



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

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

* جامعة الانبار – كلية العلوم

** جامعة الفلوجة – كلية الطب البيطري

الخلاصة:

تم في هذه الدراسة اختيار مائتي عينة سريرية لعزل بكتريا *Acinetobacter baumannii* من المرضى الذين يعانون من التهابات مختلفة، 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% و 6.6% على التوالي. وعلاوة على ذلك، تم إجراء اختبار حساسية المضادات الحيوية تجاه البكتيريا واستخدمت طريقة الانتشار بالاطباق، كانت معظم العزلات حساسة تجاه Amoxicillin، Cefixime، Trimethoprim، Rifampicin، Cefotaxime، Ceftriaxone، Ciprofloxacin، Amikacin، Gentamicin، أظهرت النتائج مقاومة بعض عزلات بكتريا *A. baumannii* للمضادات Amoxicillin، Cefixime، Trimethoprim، Rifampicin، cefalexine، Amikacin، Ciprofloxacin، Gentamicin، Cefotaxime، Ceftriaxone حيث شملت IAN1، IAN4، IAN5، IAN6، IAN10 وينسبة 100 %.

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠

تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦

تاريخ النشر: ٢٠١٧ / ٤ / ٣٠

DOI:10.37652/juaps.2015.124385

الكلمات المفتاحية:

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

المقدمة

يعود سبب ازدياد الاهتمام الطبي بالنوع *A. baumannii* الى قابلية هذا النوع على التسبب بالعديد من إصابات المستشفيات Nosocomial infection، إذ يمثل النوع الأكثر شيوعاً، وعزلاً من العينات الطبية في المستشفيات والمسؤول عن تكرارات الانتشار Outbreaks بالمستشفيات المتسببة عن جنس *Acinetobacter*. (3) إن عوامل الخطورة للإصابة أو للاستعمار من قبل هذه البكتريا ولاسيما المقاومة منها للعديد من مضادات الحياة، كثيرة منها: المكوثر 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).

تعد بكتيريا *Acinetobacter* من البكتيريا السالبة لملون غرام، هوائية المعيشة اجباراً، 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، إذ انها تعزل بسهولة من التربة والمياه وفضلات المجاري، كما تعد من الأنواع المستعمرة لجلد الأصحاء (2).

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

وينسبة 10%، وقد يعزى سبب انخفاض النسبة الى تناول المرضى للأدوية دون استشارة الطبيب كما مبين في جدول(1).

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 Sterile swabs 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 البكتيريا الهوائية فقط)، ثم اختبرت المستعمرات المفردة من الأوساط الزرعية الأولى وأعيد زرعها مرة أخرى على أطباق جديدة من الوسط نفسه إلى أن حصلنا على عزلات نقية من البكتيريا بعدها نقلت هذه المستعمرات إلى وسط الأكار المغذي المائل ثم حضنت بدرجة 37 م° 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 المجهرى

٢: الاختبارات الكيموحيوية

٣: الفحوصات التأكيذية باستخدام نظام API - 20E: جرى

استعمال نظام التشخيص API-20E المنتج من شركة Biomeriux الفرنسية إذ اعتمد في تشخيص *A. baumannii* السالبة لملون كرام من عائلة البكتيريا المعوية وحسب تعليمات الشركة المنتجة.

٤: التشخيص حسب نظام VITEK 2 COMPACT

النتائج والمناقشة

تم التحري عن بكتيريا *Acinetobacter baumannii* في 200 عينة شملت هذه العينات (عينات إدرار، ومسحات جروح وحروق وعينات قشع) بعدها نمت هذه العينات على الأوساط الزرعية المستخدمة في التشخيص *Maconkey agar Blood agar*، إذ عزلت 20 عينة موجبة تعود لبكتيريا *Acinetobacter baumannii*

جدول (1) يوضح توزيع العينات (200) وعزلات بكتيريا

Acinetobacter baumannii الموجبة (20) حسب نوع الخمج

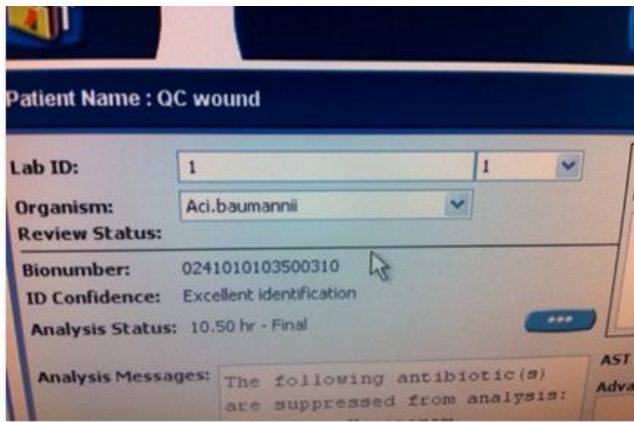
العينات			نوع الخمج
النسبة المئوية %	العزلات الموجبة	عدد العينات الكلي	
10	10	100	خمج الحروق
20	6	30	خمج الجروح
6.6	4	60	خمج المسالك البولية
-	-	10	خمج المسالك التنفسية
10	20	200	المجموع الكلي

وقد اشار (5) وجود بكتيريا *Acinetobacter* في ايدي الكادر الطبي وفي بيئة مستشفيات بريطانيا وانها تقاوم الجفاف لعدة اسابيع. وقد اشار (6) الى وجود بكتيريا *Acinetobacter* في بعض المواد المطهرة والمخففة التي تستخدم في تطهير صالات العمليات في بعض مستشفيات المانيا وقد يعزى السبب الى الغلاف الخارجي لهذه البكتيريا وعدم نفاذية لهذا المواد المطهرة او امتلاكها آلية تعمل على تقليل سمية هذه المواد. جاءت النتائج متفقة لما اورده (6) حيث بلغت نسبة عزلات بكتيريا *Acinetobacter* من عينات الجروح حوالي 19 % للمرضى الراقدين في مستشفيات المانيا. اتفقت النتائج الى حد ما لما اورده (6) في دراستها في العراق، إذ بلغت نسبة عزلات بكتيريا *Acinetobacter baumannii* من مسحات الجروح 15.6 %. اما معدل عزل بكتيريا *Acinetobacter baumannii* من خمج المسالك البولية فلقد بلغ 6.6 % ولاسيما لدى المرضى الذين يستخدمون القسطرة، وقد يعزى السبب الى عوامل الالتصاق التي تمتلكها هذه البكتيريا والتي تسهل التصاقها بالقسطرة مما يؤدي الى حدوث الإصابة. اتفقت هذه النتائج الى حد ما مع ما اورده (6) في دراستها في العراق إذ بلغت نسبة عزل بكتيريا *Acinetobacter baumannii* من عينات الإدرار حوالي 7.1 % ولم تتفق مع ما توصل اليه الباحث ابراهيم (2004) في العراق إذا بلغت النسبة 29.7 %.

توصل الباحث (8) في دراسته في الولايات المتحدة الامريكية الى اعلى نسبة لبكتيريا *Acinetobacter baumannii* كانت من عينات الإدرار إذ بلغت 33 % وقد يعزى السبب الى تلوث القسطرة



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



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 الفلجالي، 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 3-5 دقائق لتشرب العالق إلى أن تجف تماماً، وبعدها تثبت أقراص المضادات الحيوية باستخدام ملقط معقم، ثم حضنت الأطباق بدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة وقيس قطر منطقة التثبيط لكل قرص.

بهذه البكتيريا أو تكوين Biofilm إذ لهذه البكتيريا القدرة على تكوين الغشاء الحيوي الذي يعثر احد اسباب ضرورتها.

اما معدل عزل بكتيريا *Acinetobacter baumannii* 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 الإصابة.

توصل الباحث (6) في دراسته على المرضى الراقدين في احد مستشفيات المانيا الى ان اعلى اصابة بهذا البكتيريا 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 بنظام API 20E :

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



صورة (3) نتائج اختبار حساسية بكتريا *Acinetobacter baumannii*

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

وفي دراساتٍ عديدة وجد (6) أن مقاومة بكتريا *Acinetobacter baumannii* لمضاد Amoxicillin كانت بنسبة 98% أي أنها اتفقت مع تم الحصول عليه من نتائج اختبار حساسية هذه البكتريا لهذا المضاد وقد يعود سبب مقاومتها لمضاد Amoxicillin من إنتاج البكتريا لإنزيمات البيتالكتاميز β -lactamase التي تمتاز بأنها تمنح المقاومة لتنوع واسع من أدوية البيتالكتام.

في حين لم تتوافق نتائج دراستنا الحالية لمضاد Cefixime مع ما وجدته (7) من أن نسبة المقاومة لهذا المضاد كانت 69.5 % في حين كانت المقاومة في دراستنا 100% للعزلات (IAN4, IAN1) ، IAN5, IAN6 IAN10) 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

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

جدول رقم (3) بين 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

- 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 Care 23, 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* genospecies 13 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.

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 وجدته (10) من مقاومة بكتريا *Acinetobacter baumannii* لهذا المضاد بنسبة 100%.

أما فيما يخص المضاد الحيوي Trimethoprim الذي يعمل على تثبيط إنزيم Dihydrofolic acid reductase (DHF) الذي يحول Dihydrofolic acid (THF) 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 أورده (11) في دراسته على بكتريا *Acinetobacter 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 Agents 32:450-4.
- 2: Paterson, D. 2006. The epidemiological profile of infections with multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clinical infectious 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 Dis 42:692.
- 5: Karthikeyan, K., Thirunarayan, M.A., and Krishnan, P. 2010. Coexistence of blaOXA-23 with blaNDM-

Isolation and Identification of *Acinetobacter baumannii* 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 baumannii* 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%.