عزل وتشخيص جرثومة *Burkholderia pseudomallei* من الابقار الحلوب في محافظة المثنى وفحص الحساسية الدوائية تجاه المضادات الحيوية

م.م. نائرعبد الباري مدلول

قسم علوم الحياة /كلية العلوم / جامعة المثنى

الخلاصة

تم عزل (26) عزلة من اصل (82) عينة حليب من الابقار الموجود في مناطق مختلفة من محافظة المثنى (الرميثة , السوير , المهدي , الخضر, الوركاء ومحطة كلية الزراعة) كون الجرثومة لم تعزل سابقا من الحليب الابقار لما له من الخصوصية العالية من الناحية المناعية بالاضافة ان الجرثومة لم يسجل عزلها في محافظة المثنى حيث باستخدام انابيب معقمة(Scrow tube) واجري لها عدة اختبارات وذلك لعزل وتشخيص جرثومة B.pseudomallei حيث زرعت العينات الماخوذة على وسط Ashdown Selective Broth والذي اعطى اعلى نسبة عزل للجرثومة B.pseudomallei (61%)وبعد ذلك زرعت على وسط Ashdown Selective Agar حيث بلغت نسبة عزل (32%) وقد تم انماء وتنشيط المستعمرات الجرثومية المعزولة من الاوساط الانتقائية لحفظ العزلات من خلال زراعتها على وسط Nutrient Agar والذي اعطى نسبة عزل (100%) ولغرض تنمية وتنشيط الجرثومة ولتاكيد تشخيص الجرثومة فقد صبغت الخلايا بصبغة Methylin blue فقد اعطت نسبة(87.5%) حيث تركزت الصبغة على جانبي الخلية البكتيرية (قطبي الخليةBipolar) وكذلك عند صبغها بصبغة كرام اعطت نسبة(93.7%)ويكون بلون وردي فاتح (سالبة لصبغة كرام) وتم اجراء الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية على جميع العزلات الجرثومية المنتخبة على وسط(ASA) مثلا اختبار انتاج انزيم الكاتاليز وكذلك اختبار انزيم الاوكسيديز اعطى نسبة عزل (100 و 84.3)% على التوالي وعند تنمية الجرثومة على وسط الانتقائية مثل وسط Macconky Agar و Manitol Salt Agar فقد اعطت نسبة عزل (95.1 و 7)% على التوالي كما واظهرت العزلات القدرة على تسييل الجيلاتين بنسبة (71%) وتخميرها لسكري الكلوكوز واللاكتوز بنسبة(78 و 63 %) ومؤكسدة لهما بنسبة (76 و 78%) على التوالي .

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

للجرثومة القدرة على حل الدم من نوع (β) وبنسبة (49%) اما النسبة المتبقية للعزلات (42%) فهي حالة للدم من نوع (α) و (9%) فهي حالة للدم من نوع (δ) واختبر قدرة الجرثومة على الحركة واعطت نسبة (87%).

وقد اختبرت حساسية البكتريا للمضادات الحياتية (13) مضادا حيث أظهرت النتائج الحساسية العالية لعزلات B.pseudomallei اتجاه المضادات الجرثومية من مجموعة

الكوينولينات المتمثلة بمضاد الـ Ciprofloxacin حيث بلغت نسبة الحساسية (100%) و كذلك للمضاد Chloromphenicol كانت (67%) اما بالنسبة لمضادات مجموعة الماكروليدات المتمثلة بمضاد Erthromycin فقد أظهرت العزلات مقاومة عالية بلغت نسبة المقاومة (100%) , اما بالنسبة لمضادات مجموعة التتراسايكلينات المتمثلة بمضاد Tetracycline فقد أظهرت العزلات حساسية بلغت (35%) .

Isolation and Identification of the bacterium *Burkholderia pseudomallei* from dairy cows in the province of Al Muthanna and examination of the Sensitivity towards antibiotics

S.L. Naer Abdulbari Alkaabi

Summary

Isolated (26) isolation out of (82) milk samples from cows in the different regions of the province of Muthanna (Rumaythah, Suer, Mahdi, vegetables, Warka) using tubes sterile ((Scrow tube and make a variety of tests and to isolate and diagnose the bacteria *B. pseudomallei* were planted samples the center of the Ashdown Selective Broth, which gave the highest percentage of isolation of the bacterium *B.pseudomallei* (61%) and then planted on the center of Ashdown Selective Agar, where the percentage of isolation (32%) was Development and activate the colonies germ isolated from circles

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

selectivity to save the isolates through cultivation on the center of Nutrient Agar, who gave the percentage of isolation (100%) for the purpose of developing and activating the bacteria and confirm a diagnosis of MRSA was stained cells stained Methylin blue has given proportion (87.5%), where the concentrated dye on both sides of the bacterial cell (polar cell Bipolar) as well as when it was painted stained Gram given proportion (93.7%) give pink color while were biochemical diagnostic testing for all bacterial isolates were elected on the center (ASA) test, for example the production of an enzyme Alcatalase as well as the test enzyme Al-oxidase gave the proportion of isolation (100& 84.3%) respectively on the development of germ Altoaliuand the center of the selectivity, such as central Macconky Agar and Manitol Salt Agar has given the percentage of isolation (95.1 &7%), respectively, also showed the isolates ability to liquefy gelatin by (71%) and fermented for diabetes glucose and lactose by (78 & 68%) respectively and oxidizing them by (76 & 78 %), respectively. of the bacterium the ability to solve blood type (β) and by (49%), while the remainder of the isolates (42%) are cases of blood-type (α) and (9%) were the status of the blood of type (δ) and tested the ability of bacteria to move and gave (87 %).The results showed high sensitivity of the isolates *B.pseudomallei* the direction of anti-microbes of a Alkolinat represented in anti the Ciprofloxacin where the percentage of sensitivity (100%) and also for anti-Chloromphenicol was (67%) As for the anti-group macrolides represented in anti Erthromycin the isolates showed resistance to as high as resistance ratio (100%), but for a group of anti-represented in anti tetracycline Tetracycline showed the isolates were sensitive (35%).

المقدمة

اطلق هذا الاسم على جرثومة Burkholderia منذ اكتشافها سنة 1913 على يد العالم Whitmore وحتى سنة 1993 عندما جاء العالم Yabuuchi وجماعته ووجد انه يمكن فصل بعض اجناس pseudomallei نتيجة وجود اختلاف في تركيب القواعد النيتروجينية للحامض

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

النووي RNA لذلك اطلق عليهاBurkholderia pseud وقد امتازت هذه الجرثومة بمواصفات خاصة كدرجة الحرارة المثلى للنمو هي (40) في (24- 48) ساعة وهذا يميز معدل النمو السريع للجرثومة في بيئات حامضية او متعادلة (PH 6.8-7.0). (14) ان اغلبية المستعمرات قادرة على تخمير السكريات بدون تكوين غاز(ومن اهم السكريات,كلوكوز والكالكتوز, وكذلك تؤيض المالتوز والنشا). تنتج البكتيريا السموم الخارجية والداخلية المستعمرات مجعدة, لها بريق معدني,ورائحتها تشبه رائحة الارض. تمتلك مواصفات خاصة كونها بكتيريا سالبة لصبغة كرام , متحركة ,هوائية ,ذات القطبين ,عصوية ,ممرضة للانسان والحيوان وتسبب الرعام الكاذب او ما يسمى بمرضmelioidosis ويسمى ايضا Whitmore's وهو مرض معدي سببه بكتريا Burkholderia pseudomallei ومرضMelioidsis سريريا ومرضيا مشابه لمرض الرعامglander ولكن علم البيئة وعلم الاوبئة اثبت انmelioidsis مختلف عن مرض الرعامglander.(9)

في اختبار الحساسية للمضادات الحياتية وجد ان هذه الجرثومة مقاومة بشكل فطري الى عدد كبير من المضادات الحيوية من ضمنها (Gentamicin) والذي يميزها عن جرثومة B.mallei التي تكون حساسة لعدد كبير من المضادات الحيوية. (8) ان البكتيريا التي تسبب melioidosis توجد في الماء والتربة الملوثة وتنتقل الى البشر والحيوانات خلال الاتصال المباشر بالمصدر الملوث خصوصا عند تآكل الجلد ومرض الرعام الكاذب مقتصر بالانسان من الحيوانات الاليفة المصابة فبالاضافة الى البشر العديد من الحيوانات معرضة

لmelioidosis وهي تتضمن خراف ،ماعز ،خنازير ،خيول،ماشية،كلاب،قطط،يحدث الانتقال عن طريق الاتصال المباشر بالتربة الملوثة والمياه السطحية في جنوب شر ق اسيا، والكائن الحي عزل مرارا وتكرارا من الحقول الزراعية ويمكن ان تنتقل من شخص الى اخر عن طريق نقل الدم.(4)

يمكن تصنيف melioidosis كعدوى حادة محلية ، عدوى رئوية حادة ، عدوى مجرى الدم الحادة ، عدوى تقيحية مزمنة ، إصابات غير واضحة ، محتملة أيضا حيث تمتاز هذه

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

الجرثومة بعوامل ضراوة مختلفة منها (الاسواط والحركة الجماعية ووجود المحفظة والقدرة على الاتصاق والغشاء الحيوي و العيش داخل الخلايا الحية في اللبائن وانتاجها للانزيمات والسموم الخارج الخلوية وبالاضافة الى وجود ظاهرة siderophores) . (24).

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

تم الحصول على (82) عينة حليب من الابقار الموجود في مناطق مختلفة من محافظة المثنى (الرميثة , السوير , المهدي , الخضر, الوركاء ومحطة ابقار كلية الزراعة) وبطرق دقيقة وبظروف معقمة بواسطة استخدام قناني زجاجية صغيرة سعة (50)مل معقمة ووضعت في حاويات مبردة وبعدها اجريت عليها سلسلة من الاختبارات العزل والتشخيص :-

الاوساط الزرعية المستخدمة : حضرت الاوساط الزرعية الجاهزة وفقا لتعليمات الشركة المجهزة وعقمت بدرجة 121º م لمدة 15 دقيقة .

وسط Ashdown selective agar 2- وسط آكار الدم (شركة DIFCO) 3- وسط آكار المغذي (شركة DIFCO) 4- آكار مولر هنتون (شركة DIFCO) 5 – وسط اكار الماكونكي (شركة DIFCO) .

الكواشف والمحاليل المستخدمة في اختبارات التشخيص

أ – ملون كرام Gram stain

حضر على وفق الطريقة الموصوفة من قبل (9) .

ب – كاشف الكاتاليز Catalase (5) .

يتكون من بيروكسيد الهيدروجين 3%. استخدم للكشف عن انتاج انزيم الكاتاليز من البكتريا.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

ج – كاشف الاوكسديز Oxidase reagent (3).

حضر بإذابة 0.1غم من مادة Tetra methyl para phenyl diamine dihydrochloride في 10 مليلتر من الماء المقطر , واستخدم للكشف عن انتاج انزيم الاوكسيديز من البكتريا (يحضر انيا).

د – اختبار قابلية العزلات على انتاج الهيمولايسن تم الكشف عن قابلية العزلات البكتيرية قيد الدراسة على انتاج الهيمولايسن البكتيري فقد تم ذلك بالزرع على وسط اكار الدم المحضر باستخدام الاغنام , ثم حضنت الاطباق بعد التلقيح في درجة حرارة ة 35مْ لمدة 24 ساعة. بعدها شوهدت مناطق التحلل (مناطق شفافة تحيط بمستعمرات البكتيريا المنتجة للهيمولايسن). مع وضع نموذج سيطرة للمقارنة (10).

هـ – اختبار الأكسدة

حضر الوسط بإضافة 5غرام من peptone و(0.3)غم K2Hpo4 و(5)غم Nacl و(2.5)غم من الاكار إلى لتر من الماء المقطر ثم أذيبت هذه المواد بالتسخين وعدل الأس الهيدروجيني إلى (7.1) وأضيف (15) مل من صبغة Bromothymole blue بتركيز (0.2%) بعد إن عقم بالموصدة بدرجة (121م) وضغط (15باوند/انج) لمدة (15) دقيقة , قسم الوسط إلى ثلاثة أقسام أضيف لكل قسم منها (Glucose و Lactose) على التوالي وبتركيز (1%) ثم وزعت الأوساط في أنابيب اختبار صغيرة ومعقمة وبمقدار (5) مل لكل أنبوبة وترك حتى يبرد ليكون وسط شبة صلب وبعد ذلك لقحت تلك الأنابيب بالعزلات الجرثومية بطريقة الطعن (Stabbing) ومن ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة (35م) ولمدة(7-11) يوم وقد سجلت النتيجة بتغير لون الوسط الأخضر المزرق إلى الأصفر(5) .

و – اختبار التخمر

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

استخدمت نفس الخطوات المذكورة في أكسدة (Glucose و Lactose) في اختبار التخمر ,بعد تلقيح العينات بالعزلات الجرثومية بطريقة الطعن(Stabbing)وضعت طبقة البرافين السائل المعقم ليغطي سطح الوسط المطعون وذلك لتوفير ظروف لاهوائية للنمو , ثم حضنت الأنابيب بدرجة حرارة (35م) لمدة أربعة أيام وقد سجلت النتيجة بتغير لون الوسط الأخضر المزرق إلى الأصفر (5) .

ي – اختبار الحركة

حُضر وفقا لما ورد في (6), وذلك بأذابة (10)غم من تربتون و5غرام من كلوريد الصديوم و (5) غرام اكار–اكار في(1) لتر من الماء المقطر ثم عقم بالموصدة بعد تعديل الرقم الهيدروجيني عند (7.2) وسجلت النتائج بظهور انتشارللبكتريا بالوسط .

م – اختبار تميوء الجلاتين

استخدم هذا الوسط لغرض اختبار قابلية البكتريا على انتاج انزيم gelatinase الذي يسبب تميوء الجيلاتين و حضر على وفق (11) وذلك باذابة 12 gm من الجيلاتين في 100 ml من وسط المرق المغذي السائل (N.broth) المسخن بدرجة 100 م , ثم وزع على انابيب وعقمت بالموصدة وسجلت النتائج بحدوث تسييل للوسط .

ذ – القدرة على تحمل درجات الحرارة العالية (40)م

عن طريق وضع العالق الجرثومي في انابيب داخل حمام مائي بدرجة (40)م ولمدة (24)ساعة وملاحظة النمو بعد ذلك في الانابيب.

تشخيص عزلات الزوائف :

شخصت العزلات طبقا لما وصفه (5) , حيث درست الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على وسط الاكار المغذي ، ثم عمل مسحة لملون كرام ، وفحصت بالمجهر الضوئي.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

تم اعتماد الفحوصات الكيموحيوية لغرض التشخيص وعلى النحو الاتي:

1 – اختبار النمو على وسط Ashdown selective agar.

نقل جزء من المزروع البكتيري على وسط اكار المانيتول الملحي وحضنت بدرجة 37º م لمدة 24-48 ساعة, ويعد هذا الوسط تاكيديا لعزل الزوائف. (7,13) .

2 – اختبار انتاج الكاتاليز Catalase (15)

نقل جزء من المزروع البكتيري بعمر (18-24) ساعة النامي على وسط الاكار المغذي والمحضر وفق الفقرة المذكورة الى شريحة زجاجية نظيفة ، ووضع فوقها قطرة من 3% بيروكسيد الهيدروجين. إن ظهور فقاعات هوائية على سطح الشريحة بسبب تحرر الاوكسجين بفعل انزيم الكاتاليز دليل على النتيجة الموجبة.

3 – اختبار انتاج الاوكسيديز Oxidase test (3)

نقل جزء من المزروع البكتيري النامي من وسط الاكار المغذي بعمر(18-24) ساعة المحضر وفق الفقرة المذكورة ، بوساطة ناقل خشبي معقم الى ورقة ترشيح , ووضع فوقها قطرتان من كاشف الاوكسيديز المحضر اعلاه.تحول لون المستعمرة الى البنفسجي خلال مدة 10ثوان دليل على النتيجة الموجبة.

4– اختبارت الحساسية اتجاه المضادات المايكروبية

زرعت (10) عزلات مشخصة على وسط Mullar hinton agar بطريقة النشر بواسطة L- shape وبكمية (1.5×10^{-8}) باستخدام انابيب مكفرلاند ووضت

على الوسط اقراص المضادات الحياتية وباقع اربع اقراص مختلفة لكل طبق وقد استخدم 13 نوع من مضادات الحياتية عليها وهي :(Cephalexin و Amoxicillin و Ampicillin و Tetracycline و Cefotaxime و Gentamycin و Streptomycin و Erthromycin Ciprofloxacin و Chloromphenicol

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

و Clindamycin و Vancomycin و Amikacin) وسجلت النتائج بالاعتماد على قياس النطاق التثبيطي حول المستعمرات

النتائج والمناقشة

- العزل والتشخيص

استخدم وسط (Ashdown selective broth) في عزل جرثومة Burkolderia pseudomallei لما له من خصوصية عالية لعزل هذه جرثومة مقارنة مع الاوساط الاخرى حيث تمكنت من تغير لون الوسط الأرجواني الى ألوان مختلفة ومتدرجة وهذا يؤكد حدوث نمو لهذه الجرثومة وبعد ذلك زرعت هذه العزلات على وسط انتقائي (Ashdown selective agar) وبدرجة حضن (35)م تشخيص الجرثومة Burkolderia pseudomallei في (26) عينة من أصل(82) شكل رقم (1), وتميزت هذه المستعمرات بكونها مستعمرات كبيرة الحجم وذات وردي محمر مع وجود بقعة داكنة في المنتصف وبحجم رأس الدبوس (1-1.5)ملم وهي محدبة وذوات حافات منتظمة بعد فترة حضن (24) ساعة وبلون أحمر ارجواني داكن وبحجم (1.5-2)ملم بعد فترة حضن (72)ساعة وهذا يتوافق مع ما ذكره (13) و (1). ويعزى ذلك الى الانتقائية العالية للمرق الانتقائي (ASB) الحاوي على (Colistin) (20)ملغم\لتر ومن ثم يتبعه وسط (ASA) الحاوي على (Gentmycin) (40)ملغم\لتر .وتم استخدام المضاد الحيوي (Gentmycin) في وسط (ASA) لتثبيط نمو (95%)من الجراثيم السالبة لصبغة كرام وبتركيز (4ملغم\لتر) اذ اظهرت الجرثومة Burkholderia pseudomallei حساسة اتجاه التراكيز العالية من هذا المضاد (اكثر من 15ملغم\لتر) (7) وقد استخدمت عينات الحليب من الابقار في هذه الدراسة لعزل جرثومة Burkholderia pseudomallei والتعرف على مدى تاثر حليب الابقار المصابة بمرض (Melioidosis) والحيوانات المصابة بالخمج الكامن(Latent infection) الذي لايرافقه أي علامات مرضية على الحيوان لقد حققت عزلات جرثومةBurkholderia pseudomallei نتائج موجبة في الاختبارات الكيموحيوية على الرغم من ان هناك اختلافا معنويا في الاختبارات الكيموحيوية بين العزلات الجرثومية وهذا مايتفق مع ماذكره(22) الذي اكد ان جميع عزلات جرثومةBurkholderia pseudomallei تشترك في الصفات الكيموحيوية

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

رغم الاختلاف البسيط في شكل المستعمرات (7) كما اظهرت النتائج ان جميع عزلات جرثومةB.pseudomallei كانت مخمرة لسكر الكلوكوز وبنسبة(78%)كما انها مخمرة لسكر اللاكتوز وبنسبة(63%) وهذا مايتفق مع ماذكره(14) بان جرثومة B.pseudomallei مخمرة لكل من الكلوكوز واللاكتوز على اعتبار ان جرثومة لاهوائية اختيارية كما اظهرت المستعمرات صفات مظهرية مختلفة من لزجة ملساء الى الكريمي على وسط Nutrient agar لغرض تنمية وتنشيط العينات المأخوذة من الوسط اعلاه ثم شخصت العزلات النامية على هذا الوسط تشخيصا أوليا بالاعتماد على الصفات الزرعية والمظهرية ، حيث ظهرت بشكل مستعمرات دائرية بيضاء أو كريميه اللون معتمة ملساء الحافة ، مرتفعة قليلا عن سطح الاكار المغذي وهذا يتوافق مع ماذكرة (15) ثم زرعت العزلات على وسط Mannitol salt agar ويعد هذا الوسط تاكيديا لعزل الزوائف حيث اظهرت العزلات عدم قدرتها على النمو على الوسط نتيجة عدم قدرتها على تخمير سكر المانتول ونسبة (7%) وهذا يتفق مع ماذكرة العالم (8) ، كما إن الفحص ألمجهري للعزلات المصطبغة بصبغة كرام اظهر خلايا عصوية صغيرة الحجم سالبة لصبغة كرام متجمعة بصورة ثنائية أو رباعية أو على هيئة سلاسل وبنسبة(100%) وهذا يتفق مع ماذكر عن صفاتها المظهرية في (8) , بالإضافة إلى الصفات المظهرية استخدمت الاختبارات الكيميوحية في تشخيص العزلات أعلاه حيث سجلت النتائج إن جميع العزلات تميزت بكونها موجبة لاختبار الكتاليز وبنسبة (100%) وذلك لانها جراثيم هوائية أو لاهوائية اختيارية والتي تتمكن من خلال هذه الصفة من إنتاج إنزيم الكتاليز الذي يحميها من التأثير السام لمادة بيرو كسيد الهيدروجين المنتج خلال العمليات الايضية و قدرتها على انتاج انزيم الاوكسديز وبنسبة (84.3%) وهذا يتفق مع ماذكرة (16) , تميزت العزلات بقدرتها على أكسدة وتخمير السكريات (الكلوكوز واللاكتوز) وبنسبة (76 و 78 %) لاختبار الأكسدة على التوالي و(78 و 63%) على التوالي لاختبار التخمر وهذا يتفق مع العالم (5) و(A).

وبينت النتائج إن بعض العزلات تمتلك القدرة على تسييل الجلاتين وبنسبة (71%) وهذا مطابق لما ذكره كل من(24و23). كما تميزت العزلات بأنها محللة للدم من نوع بيتا وبنسبة (49%) , إما العزلات البقية تميزت بتحليلها الدم من نوع ألفا وبنسبة (42%) إما البقية (9%)

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

فإنها أظهرت تحلل من كاما نتيجة لاختلاف قدرة وكفاءة الجرثومة على أنتاج أنزيم الهيمولايسين وهذا يتفق مع ماذكره العالم (2) ,كما تميزت العزلات بأنها موجبة لفحص الحر كة وبنسبة (87%) وذلك لعدم احتواءها على محفظة دقيقة Microcapsule

لذلك تمكنها من الحركة وتعطيها صفة الضرارة وهذا يتفق مع ماذكرة العالم (8) شكل رقم(2) .

حساسية بكتريا B.pseudomallei لمضادات الحياة

اختبرت حساسية العزلات المعزولة من المصابين بالتهابات التنفسية لـ 13 مضادا توزعت ما بين مضادات مجموعة البيتالاكتام التي شملت Cephalexin و Amoxicillin و Ampicillin و Cefotaxime و Penicillin ومن مجموعة الامينوكلايكوسيدية Gentamycin و Streptomycin والكوينولونات Ciprofloxacin ومجموعة التتراسايكلينات المتمثلة بمضاد Tetracycline ومن مجموعة الماكروليدات Erthromycin ومضادات الـ Clindamycin و Vancomycin و Chloromphenicol واعتمد على قياس قطر منطقة التثبيط ومقارنة ذلك مع ماورد في (17) .

تم اختيار تسعة عزلات مشخصة كعزلات B.pseudomallei ومختلفة في بعض الموصفات لاختبار مدى تحسسها للمضادات الحيوية , حيث أظهرت النتائج الحساسية العالية لمضادات مجموعة الكوينولينات المتمثلة بمضاد الـ Ciprofloxacin حيث بلغت نسبة الحساسية (100%), اما بالنسبة لحساسيها للمضاد Chloromphenicol كانت (67%) , اما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايكو سيدية Gentamycin و Streptomycin فقد كانت نسبة الحساسية لهما (13%) و(10%), على التوالي . اما بالنسبة لمضادات مجموعة الماكروليدات المتمثلة بمضاد Erthromycin فقد أظهرت العزلات مقاومة عالية بلغت نسبة المقاومة (100%) , اما بالنسبة لمضادات مجموعة التتراسايكلينات المتمثلة بمضاد Tetracycline فقد أظهرت العزلات حساسية بلغت (35%) , اما بالنسبة لمضاد الـ

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

Clindamycin فقد أظهرت العزلات حساسية متوسطة بلغت (22%) , اما بالنسبة لمضادات مجموعة البيتالاكتام التي تمثلت بمضادات Cephalexin و Amoxicillin و Ampicillin فقد بلغت نسبة المقاومة لهم (100%) في حين كانت نسبة المقاومة للمضاد Cefotaxime(69%).

ان سبب الحساسية العالية للعزلات للمضادات الكوينولينات المستعملة قد يعود الى حدوث تغيير في موقع الهدف لارتباط المضاد على الانزيم الكايريز الذي يؤدي الى تحطيم التتابع النووي للمادة الوراثية ، اذ يحدث التغيير في (Gyr A) الذي يعد من الوحدات البنائية لانزيم (DNA gyrase) (18) .

بينما كانت مقاومة مضادات مجموعة Aminoglycoside والمتضمنة بمضاد Amikacin والتي كانت نسبة مقاومتهما (31%) و Vancomycin (43%) وقد

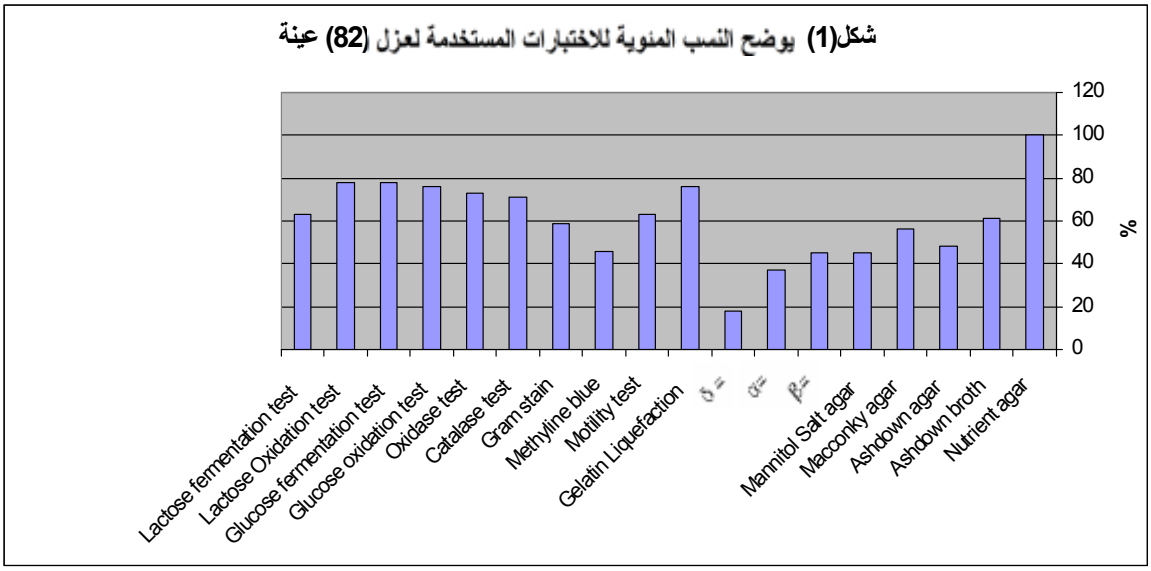
يعزى سبب مقاومة البكتريا لمضادات الأمينوكلايكوسيدات بثلاث آليات هي : تحوير جزيئة المضاد بوساطة الإنزيمات المحورة (Adenylating, Phosphorylating, Acetylating) او حدوث طفرة كروموسومية مثل طفرة في الجين المشفر للبروتين الهدف في تحت الوحدة الرايبوسومية 30S مسببة بذلك فقدان المضاد ألفته للأرتباط بالبروتين الهدف وتقليل نفاذية الخلية البكتيرية للمضاد (19) .

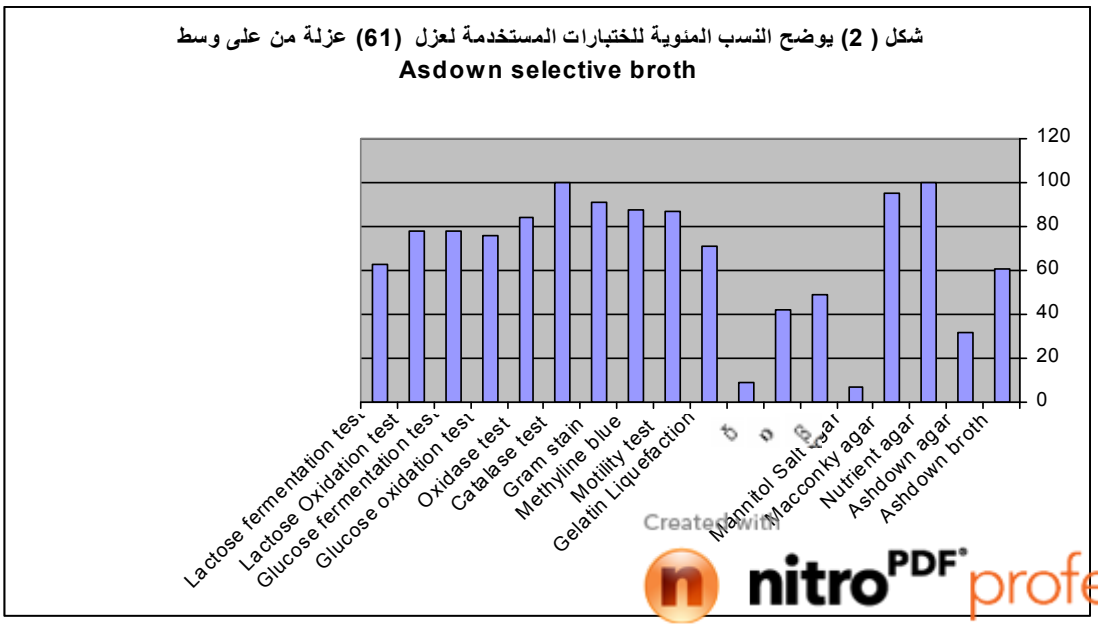
إذ تعمل هذه المضادات على تثبيط عملية تصنيع الجدار الخلوي للجراثيم من خلال تداخلها مع عملية تصنيع طبقة الببتيدوكلايكان، وربما تعود أسباب هذه المقاومة إلى إفراز الجراثيم لأنزيم البيتالاكتميز الذي يعمل على إبطال فعالية مضادات البيتالاكتام عن طريق كسر لحلقة البيتالاكتام في مجموعة البنسلينات و السيفالوسبورينات (20 ; 21) .

إذ يعد الفانكومايسين من المضادات الحيوية الكلايكوببتيدية (Glycopeptides) antimicrobial التي تمنع تكوين طبقة الببتايدوكلايكان, وذلك بارتباطهما بالعناصر الأولية (Precursors) الببتيدية للجدار الخلوي وهذا العامل فعال ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام (16) , ولكون ألية عمل هذا المضاد تختلف عن ألية عمل مضادات البيتالاكتام في تأثيره

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

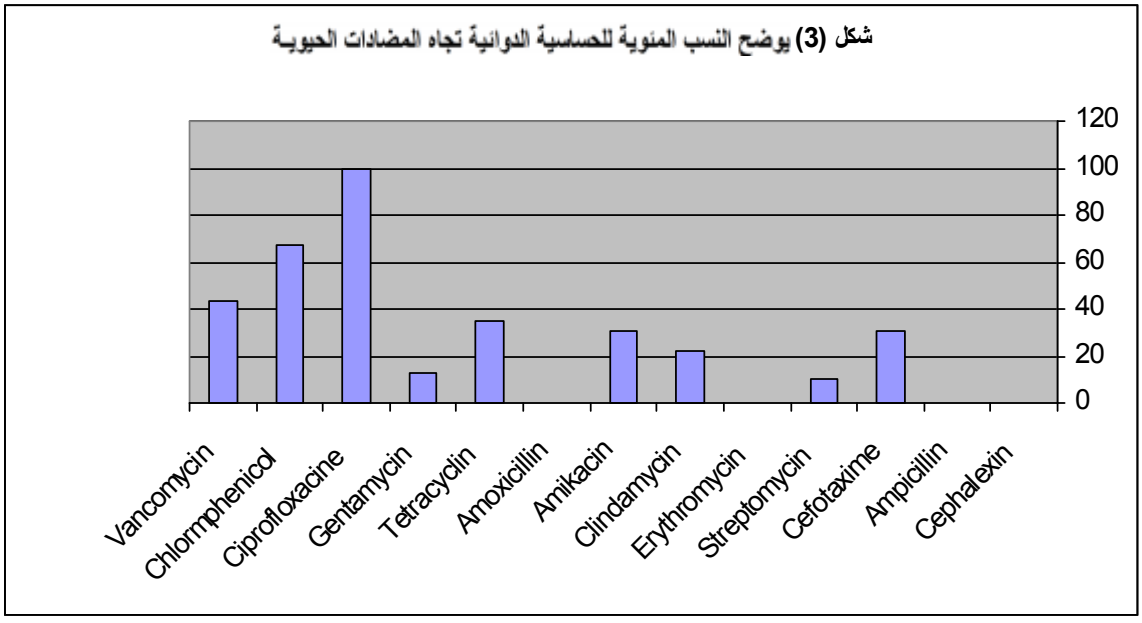
القاتل على البكتريا من خلال تثبيط صناعة الجدار الخلوي , فقد استخدم هذا المضاد بنجاح لعلاج الاخماج الشديدة التي تسببها الزوائف المقاومة لمضادات البتالاكتام (12) شكل رقم (3) .





Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

شكل (3) يوضح النسب المئوية للحساسية الدوائية تجاه المضادات الحيوية



Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

المصادر العربية

A – الحداد،جاسب جاسم(1991) .علم الاحياء المجهرية البيطرية.دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة الموصل.صفحة(88.86) (321.305).

Reference

1 - Ashdown L.R.;(1979), An improved screening technique for isolation of Pseudomonas Pseudomallei from clinical specimens.Pathology.J-mid.micr . 11(2) ; 293 – 297 . [Pubmed :460953].

2 - Ashdown L.R. and Clarke,S.G.(1992).Evaluation of Culture techniques for isolation of Burkholderia pseudomallei from soil Apple.Env .Microbiol .58(12):4011-4015.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

3 - Baron,E.J.; Peterson, L.R.and finegold .S.M.(1990).Diagnostic Microbiology .9 ed. Mosby-Yearbook, Inc.Pp:394-399

4 -Brooks,and Butel,N.S.(1996).E.F.Minor bacterial pathogens (pseudomonas pseudomallei) .Medical Microbiology .Norwalk, Connecticut Sanmathe .California. Pp:232-235.

5 - Colle J.G. fraser A.G. Marmion ,P.B. and simmon S.A.(1996). practical medical microbiology .14 ed. Longman Singapore Publisher ltd. Singapore.Pp:35-71.

6 - Harley,J.P.and Prescott,L.M.(1996). Microbiology. 3 ed McGraw-hill.Pp:151-156

7 - Howard and Inglis, T.J (2003);. Novel selective medium for isolation of Burkholderia pseudomallei.Journal of Clinical Microbiology.41(7):3312-3316.[Pubmed:12843080].

8 - Holt, J.G..;Krieg,N.R..;Sneath, P.H.A.; Staley,J.T. and Williams, S. T.(1994). Bergey,s manual of determinable bacteriology 9th ed . William and Wilkins, Baltimore.

9 - Atlas, R. A.; Parks, L. C. & Brown, A. E. (1995). Laboratory manual experimental microbiology.1st ed. Mosby-Year book.: 312.

10 - Sprague L.D.(2004); Neubaure melioidosis in animals areview on epizootiology, diagnosis and clinical presentation. Journal of Veterinary medicine . B, infections diseases and veterinary public health51(7):305-320.[Pubmed:15525357].

11 - Cruickshank, R. ; Duguid,J. T. ; Marmion, B. P. and Swain, R. H. (1975). Medical Microbiology .12th ed . vol(11). Churchill. Livingstone.

12 - Wuthiekanun V.; Desakorn V.; Wongsuvan G.;April (2005).Rapid immunofluorescence microscopy for diagnosis of melioidosis. Clinical and diagnostic laboratory immunology 12(4):555-6.doi:10.1128/CDLL .12.555-556.2005.PMID 15817767.PMC:1074392.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

13 - Woods D.E.; Deshazer D.;moore R.A.; Brett P.J.; Burtnick M.N.; Reckeidler S.L.; Senkiw M.D (1999). Current studies on the pathogenesis of melioidosis of clinical microbiology 45(3): 1045-8. doi:10. 1128/JCM. 02350-06. PMID.

14 - Wuthiekanun V.;Desakorn V.; wongsuvan G.; Amornchai P.; Cheng A.C.; Maharjan B.; Limmathurotsakul D.; chierakul W.; white N.J.; Day N.P.; Pea cock S.J.;(2005); Rapid_immunofluorescence microscopy for diagnosis_of_melioidosis clinical and diagnostic laboratory immunology .12(4) : 555-556. [Pubmed:15817767].

15 - Steinmet Z.I.; Reganzerowski A.; Brenneke B.; Haussler S.; Simpson A.; white N.J.(1999);; Rapid identification of Burkholderia pseudomallei by latex agglutination based on an exopolysaccharide specific monoclonal antibody.Journal of clinical microbiology.37(1):225-8.[Pubmed:9854098].

16 - Brown,N.F.;Boddey,J.A.;Flegg,C.P.and Beacham,I.R.(2002).Adherece of Burkholderia pseudomallei Cells to Cultured human epithelial Cell lines is regulated by growth temperature.Infect Immun.70(2):974-980.

17 - Nimtz,M.;.(1997). Wary, V,; Domke, T,; Brenneke, B.; Haussler,S. and Steinmetz,IStructure of and acidic exopolysaccharide of Burkholderia pseudomallei .Eur.J. Biochem. 250:608-616.

18 - Dance D.A.(2000): Melioidosis as an emergining global Problem. Acta Tropica. 74(2-3):115-119.[Pubmed: 10674638].

19 - Griffith,E.,Chart,H.and Stevenson,P.(1988).High affinity iron up take system and bacterial Virulence, in J.A. Roth (Ed), Virulence mechanisms of bacterial Pathogens. American society Microbiology, Washington,D.C. Pp:121-137.

20 - Senesi, S.; Chelardi,E.; Celandroni, F.;Salvetti,S,;Paristo ,E. and Galizzi, A. (2004). Surfase- associated flagellum formation and swarming differentiation in Bacillus subitilus controlled by the ifm locus .J.Bacteria .186(4)-1164.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

21 - Currie B.J.(2003) : Melioidosis: an important Cause of Pneumonia in residents of and travelers returned from endemic regions. The European Respiratory Journal,;22(3):542-550.[Pubmed:14516149].

22 - Valade E.; Thibault F.M.; Gauthier Y.P.; Palencia M.;popoff M.Y.;vidal D.R.; The fPmll-PmIR(2004). quorumsensing system in Burkholderia pseudomallei plays a key role in virulence and modulates production of the MprA protease. Journal of Bacteriology.; 186(8):2288-2294. [Pubmed:15060030] .

23 - Anuntagool ,N . ; Aramsri , P . ; Panichakul , T . ; Wuthiekanun , V . R . ; Kinochita, R . ; White , N . J . and Sirisinha , S . (2000) .Antigenic heterogeneity of lipopolysaccharaide among Burkholderia pseudomallei Clinic isolates.Southeast-Asian.J.Trop. Med.Public Health.1:146-52.

24 -White N.J. ; Dance D.A.; chaowagul W.; Wathanagoon Y. ; wuthiekanun V. ; Pitakwatchara N. (1989). September Halving of mortality of severe melioidosis by ceftazidime . lancet 2(8665): 697-701. PMID 2570956.

25 - Nester, E.W.; Anderson, D.G.; Roberts, C.E., Jr.; Pearsall, N.N. and Nester, M.T. (2001). Microbiology A Human Perspective (3rd ed.). McGraw- Hill Higher Education ,New York.

26 - Mandal S, Mandal MD, Pal NK (2004). Evaluation of combination effect of ciprofloxacin and cefazolin against Salmonella enterica serovar typhi isolates by in vitro methods. Calicut Med J. 2(2): e2.

27 - Walsh A.L.; wuthieknaun V. December (1996). Burkholderia pseudomallei. Virginial pathogen database. Retrieved on 2006-03-26. The laboratory diagnosis of melioidosis. British Journal of biomedical science 53(4):249-53. PMID 9069100.

28 - Shalom G; shaw J.G.; Thomas M.S. August (2007). In vivo expression technology identifies atype VI secretion system locus in Burkholderia pseudomallei that is induced upon invasion of

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional

macrophages. Microbiology 153(pt8): 2689-99. doi: 10. 1099/mic.0.2007/006585-0. PMID 17660433.

29 - Kondo ,E.;Petkanchanapony,V.; Naigowit,P.; Kurata, T.and Kanai, K(1991). Demonstration of acid phosphatase activity in antigenic glycoporation fraction obtained from the culyure filtrate of Burkholderia pseudomallei J.Med.Sci .Biol. 44 (5-6):213-24.

30 - Julkowska,D. ; Obuchowsk , M. ;Holland ,I.B and seror ,S. J. (2005). Comparative analysis of the development of swarming communities of Bacillus 16Sand natural Wild type:critical effect of surfaction and thecomposition of medium .J.Bact.187(1):65-76.

Created with nitroPDF professional
download the free trial online at nitropdf.com/professional