دراسة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز من بكتريا *Burkholderia cepacia*

زيد ناجي حسن [١] و رائد خماس عبد الكريم [٢] و أسيل رزاق كاظم [٣] و رشا محمد ساجت [٤]
١) و ٤) قسم علوم الحياة/كلية العلوم/الجامعه المستنصريه
٢) وزارة الصحة
٣) قسم علوم الحياة /جامعة واسط

الخلاصه

في دراستنا الحاليه تم الحصول على 5 عزلات تعود لبكتريا ***Burkholderia cepacia*** من بين 200عينه 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 واظهرت العزلات مقاومه عاليه للمضادات المستخدمه وكانت جمع العزلات مقاومه لمضادي الاموكزيسيلين و السفترياكسون بينما كان جميعها حساسه لمضاد الامبنيم .
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*

Zaid N. Hassen , Raid K. Abdul-Karim , Assil R. Khathem and 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) .

المقدمه

بكتريا *Burkholderia cepacia* عصيات سالبه لصبغه كرام يتراوح شكلها بين العصوي والعصوي القصير واحيانا (1.5-3) مايكرون طولا وتنمو بين(٢٥-٣٧)مئوي فيما تكون ضعيفه النمو في ٤٥ مئوي اما درجه الحراره المثلى لنموها(٣٠-٣٥)مئوي وهي مكونه للسبورات هوائية, متحركه باسواط قطبيه منتجه لصبغات غير متالقه(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* نسبه الى مكتشفها(٢)
تتواجد هذه البكتريا في البيئه الطبيعيه 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 ومعقده (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 وتجرثم 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 متعدده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيويه وتحدث المقاومه باربع أليات تشمل قله نفوذية الاغشيه وانتاج الانزيمات المحلله للمضادات الحيويه مثل انزيمات البيتالاكتاميز ووجود مضخات الدفق(effulux pump)فضلا عن تحوير موقع الهدف (٦) وتهدف الدراسه الحاليه لدراسه المقاومه المتعدده للمضادات الحيويه التي تبديها عزلات بكتريا*Burkholderia cepacia* المحليه المعزوله من عينات مرضية مختلفة فضلا عن التحري عن انتاجها لانزيمات البيتالاكتاميز .

طرائق العمل

١) العينات المرضية :

جمعت ٢٠٠ عينه من التهابات المجاري البوليه والتهابات الرئه و الحروق و الجروح من مرضى مراجعين لمستشفى مدبنه الطب بغداد للفتره من ١-٨-٢٠٠٧ولغايه ١_١٢_٢٠٠٧
شخصت عزلات من بكتريا *B cepcia* اعتمادا على الفحوصات البايوكيميائيه والفحوصات المظهريه للمستعمرات على اوساط اكار ماكونكي وبحسب ما ورد في (٧).

٢) اختبار حساسيه العزلات للمضادات الحيويه
اختبرت حساسيه العزلات البكتيريه التي تعود لبكتريا B cepcia للمضادات الحيويه الأتية :
Cefotaxime ,ceftazidime ,ciprofloxacin ,amoxicillin ,gentamicin ,ceftriaxone ,imipenem,
باستخدام اكار مولر هنتون بطريقه الاقراص

٣) الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز
اختبرت قابليه العزلات على انتاج انزيمات البيالاكتاميز باستخدام طريقه اليود القياسيه السريعه وبحسب ما ورد في (٨)
٤)انتاج انزيمات البيتالاكتاميزواسعة الطيف

تم الكشف عن قابليه العزلات عن انتاج انزيمات البيتالاكتمايز واسعه الطيف وحسب الطريقه (٩)
٥)دراسة المحتوى البلازميدي
درس المحتوى البلازميدي للعزلات قيد الدراسه حسب الطريقه (١٠).

النتائج والمناقشه

تم في هذه الدراسه الحصول على ٥ عزلات تعود لبكتريا *B cepacia* من مجموع ٢٠٠ عينه ادرار وقشع وجروح وحروق بنسبة عزل (٢.٥%)
تتوافق نسبة العزل في داستنا الحاليه مع نسبة العزل القليلة التي لاحظها الباحث(١١)الذي حصل على اعداد قليله 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 الدراسه لبعض المضادات الحيويه الشائعه الاستعمال في علاج الالتهابات في المستشفيات المحليه .وقد اظهرت النتائج (جدول_١) مقاومه عاليه بين عزلات الدراسه للمضادات المستعمله فكانت جميع العزلات مقاومه لمضادات amoxicillin و ceftriaxone بينما جميع العزلات حساسه لمضاد الامبنيم و اربع عزلات مقاومه لمضادات ciprofloxacin وcefotaime وgentamicin وceftazidime.

جدول (١) مقاومة عزلات الدراسه للمضادات الحيويه المستعمله

رقم العزله	amoxycillin	ceftazidime	ceftriaxone	ciprofiox	impenem	cefotaxime	gentimicin
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

مقاومه=R حساسه = S

ذكرت العديد من المصادر ان سبب زياده مقاومة هذه البكتريا للمضادات الحيويه 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 الحيويه

وعوامل المناعه (١٣) تبدي بكتريا *B cepacia* مقاومه متعدده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيويه مثل مضادات مجموعة الامينوكلايكوسيديه ومضادات الجيل الاول والثاني من السفالوسبورينات (١٤).
تم الكشف عن انتاج العزلات لانزيمات البتالاكتاميز وقد اظهرت عزلتلن قابليتها على انتاج هذه الانزيمات بنسبة(٤٠%) ، بينما لم تكن لها القابليه على انتاج البيتالاكتمايز واسعة 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 Livingston.(2002).

8. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marimon, B.P. and Simmons, A. (1996). Macki & MacCartney practical Medical Microbiology (eds.). Churchill Linvingston (14^{th}) ed.

9. PATERSON,D.; ROBERT ,A. and BONOMO,A . *Extended-Spectrum ß-Lactamases: a Clinical Updat*e . 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 وتاثير بعض العوامل عليها اطروحة دكتوراه مقدمه الى قسم علوم الحياة , 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 *Burkhholderia 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 apatient with cystic fibrosis.Johns Hopkins Med.J.147:188-189.