الترقيم الدولي ٨٦٩٠ - ١٩٩١ ISSN 1991- 8690

مقاومة جرثومة Pseudomonas aeruginosa المعزولةمن اصابات سريرية مختلفة لبعض المضادات الحيوية

سناء مهدي عريبي

جامعة ذي قار - كلية التربية- قسم علوم الحياة

الخلاصة

تم في هذه الدراسة عزل وتشخيص جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* من اصابات سريرية مختلفة .العدد الكلي لهذه العينات كان ١٢٩ عينة وهي الجروح والحروق و التهاب المجاري البولية وحالات التهاب الاذن الوسطى هي الاصابات التي تم جمعها وكذلك اظهار مدى مقاومتها للمضادات الحيوية والتي كانت ١٥ مضادا .

وكان العدد الكلي لعزلات *P. aeruginosa* هو ٣٨ من مجموع ١٢٩ عينة توزعت العينات الموجبة بواقع ١٢ من اصل ٣٨ عينة اصابات للاذن الوسطى و٨ من اصل ١٩ عينة من اصابات الحروق و١٠ من اصل ٥٠ عينة التهاب المجاري البولية والجروح ٨ من اصل ٢٢ عينة . وقد تم تحليل مدى مقاومة هذه العزلات البكتيرية تجاه المضادات المستعملة حيث كانت اعلى مقاومة للـ pencillin , ampicillin كانت بنسبة ١٠٠% واقلها مقاومة هي المضاد ات الحيوية ciprofloxacin ,azthromycin, Amikacin وكانت بنسبة٣٠% و ٢٢% و١٨%و وعلى التوالي.وعلى ضوء تلك النتائج اوضحت الدراسة ان العزلات التي تم دراستها من النوع المقاوم للعديد من المضادات *Pseudomonas aeruginosa* Multi Drug Resistant (MDRPA) واوضحت النتائج ان الجنس والعمر وتناول المضادات بشكل عشوائي جميعها تساعد على الاصابة .

المقدمة:

تعود جراثيم الزوائف الزنجارية *P. aeruginosa* الى عائلة pseudomonadaceae. (Holt *etal.*,1994) . وهي جراثيم عصوية سالبة لصبغة كرام متحركة بوساطة واحد من الأسواط القطبية (Polar flagella) غير مكونة للابواغ ولا تمتلك المحفظة (Capsule) وهي هوائية إجبارية تنتج عدداً من الصبغات الذائبة في الماء ، موجبة لأنزيمي الكتاليز والاوكسديز و لا تخمر الكاربوهيدرات ، لكن معظم سلالاتها تخمر الكلوكوز وتنمو بدرجة حرارة (42) مْ مما يميزها عن الأنواع الأخرى التابعة لجنس *Pseudomonas* ، كما انها تتميز بإنتاجها للصبغة Pyocyanin التي تنتشر في الوسط الزرعي إذ تظهر المستعمرات بلون أخضر مزرق على وسط اكار المغذي (Nutrient Ager) بينما تظهر المستعمرات شاحبة اللون على وسط اكار الماكونكي (MacConkey Agar) .وبعض سلالاتها تكون محللة للدم فتنتج مستعمراتها تحللا كاملا للدم (Beta haemolysis) على وسط أكار الدم(Blood Agar) (Pollack,2000) و(Baron *et al.*,1994) .تمتلك جرثومة *P. aeruginosa* القدرة على مقاومة العديد من المضادات الحيوية كما تتميز بمقاومتها للعديد من المطهرات والمعقمات وقدرتها على العيش فيـــها(Gupte , 1982) .

فضلا عن ذلك فان جرثومة *P. aeruginosa* لها القدرة على إفراز الذيفانات الخارجية مثل الذيفان الخارجيA (Exotoxin A) الذي يعمل على تثبيط عملية التخليق الحيوي للبروتينات ، وكذلك الذيفانات الداخلية (Endotoxin)والذيفانات القاتلة لكريات الدم البيض (Leucocidin) كما إن هذه الجرثومة تستطيع إن تستخدم متعدد السكريات الدهني (Lipopolysaccharide L . P. S) كأحد عوامل الضراوة إذ يؤدي وجوده في الجسم إلى قصور في فعالية الكثير من الأعضاء مثل الكبد والكلية والرئة والغدة الادرينالية.(Brooks *e t al.*,2001) .

تنتشر هذه الجراثيم بشكل واسع في الطبيعة إذ توجد في الماء والتربة وعلى النباتات والحيوانات وتوجد بإعداد قليلة في الأمعاء وعلى جلد عدد من الأشخاص الطبيعين وفي البيئات الرطبة للمستشفيات إذ تعد من المسببات المهمة والرئيسة لاخماج المستشفيات (Hospital Infections) لاسيما التهابات الحروق (Burns Infections) والتهابات الجروح (Wounds Infections) وهي جراثيم انتهازية لها القدرة على أحداث الإصابات المختلفة فتسبب التهاب أغشية الدماغ (Meningitis) والتهاب المجاري البولية (Urinary Tract Infection) وعدد من الإصابات الخطيرة للعين (Eye Infection) والتهاب الأذن الوسطى (Otitis media) كما تسبب هذه الجرثومة إصابات الجهاز التنفسي (Respiratory Infection) ومنها التهاب الرئة (Pneumoniae) لاسيما في الأشخاص المصابين بمرض التليف الكيسي (Cystic fibrosis). (Hauser *et al.*, 1998)و (Bruno *et al*, 1998) .

كما إن جرثومة *P.aeruginosa* بإمكانها إن تغزو مجرى الدم وتسبب التسمم الدموي(Septicemia) والأشخاص المثبطين مناعيا فضلا عن إصابة الأطفال الرضع والأشخاص الضعفاء مناعي(Murray *etal*. ,2003) وبسبب هذة الاهمية على الصعيد الطبي فقد اخضعت هذه الجرثومة الى دراسات عديدة لمعرفة اسباب ضراوتها وقابليتها على احداث الاصابة ونمط استجابتها للمضادات الحياتية(Myrvic & Weiser,1988).

المواد وطرائق العمل :-

تم جمع (١٢٩) عينة من اصابات مختلفة من جسم الإنسان (الإذن ,الادرار ,والجروح , والحروق) من المرضى المراجعين لمستشفى الحسين التعليمي في الناصرية للفترة من (شهر تشرين الثاني إلى شهر نيسان لعام ٢٠٠٩) وتم اجراء عددا من الفحصوصات التشخيصية للعزلات قيد الدراسة ودراسة بعض الصفات التصنيفية لهذه العزلات .وقد شخصت الجراثيم اعتمادا على الصفات الشكلية والفحوصات الكيموحيوية ومن هذه الفحوصات النمو على وسط الماكونكي وفحص الاوكسيديز وفحص الكاتليز ، الفحص باستخدام صبغة كرام للتأكد من ان *العزلات جميعها تعود لنوع P. aeruginosa . وفحص استهلاك السترات باستخدام* وسط سترات السيمون وفحص انتاج انزيم اليوريز ،النمو في درجة حرارة ٤٢م ° .حضرت الاوساط حسب تعليمات الشركة المصنعة لها والمثبته على العبوات وعقمت بالمؤصدة .

تم التحري عن استجابة الجراثيم للمضادات الحيوية قيد الدراسة حسب طريقة (Kirby-Baure ,1966) وكما ذكرت من قبل(Prescott *et al.*,1990)

وذلك باستخدام اقراص جاهزة من المضادات الحيوية حيث تم زرع الجراثيم بعد تشخيصها على وسط مولر – هنتون الصلب muller –Hinton Agar بطريقة التخطيط ومن ثم تم قياس قطرتثبيط النمو حول كل قرص .واستخدمت المضادات الحيوية :

Penicillin (P) 10 µg	Ampicillin (AMP) 10 µg	Ticarcillin (Tc) 75 µg
Cefixime (CFM) 5 µg	Amikacin (AK) 30 µg	Gentamicin (CN) 10 µg
Tobromycin (TOB)10µg	Ciprofloxacin(CIP)5 µg	Tetracycline(TE)30 µg
Chloramphenicol(C)30µg	Rifampin(RA)5µg	Azithromycin(AZM)15 µg
Co-trimoxazole(SXT)25µg	Azteronam(ATM)30µg	Colistin(CT)10 µg

تم اعتماد اسلوب التحليل الاحصائي (ANOVA) باستخدام برنامج (ssps) لتحليل نتائج وتحت مستوى (٠,٠٥).

النتائج والمناقشة :

موقع الاصابة :

بعد جمع ١٢٩ عينة سريرية مختلفة تم الحصول على ٣٨ عزلة لجرثومة *P. aeruginosa* توزعت بين ١٢عزلة من اصل ٣٨ عينة من التهاب الاذن ١٠ عزلات من اصل ٥٠ عينة من اصابات الجهاز البولي فضلا عن ٨ عزلات لكل من العينات المأخوذة من الجروح والحروق البالغة ١٩ و ٢٢ على التوالي *كما هو موضح في جدول* (١).

جدول (١) االنسب المئوية لجرثومة *P. aeruginosa* المعزولة من اصابات الجسم المختلفة

منطقة الاصابة	عـــــدد العـــــزلات PSEUDOMONAS AERUGINOSA	العدد الكلي	النسبة المئوية
مسحة الاذن	١٢	٣٨	٣١,٥
عينة الادرار	١٠	٥٠	٢٠
التهاب الحروق	٨	١٩	٤٢,١
التهابات الجروح	٨	٢٢	٣٦,٣
المجموع	٣٨	١٢٩	٣١

ان جراثيم *P . aeruginosa* تسبب العديد من الإصابات منها التهابات الجروح (Wounds Infections) والحروق وانها جراثيم انتهازية لها القدرة على أحداث الإصابات المختلفة فتسبب التهاب المجاري البولية (Urinary Tract Infection) والتهاب الأذن الوسطى (Otitis media) وعدد من الإصابات الخطيرة للعين (Eye Infection) كما تسبب هذه الجرثومة إصابات الجهاز التنفسي (Respiratory Infection) ومنها التهاب الرئة (Pneumoniae) *(Herfindal and Goulery, 2000)* كما موضح في الجدول الذي يبين توزيع الاصابة لجراثيم.*P. aeruginosa* حسب موقع الاصابة نتائج الدراسة الحالية تبين ان الحروق اعلى نسبة وهي(٤٢,١%) وهذا يعزى الى انتشار الجراثيم من هذه البيئات مثل المستشفيات وكذلك تعرض الحروق والجروح لها وفضلا عن ماتمتلكه هذه الجراثيم من عوامل ضراوة مثل السموم والانزيمات وهذه النتائج تتفق مع دراسة كلآ من (Kolomos *etal,1993)* و *(Xu etal,2003)* اذ وجدا ان نسبة الاصابة بهذه الجرثومة كانت ٣٥% وهذه مقاربة الى نتائج الدراسة الحالية وتلتها الجروح ونسبتها (٣٦,٣%) و التهابات الاذن والوسطى(٣٤,٢%) واقل نسبة هي الالتهابات المجاري البولية (UTIs)بنسبة ٢٢% وهذه النتائج مقاربة الى نتائج (Verhz et al. 2003) اذ وجد ان جراثيم *P. aeruginosa* تكون اكثر في اصابات المجاري البولية .

ومختلفة مع *(Nihad etal. ,2003)* الذي اشار الى ان نسبة هذه الجرثومة تكون اقل في اصابات المجاري البولية حيث تكون نسبتها ١٧% .

عزل وتشخيص الجراثيم:

وقد اظهرت النتائج انه ٣٨عزلة كانت تتميز بصفات منها تكون مستعمرات كبيرة الحجم ودائرية خشنة ما عدا بعض عزلات الجهاز البولي فتكون مستعمراتها صغيرة الحجم ناعمة *وكذلك انتاج صبغة* Pyocyanin وانتشارها على سطح*nutrient agar* (Brooks *et al. ,2001*) .كل العينات كانت تنمو على وسط Blood agar

وكذلك على وسط Macconkey agar وتظهر تحت المجهر عصوية صغيرة مفردة سالبة لصبغة كرام متحركة غير مكونة للمحفظة والابواغ (Collects *etal*.,1996) كما موضح في الجدول (٢) .

جدول (٢) الاختبارات الكيموحيوية التشخيصية لجرثومة *P. areuginosa*

TEST	RESULT
Gram stain	−
Catalase	+
Pigment production Pyocyanin	+
Oxidase test	+
Motitily	+
ß -Hemolysis	−
Indole test	−
H2s production	−
Methyl red	−
Growth at 42C°	+
Simmons citrate	+
Gelatin hydrolysis	+

تأثير الجنس على الإصابة بجراثيم P. aeruginosa :

يبين جدول (٣) تأثير الجنس وعلاقته بالإصابة بجراثيم ونتائج الدراسة بينت انه توجد فروق معنوية $P<0.05$ بين الذكور والإناث يبين جدول (٣) الأعداد المسجلة من إصابات الذكور ٢٤ وبنسبة (٣٦,٢%)وكانت اصابات الاناث ١٤ وبنسبة (٣٥%) وهذا التنوع في الإصابة يتفق مع دراسة كلآ من *(Anonymous ,1997)*و*(Suman etal.,2005)*وهنا الاختلاف ربما يعود إلى اختلافات اجتماعية أو اختلافات فسلجية بين الذكور والإناث فضلا عن قيام الذكور ببعض العادات مثل السباحة التي ترافق التهاب الإذن الوسطى (Verhaz et al., 2003) .

جدول (٣)تأثير الجنس على الإصابة با لجراثيم *P. aeruginosa*

الجنس	الاصـــــابة بجـــــراثيم PS. AERUGINOSEA	النسبة المئوية
ذكور	٢٤	٦٣,٢%
إناث	١٤	٣٥%
المجموع	٣٨	%١٠٠

تأثير العمر على الإصابة :

أظهرت النتائج إن الفئة العمرية (١-١٥) سنه والفئة العمرية (٤٦-٦٠)سنه تكون أكثر إصابة كما هو موضح في الجدول (٤)وقد وجد *(Herfindal&Goundy,2000)*إن الأطفال والأشخاص كبار السن يكونون عرضه للإصابة مقارنة مع الفئات العمرية الأخرى وذلك قد يعود إلى نقص المناعة وسوء التغذية والجهل الصحي وهذا يؤدي إلى فرصة اكبر للإصابة*P. aeruginosa (Suman etal ,2005)* .

جدول (٤) يبين تأثير العمر على الإصابة بجراثيم *P. areuginosa*

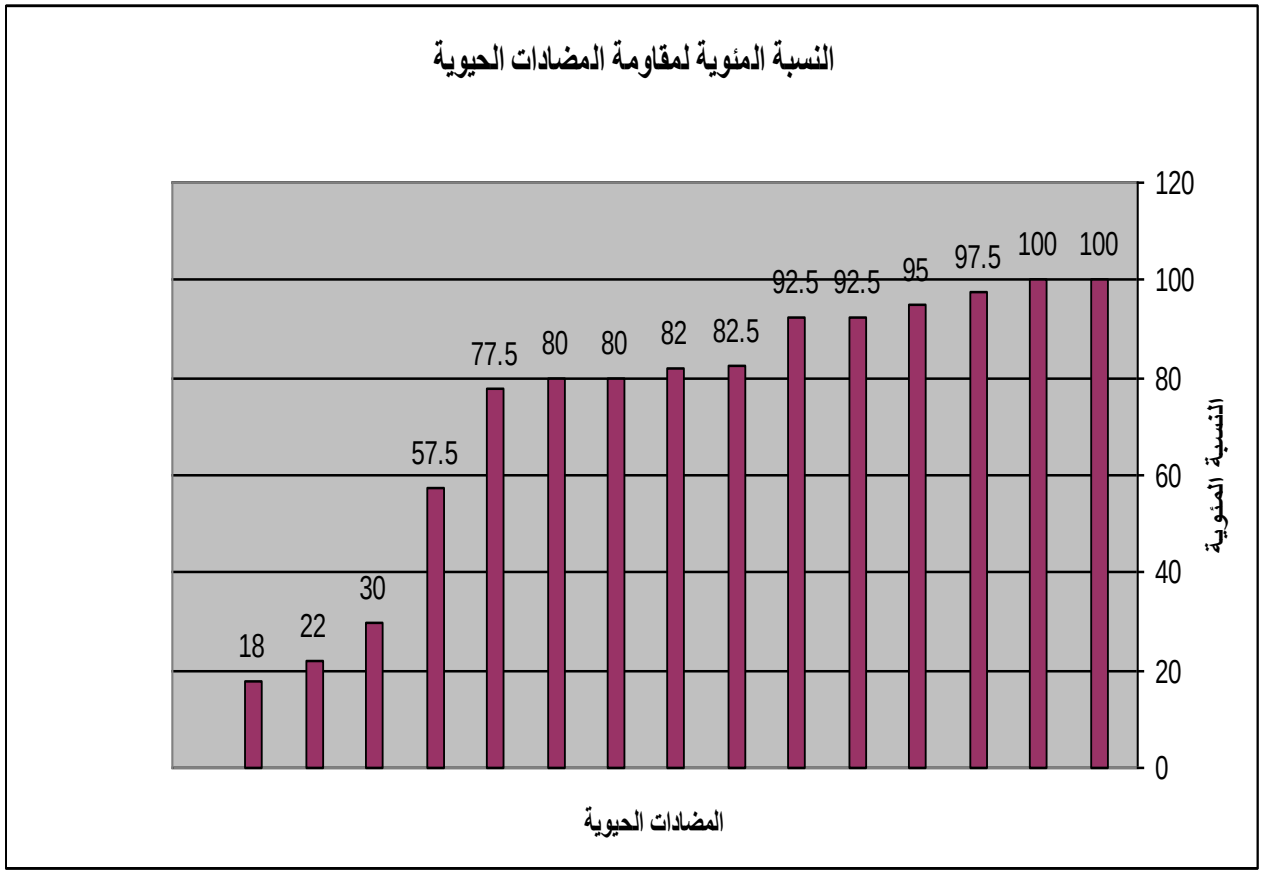
الفئة العمرية (سنة)	عدد الاصـــابة بجـــراثيم PS. AERUGINOSEA	النسبة المئوية
(١-١٥)	١٥	%٣٩,٥
(١٦-٣٥)	٧	١٧,٥ %
(٣٦-٤٥)	٥	١٢,٥ %
(٤٦-٦٠)	١١	%٢٨,٩
المجموع	٣٨	%١٠٠

المقاومة للمضادات الحيوية :

ان الاستخدام المستمر والمفرط للمضادات الجرثومية ادى الى ظهور عزلات مرضية متعددة المقاومة اذ اصبحت تمثل مشكلة شائعة عالميا بسبب الانخفاض التدريجي لاعداد المضادات الجرثومية الفعالة في علاج الحالات المرضية (Macovei & Zurrek, 2006).

تبين النتائج كما موضح في الشكل (١) وجود نسب مختلفة من المقاومة للمضادات الحيوية المستعملة اذ اظهرت جميع العزلات مقاومة للمضادات pencillin,ampcillin, بنسبة ١٠٠ % وتلاها المضاد chloramphenicol بنسبة ٩٧,٥ % والمضاد rafamycinبنسبة ٩٥ % وكل من المضادين tetracycline و co-trimoxazole بنسبة ٩٢,٥ % وبنسبة اقل كل من gentamtcin,ticarcillin أي بنسبة ٨٢,٥% وكل من cefixime aztreonam بنسبة ٨٠ % بينما اظهرت العزلات مقاومة متوسطة للمضادات colistin بنسبة ٧٧,٥ % و tobromycin بنسبة ٥٧,٥% وكانت اقل نسبة مقاومة لمضادات , azthromycin , ciprofloxacin, Amikacin وكانت ١٨% و ٢٢ % و٣٠%على التوالي .بينت نتائج الدراسة وجود مقاومة عالية لبعض مضادات البيتالاكتام ومنها , cefotaxime , tetracycline وتعتبر هذه النسبة طبيعية بسبب الاستخدام العشوائي للمضادات.

وتتفق هذه النتيجة مع (Danel *etal*., 1999) الذين وجدوا نسبة مقاومة عالية لمضادات السيفوتاكسيم بين عزلات *P. aeruginosa* ومن جانب اخر اظهرت الدراسة نسبة مقاومة معتدلة لمضادات الامينوكلايكوسيدات بين العزلات وخاصة amikacin والذي يعد بذلك من المضادات الكفؤة في تأثيرها على العزلات المرضية لبكتريا *P. aeruginosa* وتتفق هذه النتيجة مع ما اشار اليه الباحثان Jacoby & Archer (1991) وتبين نتائج الدراسة ان افضل المضادات في تأثيرها على هذه البكتريا هو مضاد ciprofloxacin والذي يعود لمجموعة الكوبيولونات الحديثة والتي تمتلك طيفا واسعا ضد البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام على حد سواء وسجلت هذه الملاحظة نفسها من قبل (Mouneimne *et al*., 1999) اما فيما يخص نسبة المقاومة للمضادات الاخرى فنلاحظ نسبة المقاومة العالية لمضادات البنسلين والامبسلين بين العزلات فقد جاءت متوافقة مع العديد من الباحثين (Laurence *et al*., 1997).



P=Pencillin ,AM=Ampincillin ,TC=Ticarcillin ,ATM=Aztreonam ,TOB=Tobromycin ,CIP=Ciprofloxacin ,SXT=Co-trimoxazole ,C=Chloramphenicol ,CT=Colistin ,RA=Rifampin ,TE=Tetracycline ,AZM=Azithromycin , CFM=Cefixime ,AK=Amikacin ,CN=Gentamycin

شكل (١) النسبة المئوية لمقاومة جراثيم *Pseudomonas areuginosa* للمضادات الحيوية

References

♦Anonymous . (1997) . National Nosocomial Surveillance (NNIS)report , data summary from October 1986–April 1997, issued May 1997 .A report from NNIS system .Am. J. Infect. Control ,25 : 477 – 487 .

♦Baron,Et.; Peterson,L.R. and Finegold,S.M. (1994). Bailey and Scoffs Diagnostic Microbiology . 9th ed., the C. V. Mosby, Co.,USA. p. 386 – 403 .

♦Bauer,A.W.; Kirby,W.M.M.; Sherries,J.C. and Turk,M. (1966). Antibiotic Susceptibility Testing by a Standardized Single Disc Method. Am.J. Clin. Pathol., 45 : 493 – 496 .

♦Brooks,G.F. ;Butel,J.S. and Morse,S.A. (2001). Jawetz, Melnik and Adel berg's. Medical Microbiology. 22nd ed . p. 229–231. Medical East ed ; Appleton Large.

♦Collee, J.G .; Fraser,A.G. ; Marmion,B.P. and Simmons,A. (1996). Mackie and Mecartney . Practical Medical Microbiology. 14th ed .,Churchill Living stone, USA. p.413 – 424 .

♦Dannel, F.; Hall, L .;Duke,B.;Cur,D. and Livermore , D. (1999) . OXA-17, afurther extended spectrum variant of OXA-10 ß-Lactamase , isolated from P. aeruginosa . Antimicrob. Agents Chemother . 43(6) : 1362-1366.

♦ Gupte, S.(1982) .Short Text Book of Medical Microbiology.1st ed . Jaypee Brothers Medical publishers , India

♦Herfindal, E.T. and Gourley,D.R. (2000) . Textbook of Therapeutics ,Drug and Disease Management 7th ed . Lippincott Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Co., USA.p.1049-1054.

♦Holt,J.G.; Kreig,N.R; Sneath,P.H.A; Staley,J.T and Williams,S.T. (1994). Bergey's Manual of systemic Bacteriology. 9th ed. The Williams & Wilkns Co., Baltimore ,Md.p.98.

♦Hugh,R. and Gilardi,G.L. (1974). Pseudomonas .In manual of Clinical Microbiology .2nded. Ed. E.H.Lenntte,E.H. Spaulding and J.P.Truant. Washington D.G.:American Society for Microbiology .p.250-69.

♦ Hauser , A.R. ; kang, P.J. and Engel , J. N . (1998) . PepA , a secreted protein of Pseudomonas aeruginosa , is necessary for cytotoxicity and virulence . J. Molecular Microbiology , 27 (4) : 807 - 818.

♦Jacoby, G . A. and Archer , G. L. (1999) .New mechanisms . N . Engl . J .Med .28:601-6010 .

♦Kolmos,H.J.;Thuesen,B. ; Nielsen,S.V.; Lohmann,M.; Kristoffersen,K. and Rosdahi,V.T. (1993). Outbreak of Infection in Burns Unit due to P.aeruginosa .

♦Laurence ,D.R.;Bennett,P.N.and Brawn, M.J. (1997).Clinical pharmacology .8th ed. Churill Livingstone .London .

♦Mouneimne ,H. ; Robert , J.;Jarlier , V . and Cambua ,E. (1999) .Type II topoisom erase mutation in ciprofloxacin resistant strains of P . aeruginosa . Antimicrob . Agents Chemother 43 (1) : 62 -66.

♦Murray,P.R.; Baron,F.J.; Ellen,J. and James,H. (2003). Manual of Clinical Microbiology .8th ed.Vol.1. Asm press, Washington, D.C.p.719-728.

♦ Myrvic,Q.N. and Weiser, R.S. (1988) . Fundamentals of Medical Bateriology and Mycology . 2nd ed.Leu and Febiger . Library of congress cataloging in publication Data.

♦Nihad ,A.; Wa'ad,M. and Sheelan,A. (2002). Prevalence and Antibiogram Profile of P.aeruginosa Isolated from Patients Attending STH At Tikrit city . The Medical Journal of Tikrit University. 8 : 61 – 67 .

♦ Macovei, L. and Zurek, L. (2006).Ecology and antibiotic resistance genes: Characterization of Enterococci from houseflies collected in food settings. Appl. Environ. Microbiol., 72(6):4028-4035.

♦Pollack,M. (2000). P. aeruginosa .In G.L.Mandell ,J.E.Eennett and R. Dolin (ed) Principles and Practice of Infectious Diseases .5th Ed . Churchill Livingstone , Inc. New York .p.1980-2003.

♦Prescott, L.M .and Harley,J.P.and Klein , D.A. (1990). Microbiology.First ed. Wm . C.Brown U.S.A.P. 123,430,575.

♦Suman,E.; Varghese,S. and Jose,J. (2005) . Gentamicin resistance in Biofilm producing infections .Indian J.Med.Sci. 59 :214 -216.

♦Verhaz, A. ; Skrbic,R. ; .Rakic– Music,M. and Sabo,A. (2003) .Catheter related urinary infections at the clinical center in Banjaluka .Med –Pregl. 56 (9-10): 460 – 4 .

♦Xu, Y. ; Li,T. ; Qi,S.; Shen,R. ;Shen,R. ;Chen,D. ; X.Ben and Zou,Y. (2002). An investigation of bacterial epidemiology and an analysis of bacterial resistance to antibiotics in a burn unit from 1993-1999 .Zhonghua – shao-shang Za-Zhi .18 (3) :159- 62 .

THE RESISTANCE OF *Pseudomonas aeruginosa* ISOLATED FROM CLINICAL CASES TO some ANTBIOTICS

Summary

This study was conducted for the isolation and identification of *P.aeruginosa* from different clinical cases. The total number of samples were 129 sample wounds; burns; urinary tract ; chronic otitis media infections and were collected from and detection of their susceptibility for 15 antibiotic .

The total number of isolated and confirmed *P.aeruginosa* were 38 out from 129 samples.

The distribution of positive isolates were 12 from 38 cases otisit infections ; 8 from 19 samples of burnes ; 10 from 50 samples of urin ;8 from 22 samples of wounds .All isolates show A high perecentage of resistance (100%) aginst penicillin and ampicillin .the lower resistance was registrated aginst Amikacin (30%), azthromycin (22%) ;ciprofloxacin (18%). According to the results our isolates were in consistent with what is called Multi Drug Resistant *P.aeruginosa* (MDRPA) .The results of this study show that sex ;age and proloned antimicrobial admistration were fundamental factoers in reasing the chance of infection .