

دراسة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز من بكتريا *Burkholderia cepacia*

م.م.زید ناجي حسن^١ و م.م.رائد خماس عبد الكريم^٢ م.م.و أسيل رزاق كاظم^٣ و م.م.رشا محمد
ساجت^٤

(١) و ٤) قسم علوم الحياة/كلية العلوم/الجامعة المستنصرية

(٢) وزارة الصحة

(٣) قسم علوم الحياة /جامعة واسط

الخلاصة

في دراستنا الحالية تم الحصول على 5 عزلات تعود لبكتريا *Burkholderia cepacia* من بين 200 عينه مختلفه شملت عينات ادرار وقشع وجروح وحروق وبنسبه عزل 2.5% واختبرت حساسيه هذه العزلات لبعض المضادات الحيويه مثل Amoxycillin ,ciprofloxacin,ceftazidime,cefotaxime,imipenem,ceftriaxone,gentamicin وظهرت العزلات مقاومه عاليه للمضادات المستخدمه وكانت جمع العزلات مقاومه لمضادي الاموكزيسيلين و السفترياكسون بينما كان جميعها حساسه لمضاد الامينيم . من جانب اخر اظهرت عزلتان قابليتها على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز ولم تكن لأية عزله القابليه على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف.

Study of B- Lactamases production from *Burkholderia cepacia*

Asst.Instructor.Zaid N. Hassen , Asst.Instructor.Raid K. Abdul-Karim
,Asst.Instructor. Assil R. Khathem and Asst.Instructor.Rasha M. Sajet

Abstract

The results revealed that only 5 isolates {2.5%} were diagnosed as *Burkholderia cepacia* from 200 clinical samples were collected (urine,sputum,wound and Burns) from patients in some Baghdad hospitals .

Antibiotic sensitivity test was carried out for *Burkholderia cepacia* , The results showed that 5 isolates were highly resistant to antibiotics ,all isolates were resistant to amoxicillin and cftriaxome,while all isolates were sensitive to imipenem. The result for screening Beta-lactamase showed that 2 isolates were able to produce Beta- lactamase but no one of isolates were able to produce Extended Spectrum Beta-lactamases (ESBLs) .

المقدمة

بكتريا *Burkholderia cepacia* عصيات سالبة لصبغة كرام يتراوح شكلها بين العصوي والعصوي القصير واحيانا (3-1.5) مايكرون طولاً وتنمو بين (٣٧-٢٥)مئوي فيما تكون ضعيفه النمو في ٤٥ مئوي اما درجة الحرارة المثلى لنموها (٣٥-٣٠)مئوي وهي مكونه للسبورات هوائية, متحركه باسواط قطبيه منتجه لصبغات غير متآلقه (١)

صنفت بكتريا *Burkholderia cepacia* اول الامر ضمن جنس *pseudomonas* واعيد تصنيف هذه البكتريا مع ستة انواع اخرى من جنس *pseudomonas* في جنس جديد يسمى *Burkholderia* نسبة الى مكتشفها (٢)

تتواجد هذه البكتريا في البيئه الطبيعیه مثل التربه و الانهار وسطوح النباتات وفي مياه المجاري و المياه المخزونه وهذا ساهم في انتشارها في البيئه لقدرتها على النمو على مصادر غذائيه بسيطه ومعقد (٣)

تعد بكتريا *Burkholderia cepacia* ممرض غير شائع في الانسان لكن هناك العديد من التقارير تشير الى الاصابات المختلفه التي تكون سبب فيها مثل التهاب شغاف القلب (endo carditis) والالتهابات الجلديه وتعفن القدم و اصابات الجروح و الحروق وتجترثم الدم (٤)

ممكن لهذه البكتريا ان تصيب الانسان والحيوان على حد سواء مسببة خراج الدماغ والتهاب العظام والتهاب السحايا (٥) تبدي بكتريا *Burkholderia cepacia* مقاومه متعددده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيويه وتحدث المقاومه باريح أليات تشمل قله نفوذية الاغشيه و انتاج الانزيمات المحلله للمضادات الحيويه مثل انزيمات البيتا لاكتاميز ووجود مضخات الدفع (efflux pump) فضلا عن تحويل موقع الهدف (٦) وتهدف الدراسه الحاليه لدراسه المقاومه المتعددده للمضادات الحيويه التي تبديها عزلات بكتريا *Burkholderia cepacia* المحليه المعزوله من عينات مرضية مختلفة فضلا عن التحري عن انتاجها لانزيمات البيتا لاكتاميز .

طرائق العمل

(١) العينات المرضية :

جمعت ٢٠٠ عينة من التهابات المجاري البولية والتهابات الرئة و الحروق و الجروح من مرضى مراجعين لمستشفى مدبنة الطب بغداد للفنزه من ١-٨-٢٠٠٧ ولغاية ١-١٢-٢٠٠٧ شخصت عزلات من بكتريا *B cepcia* اعتمادا على الفحوصات البايوكيميائية والفحوصات المظهرية للمستعمرات على اوساط اكار ماكونكي وبحسب ما ورد في (٧).

(٢) اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية التي تعود لبكتريا *B cepcia* للمضادات الحيوية الآتية :
Cefotaxime , ceftazidime , ciprofloxacin , amoxicillin , gentamicin , ceftriaxone , imipenem
باستخدام اكار مولر هنتون بطريقة الاقراص

(٣) الكشف عن انتاج انزيمات البييتالاكتاميز

اختبرت قابلية العزلات على انتاج انزيمات البييتالاكتاميز باستخدام طريقه اليود القياسيه السريعه وبحسب ما ورد في (٨)

٤ (انتاج انزيمات البييتالاكتاميز واسعة الطيف

تم الكشف عن قابلية العزلات عن انتاج انزيمات البييتالاكتاميز واسعه الطيف وحسب الطريقه (٩)

٥ (دراسة المحتوى البلازميدي

درس المحتوى البلازميدي للعزلات قيد الدراسه حسب الطريقه (١٠).

النتائج والمناقشة

تم في هذه الدراسة الحصول على ٥ عزلات تعود لبكتريا *B cepacia* من مجموع ٢٠٠ عينه ادرار وقشع وجروح وحروق بنسبة عزل (٢٠.٥%) تتوافق نسبة العزل في داستنا الحاليه مع نسبة العزل القليلة التي لاحظها الباحث (١١) الذي حصل على اعداد قليلة من بكتريا *B cepacia* لم تتجاوز ٤% من مجموع العزلات الكلي ان التشخيص المبكر لبكتريا *B cepacia* قد يحد من انتقالها وانتشارها في حالة حدوث اصابات خاصة انها مسؤولة عن امراض خطيره قد تصبح مميتة احيانا كما في حالة تسمم الدم (١٢) اختبرت حساسية عزلات الدراسة لبعض المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال في علاج الالتهابات في المستشفيات المحليه .وقد اظهرت النتائج (جدول ١) مقاومه عاليه بين عزلات الدراسة للمضادات المستعمله فكانت جميع العزلات مقاومه لمضادات amoxicillin و ceftriaxone بينما جميع العزلات حساسه لمضاد الامبنيوم و اربع عزلات مقاومه لمضادات ciprofloxacin و gentamicin و ceftazidime و cefotaxime.

جدول (١) مقاومة عزلات الدراسة للمضادات الحيوية المستعمله

رقم العزله	amoxycillin	ceftazidime	ceftriaxone	ciprofloxacin	imipenem	cefotaxime	gentamicin
1	R	R	R	R	S	R	R
2	R	S	R	S	S	R	R
3	R	R	R	R	S	R	S
4	R	R	R	R	S	R	R
5	R	R	R	R	S	S	R

R=مقاومه S = حساسه

ذكرت العديد من المصادر ان سبب زياده مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيوية في الجسم الحي يعود لقدرتها على انتاج متعدد السكريد الخارجي الذي يعطي الشكل المخاطي للعزلات فضلا عن قابليتها على تكوين الاغشيه الحيه (BIOFILM) لذلك تحمي البكتريا من تاثير المضادات الحيوية وعوامل المناعه (١٣) تبدي بكتريا *B cepacia* مقاومه متعدده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيوية مثل مضادات مجموعه الامينوكلايكوسيديه ومضادات الجيل الاول والثاني من السفالوسبورينات (١٤).

تم الكشف عن انتاج العزلات لانزيمات البتالاكتاميز وقد اظهرت عزلتن قابليتها على انتاج هذه الانزيمات بنسبة (٤٠%) ، بينما لم تكن لها القابليه على انتاج البيتالاكتاميز واسعه الطيف .

المصادر

- 1.Jewell, S.N(2000).Purification and characterization of novel protease from *Burkholderia* strain 2.2N master thesis submitted to the department of biology, state university, Blacksburg, VA.
- 2.Yabuuchi,E.;Kosako,Y.;OYZIO,H.;YANON,I.;Hotta.;Hashimoto,Y.;Ezaki ,T.and Arakawa, M.(1992).Proposal of *Burkholderia* gen nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group // to new genus, with type species *Burkholderia cepacia*. Microbiol.immunol.36:1251-1275.
- 3.Govan,J.R.W;Brown,P.H.;Maddison,J.;Doherty,C.J.;Ne-Ison,J.W.;Dodd,M.;Greening,A.P.and webb,A.K.(1993).Evidence for transmission of *pseudomonas cepacia* by social contact in cystic fibrosis.Lancet.342:15-19.
- 4.Pegues,D.;Carson,L.A.;Anderson,R.L.;Norgard,M.J.;Aargent,T.A.;Jarvis, W.R.and Woernle,C.H.(1993).Outbreak of *pseudomonas cepacia* bacterimia:Clinical features and Antimicrobial susceptibilities of isolates.J.infect.Dis.31(3):293

5.Smith,M.A.;Troweres,N.R.and Klein,S.R.(1985).Cervical osteomyelitis caused by *pseudomonas cepacia* in an intravenous drug abuser.J.Clin.Microbiol.21:445-446.

6.Wigfield,S.M.;Rigg,G.P.;Kavari,M.;Webb,A.K.;Mathews,R.C. and Burnie,J.P.(2002).Identification of an immunodominant drug efflux pump in *Burkholderia cepacia*.J.Antimicrob.AGE. Chem.49:619-624.

7. Greenwood, D.; Slack, R.C. and Peutherer, J.F. Medical Microbiology. (Sixteenth ed.). Churchill Livingstone.(2002).

8. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marimon, B.P. and Simmons, A. (1996).

Macki & MacCartney practical Medical Microbiology (eds.). Churchill Livingstone (14th) ed.

9. PATERSON,D.; ROBERT ,A. and BONOMO,A . *Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update* . Clinic. Microbiol. Reviews 18(4) ,2005, 657-686 .

10. Hejazi, A.; Keane, C.T. and Falkiner, F.R. (1997). The use of RAPD-PCR as a typical method for *Serratia marcescens*.J. Med. Microb., 46: 913.

11) الشيباني ، انتصار ناظم خلخال (2004):دراسه تصنيفيه للانواع البكتيريه التابعه لمجموعه *Pseudomonas* المعزوله من المستشفيات في بغداد وتأثير بعض العوامل عليها اطروحة دكتوراه مقدمه الى قسم علوم الحياه , كلية العلوم , الجامعة المستنصريه

12.Lacy,D.E.;Smith,A.W.;Lambert,P.A.;Peckham,D,;Stableforth,D.E.;Smith ,E.G.;Desai,M.;Weller,P.H.and Brown,M.R.(1997).Serum TgG response to an outer membrane porin protein oe *Burkholderia cepacia* in patients with cystic fibrosis FEMS.Immunol.Med. Microbiol.17(2);87-94

13.Huber,B.;Riedel,K.;Kothe,M.;Givskov,M.;Molin,S.and Eberl,L.(2002).Genetic analysis of functions involved in the late stages of biofilm development in *Burkholderia cepacia* H111.MOL.Microbiol.46(2);411-426.

14.Rosenstein,B.J.and Hall,D.E.(1980).Pneumonia septicemia due to *Pseudomonas cepacia* in a patient with cystic fibrosis.Johns Hopkins Med.J.147:188-189.