P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2015 ,(9), (2) :96-101

(JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

Open Access

دراسة الظروف المثالية لنمو بكتريا *Acinetobacter baumannii* المعزولة من الحالات المرضية.

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

* جامعة الانبار – رئاسة الجامعة

** جامعة الفلوجة – كلية الطب البيطري

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٠٠/٠٠
تاريخ النشر: ٣ / ٥ /٢٠١٧

DOI: 10.37652/juaps.2017.176984

الكلمات المفتاحية:

للسلوك الامتزازي،
معوضات حامض البنزويك،
التوصيل الكهربائي،
فحم منشط.

الخلاصة:

في هذه الدراسة، تم اختيار مائتي عينة سريرية لعزل بكتريا *Acinetobacter baumannii* 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 دراسة العديد من الظروف التي يمكن ان يكون لها تأثير على نمو بكتيريا *A. baumannii* والتي شملت حجم اللقاح، درجة الحرارة، درجة الحموضة و عدد ساعات الحضانة. اعطت العزلة IAN5 افضل نمو بعد دراسة الظروف المؤثرة على النمو وعلى النحو التالي حيث كان افضل حجم لقاح 4 مل /لتر و40 م° بالنسبة للدرجة الحرارة ، و7.5 بالنسبة للرقم الهيدروجيني و48 ساعة للفترة الحضن.

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).

المواد وطرائق 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

١ Corresponding author at: University of Anbar , Ramadi, Iraq;
E-mail address: dean_coll.science@yahoo.com

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 شـــملت 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 نظامVITEK 2 COMPACT**

النتائج والمناقشة:

وسط الماكونكي الصلب:

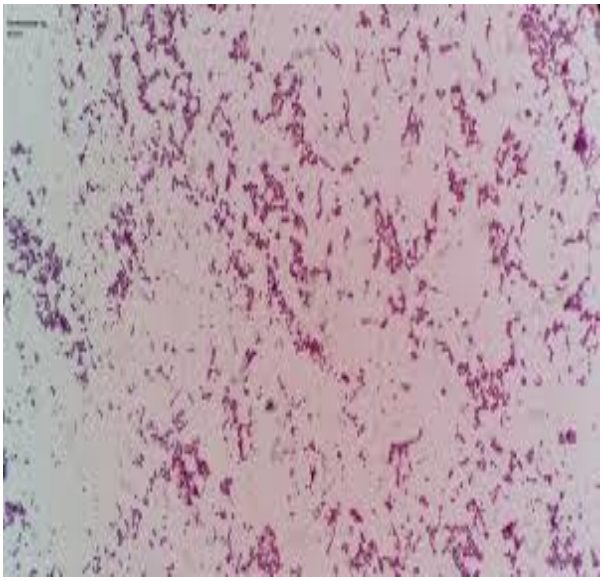
ظهرت المستعمرات البكتريا النامية على وسط الماكونكي مرتفعة، كريميه، ملساء، صغيرة، شاحبة اللون بسبب عدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز الموجود ضمن مكونات الوسط كما في الصورة رقم (1)، وكذلك كان نموها على وسط اكار الدم كما موضح في الصورة ٢.

الفحص المجهري:

ظهرت بكتريا *Acinetobacter* سالبة لصبغة غرام، غير مكونة للسبورات ، عصوية كروية الشكل coccobacilli كما في الصوره رقم (3).

صوره رقم (1) توضح شكل المستعمرات لبكتريا *Acinetobacter* النامية على وسط *baumannii* MaConkey agar

صوره رقم (2) توضح شكل المستعمرات لبكتريا *Acinetobacter* النامية على وسط *baumannii* Blood agar



صورة رقم (3) تظهر شكل بكتريا Acinetobacter على شريحه مصبوغة بصبغة غرام baumannii

الاختبارات الكيموحيوية :

اظهرت النتائج ان بكتريا *Acinetobacter* سالبة لفحص الاوكسيداز Oxidase (–ve) حيث بعد اضافة كاشف oxidase لم يتغير لون المستعمرة الى البنفسجي او الارجواني ، بينما موجبة لفحص الكتاليز (catalase +ve) فبعد اضافة الكاشف ظهرت فقاعات للدلالة على افراز بكتريا *Acinetobacter* لانزيم catalase الذي يحلل بيروكسيد الهيدروجين الى ماء واوكسجين، كما تعد البكتريا سالبة لفحص الاندول واحمر المثيل واختبار الفوكاس بروسكاور، ولكنها ايجابية لفحص استهلاك السترات(+ve Simmon citrate ،كما اظهرت النتائج بانها بكتريا غير متحركة اذ اعطت نتيجة سالبة لفحص الحركة اذ لم يظهر منطقة تضبب حول الطعنة في وسط الــشبه الصلب semisolid medium ، والجدول رقم (1) يوضح بعض الاختبارات الكيموحيوية.

الجدول رقم (1) يوضح بعض الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا *Acinetobacter baumannii*

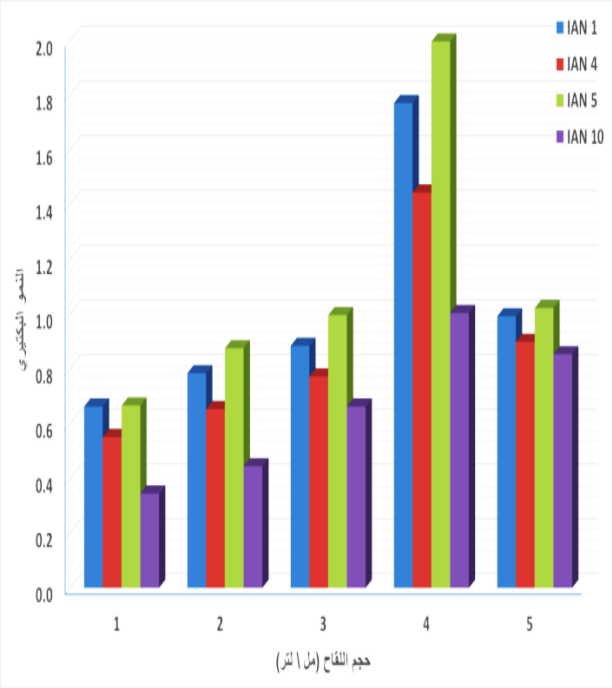
الاختبارات البايوكيمائية	*Acinetobacter baumannii*
Oxidase	–
Catalase	+
Indole	–
MR	-
VP	-
Citrate	+
Motility	-

دراسة الظروف المؤثرة في نمو بكتريا *A. baumannii*

أجريت التجارب باستخدام دوارق زجاجية مخروطية سعة 250 مليلتر حاوية على 100 مليلتر من الوسط الزرعي المستخدم وحسب نوع التجربة، وشملت التجارب على ما يأتي.

تأثير حجم اللقاح على النمو:

اظهرت النتائج ان افضل تركيز للقاح الذي اعطى اعلى نمو هو 4 مل /لتر وان افضل عزلة اعطت اعلى نمو هي IAN5 كما مبين في الشكل رقم (1).

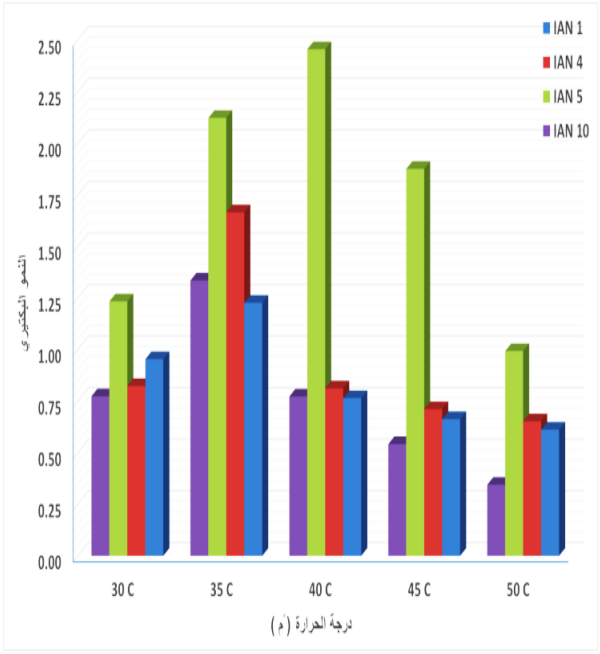


شكل رقم (1) يوضح افضل تركيز للقاح و افضل عزلة لبكتريا *Acinetobacter* اعطت اعلى نمو

تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع دراسات عديدة في تقدير حجم اللقاح الذي اعطى اعلى نمو لبكتريا *A. baumannii*، إذ أشار (5) الى ان افضل حجم لقاح اعطى اعلى نمو هو 4 مل/لتر، بينما لم تتفق هذه النتائج مع ما اشار الية (6) حيث توصل الى ان افضل حجم لقاح اعطى اعلى نمو لنفس البكتريا هو 2 مل/لتر، وقد يعزى سبب هذا الاختلاف في حجم اللقاح الى نوع المستخدم في التنمية او الظروف البيئية للعزلة.

تأثير درجة الحرارة على النمو:

اظهرت النتائج ان افضل درجة التي اعطى اعلى نمو هو 40م° وان افضل عزلة اعطت اعلى نمو هي IAN5 كما مبين في الشكل رقم (2).

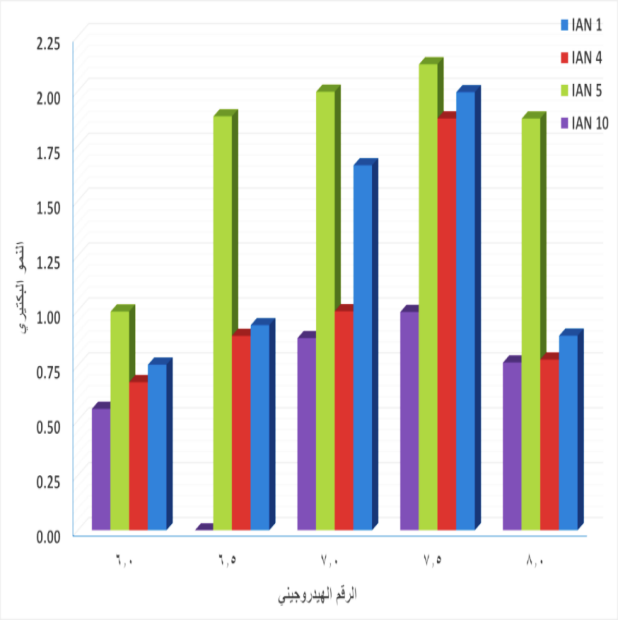


شكل رقم(2) يوضح افضل درجة حرارة اعطت اعلى نمو للعزلة *A baumannii* لبكتريا IAN5

تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع دراسات عديدة في تقدير درجة الحرارة التي اعطت اعلى نمو لبكتريا *A. baumannii* ، اذ اشار الباحث (7) من خلال دراسته للظروف البيئة لهذه البكتريا الى ان افضل درجة حرارة اعطت اعلى نمو هي 42م°، لم تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع ما اشار الية (8) حيث بين ان افضل درجة حراره اعطت اعلى نمو هي 45 م°، وقد يعزى سبب الاختلاف في درجات الحرارة الى مصادر هذه العزلة حيث بين الباحث (9) من خلال دراسته الى بكتريا *A baumannii* المعزولة من مصدرين مختلفين (خمج المسالك البولية ،وخمج الحروق) حيث اوضح ان البكتريا المعزولة من خمج الحرق اعطت اعلى نمو في درجة حراره 45م° ،بينما البكتريا المعزولة من خمج المسالك البولية اعطت اعلى نسبة نمو في درجة حراره 40م°.

تأثير الرقم الهيدروجيني على النمو:

اظهرت النتائج ان افضل رقم هيدروجيني اعلى نمو هم 7.5 كما مبين في شكل رقم (3).

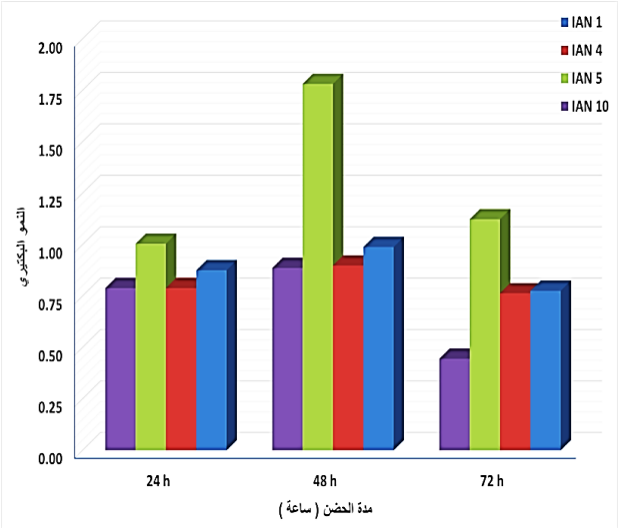


شكل رقم(3) يوضح افضل رقم هيدروجيني اعطى اعلى نمو للعزلة *A baumannii* لبكتريا IAN5

تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع دراسات عديدة في تقدير الرقم الهيدروجيني الذي اعطت اعلى نمو لبكتريا *A. baumannii* ، اذ اشار الباحث (10) من خلال دراسته للظروف البيئة لهذه البكتريا الى ان افضل رقم هيدروجيني اعطى اعلى نمو هي 7.5، لم تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع ما اشار الية (11)

تأثير فترة الحضن على النمو:

اظهرت النتائج ان افضل فترة حضن اعطت اعلى نمو هي 48 ساعة كما مبين في الشكل رقم (4).



شكل رقم(4) يوضح افضل فترة حضن اعطت اعلى نمو للعزلة *A baumannii* لبكتريا IAN5

تتفق النتائج التي توصلت إليها الدراسة الحالية مع دراسات عديدة في تقدير فترة الحضن الذي اعطت اعلى نمو لبكتريا *A. baumannii* ، اذ اشار الباحث (5) من خلال دراسته للظروف البيئة لهذه البكتريا الى ان افضل فترة حضن اعطت اعلى نمو هي 48 ساعة، واتفقت ايضا مع ما اشار الية الباحث (7) من خلال دراسته لبكتريا *A baumannii* المعزولة من خمج المسالك البولية حيث اشار الى ان فترة حضن اعطت اعلى نمو هي 48 ساعة.

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: Zhanel, G.G., Lawson, C.D., Adam, H., Schweizer, F., Zelenitsky, S., Lagace-Wiens, P.R., Denisuik, A., Rubinstein, E., Gin, A.S., et al,(2013). Ceftazidime–avibactam: a novel cephalosporin/beta-lactamase inhibitor combination. Drugs 73, 159–177.

6: Ting, C., Jun, A., Shun, Z.,(2013). Detection of the common resistance genes in Gram-negative bacteria using gene chip technology. Indian.

7: Rezaee, M.A., Pajand, O., Nahaei, M.R., Mahdian, R., Aghazadeh, M., Ghojazadeh, M., Hojabri, Z., (2013). Prevalence of Ambler class A beta-lactamases and ampC expression in cephalosporin-resistant isolates of Acinetobacter baumannii. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 76, 330–334.

8: Peymani, A., Nahaei, M.R., Farajnia, S., Hasani, A., Mirsalehian, A., Sohrabi, N., Abbasi, L.,(2011). High prevalence of metallo-beta-lactamase-producing Acinetobacter baumannii in a teaching hospital in Tabriz, Iran. Jpn. J. Infect. Dis. 64, 69–71.

9: Shahcheraghi, F., Abbasalipour, M., Feizabadi, M., Ebrahimipour, G., Akbari, N.,(2011). Isolation and genetic characterization of metallo-beta-lactamase and carbapenamase producing strains of Acinetobacter baumannii from patients at Tehran hospitals. Iran. J. Microbiol. 3, 68–74.

10: Pfeifer, Y., Cullik, A., Witte, W., (2010). Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. Int. J. Med. Microbiol. 300, 371–379.

11: Kim, Y., et al. (2014). "In vivo emergence of colistin resistance in Acinetobacter baumannii clinical isolates of sequence type 357 during colistin treatment." Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 79(3): 362-366.

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (2) :96-101

Study of Typical conditions for the growth of bacteria, *Acinetobacter baumannii* isolated from pathological cases.

Najeeb .M.Husseini[1*] , Ibrahim A. Abdul-Rahman[2] , Abd Al Wahab B. Hussien[2]

[*١] University of Anbar ,

[٢] University of Fallujah, College of Veterinary Medicine

E.mail: dean_coll.science@uoanabr.edu.iq

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 Several conditions which could have effect on *A. baumannii* growth have been studied which included size of the vaccine, temperature, pH and incubation time. given the IAN5 isolation best growth after studying affecting the growth and the following conditions where the best size for inoculum 4 ml / L and 40 ° C for temperature , and 7.5 for pH and 48 hours for the incubation time .