً (1×10^8) خلية/ مل، ثم غمرت ماسحة قطنية معقمة بالعالق البكتيري، وأزيل الفائض من العالق بتدوير الماسحة Swab على الجدران الداخلية للأنبوبة، ثم نشر المعلق البكتيري على وسط الاكار المغذي ، وتركت الأطباق لمدة ٣-٥ دقائق لتشرب العالق إلى أن تجف تماما، وبعدها تثبت أقراص المضادات الحيوية باستخدام ملقط معقم، ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 مْ ولمدة 24 ساعة وقيس قطر منطقة التثبيط لكل قرص.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (1) :76-81

تم اختبار حساسية عزلات بكتريا *Acinetobacter baumannii* لعشرة مضادات حيوية، وأظهرت النتائج مقاومة بعض العزلات هي (IAN1،IAN4، IAN5 ، IAN10 IAN6) للجميع المضادات الحيوية المستخدمة التي شملت Amoxicillin، Cefixime، Rifampicin، Trimethoprim، Cefalexine، Amikacin، Ciprofloxacin، Gentamicin، Ceftriaxone، Cefotaxime كما مبين في جدول رقم (3).

جدول رقم (3) يبن حساسية بكتريا *Acinetobacter baumannii* للمضادات الحيوية

number	AK 30	AX 25	CTX 30	CIP 5	CFM 30	CL 30	CN 15	RA 5	TMP 5	CRO 30
IAN 1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IAN 2	R	S	S	R	S	R	R	R	S	R
IAN 3	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
IAN 4	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IAN 5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IAN 6	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
IAN 7	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R
IAN 8	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S
IAN 9	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S
IAN 10	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R



صورة (3) نتائج اختبار حساسية بكتريا Acinetobacter baumannii

أظهرت هذه العزلات مقاومة عالية للمضادات التابعة لمجموعة البيتالاكتام سواء أكانت بنسلينات أم سيفالوسبورينات، ويعزى ارتفاع نسب المقاومة إلى إنتاجها لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف Extended spectrum ß-lactamase (ESBLs) التي تنتجها معظم البكتريا السالبة لملون گرام(8)

وفي دراساتٍ عديدة وجد (6) أن مقاومة بكتريا *Acinetobater baumannii* لمضاد Amoxicillin كانت بنسبة 98% اي انها اتفقت مع تم الحصول علية من نتائج اختبار حساسية هذه البكتريا لهذا المضاد وقد يعود سبب مقامتها لمضاد Amoxicillin من إنتاج البكتريا لإنزيمات البيتالاكتاميز ß-lactamase التي تمتاز بأنها تمنحُ المقاومة لتنوع واسع من أدوية البيتالاكتام.

في حين لم تتوافق نتائج دراستنا الحالية لمضاد Cefixime مع ما وجده (7) من أن نسبة المقاومة لهذا المضاد كانت 69.5 % في حين كانت المقاومة في دراستنا 100% للعزلات (IAN1،IAN4 ، IAN5، IAN10 IAN6) وهذا الاختلاف عائد إلى الظروف البيئية واختلاف المدة الزمنية لإجراء الدراسة فضلاً عن الاستخدام العشوائي والمفرط للمضادات الحيوية، كل هذا دفع بالنتيجة إلى ازدياد المقاومة لهذا المضاد المدروس.

وأظهرت هذه العزلات مقاومة عالية بنسبة 100% لمضاد Rifampicin ويعود سبب المقاومة العالية لهذا المضاد إلى إنزيم

RNA Polymerase نتيجة حدوث طفرة كروموسومية مغيرة في تركيبها الوراثي ومن ثم يمنع من ارتباط المضاد فلا يثبط عمل الإنزيم (8) وتتوافق هذه النتيجة مع ما وجده (10) من مقاومة بكتريا *Acinetobater baumannii* لهذا المضاد بنسبة 100%.

أما فيما يخص المضاد الحيوي Trimethoprim الذي يعمل على تثبيط إنزيم Dihydrofolic acid reductase (DHF) الذي يحول Dihydrofolic acid إلى Tetrahydrofolic acid (THF) وينتج عنه تثبيط تخليق الأحماض النووية وقد كانت نسبة المقاومة له 100% وهذا ربما يكون ناتجاً من تغير في إنزيم Dihydrofolate reductase الذي يؤدي إلى اختزال الألفة للمضاد الحيوي Trimethoprim (12).وتتفق هذه النتيجة مع ما اورده (11) في دراسته على بكتريا *Acinetobater baumannii* التي تضمنت دراسة أكثر من 70 سلالة لهذه البكتريا إذ أظهرت مستوى عالياً من المقاومة للعديد من المضادات الحيوية من بينها المضاد الحيوي Trimethoprim.

المصادر :

1: Falagas, M. E., P. I. Rafailidis, D. K. Matthaiou, S. Virtzili, D. Nikita, and A. Michalopoulos. 2008. Pandrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter genospecies 13 TU infections: Characteristics and outcome in a series of 28 patients. Int J Antimicrob Agents32:450-4.

2: Paterson, D. 2006. The epidemiological profile of infections with multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter species. Clinicalinfectious diseases 43:S43-S48.

3: Giamarellou H., Antoniadou A. and Kanellakopoulou K. (2008). Acinetobacter baumannii: a universal threat to public health? Int J Antimicrob Agents, 32:106-19.

4: Fournier, P. E., and H. Richet. 2006. The epidemiology and control of Acinetobacter genospecies 13 TU in health care facilities. Clin Infect Dis42:692.

5: Karthikeyan, K., Thirunarayan, M.A., and Krishnan, P. 2010. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-1 and armA in clinical isolates of Acinetobacter baumannii from India. J. Antimicrob. Chemother. 65, 2253–2254.

6: Dallo, S.F. and Weitao, T. 2010. Insights into Acinetobacter warwound infections, biofilms, and control. Adv. Skin Wound Care23, 169–174.

7: D'Arezzo, S., Principe, L., Capone, A., Petrosillo, N., Petrucca, A., and Visca, P. 2011. Changing carbapenemase gene pattern in an epidemic multidrug-resistant Acinetobacter baumannii lineage causing multiple outbreaks in central Italy. J. Antimicrob. Chemother. 66, 54–61.

8: Corvec, S., N. Caroff, E. Espaze, C. Giraudeau, H. Drugeon, and A. Reynaud. 2003. AmpC cephalosporinase hyperproduction in Acinetobacter genospecies 13 TU clinical strains. J Antimicrob Chemother 52:629-35.

9: Hujer, K., N. Hamza, A. Hujer, F. Perez, M. Helfand, C. Bethel, J. Thomson, V. Anderson, M. Barlow, L. Rice, F. Tenover, and R. Bonomo. 2005. Identification of a new allelic variant of the Acinetobacter genospecies13 TU cephalosporinase, ADC-7 beta-lactamase: defining a unique family of class C enzymes. Antimicrobial agents and chemotherapy 49:2941-2948.

10: Perez, F., A. Endimiani, K. M. Hujer, and R. A. Bonomo. 2007. The continuing challenge of ESBLs. Curr Opin Pharmacol 7:459-69.

11: Xia, J., et al. (2014). "A retrospective analysis of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii-mediated nosocomial pneumonia and the in vitro therapeutic benefit of cefoperazone/sulbactam." International Journal of Infectious Diseases 23(0): 90-93.

12: Turton, J. F., N. Woodford, J. Glover, S. Yarde, M. E. Kaufmann, and T. L. Pitt. 2006. Identification of Acinetobacter baumannii by detection of the blaOXA-51-like carbapenemase gene intrinsic to this species. J Clin Microbiol 44:2974-6.

13: Brown, S.. Young, H-K and Amyes, S. G. B.2005. Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of Acinetobacter baumannii from Argentina. Clin. Microbiol. Infect. 11:15-23.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (1) :76-81

Isolation and Identification of *Acinetobacter baumanni* from clinical samples and study sensitivity to antibiotics.

Najeeb.M.hussein **Ibrahim A. Abdul-Rahman** **Abd Al Wahab B. Hussein**

E.mail:

Abstract

In this study, two hundred clinical samples have been chosen to isolate *Acinetobacter baumanni* from patients whose suffering from different infections, which included swabs from sputum, urine, wounds and burns. VITEK 2 COMPACT system has been used to diagnose percentage of bacteria in the samples and the highest rate was wounds infection, urinary tract infection and burns infection and the percentage 20%, 10% and 6.6% respectively. Moreover, antibiotics sensitivity have been taken place and used diffusion method, most of isolates were sensitive to Amikacin, Ciprofloxacin, Gentamicin, Cefixime, Cefotaxime, Ceftriaxone, Trimethoprim, Cefalexine, Amoxicillin, Rifampicin. The results showed resistance some *A baumannii* isolates of bacteria to antibiotics Amoxicillin, Cefixime, Trimethoprim, Rifampicin, cefalexine, Amikacin, Ciprofloxacin, Ceftriaxone, Cefotaxime, Gentamicin which included IAN1, IAN4, IAN5, IAN6, IAN 10 and 100%.