

Burkholderia

دراسة انتاج انزيمات البييتالاكتاميز من بكتريا
cepacia

زيد ناجي حسن¹ و رائد خماس عبد الكريم² و أسيل رزاق كاظم³ و رشا محمد ساجت⁴
(1) و (4) قسم علوم الحياة/كلية العلوم/الجامعة المستنصرية
(2) وزارة الصحة
(3) 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 Amoxicillin , ciprofloxacin, ceftazidime, cefotaxime, imipenem, ceftriaxone, gentamicin واطهرت 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 البييتالاكتاميز ولم تكن لأية عزله القابليه على انتاج انزيمات البييتالاكتاميز 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) .

المقدمة

بكتريا *Burkholderia cepacia* عصيات سالبه لصبغه كرام يتراوح شكلها بين العصوي والعصوي القصير واحيانا (3-1.5) مايكرون طولاً وتتمو بين (25-37) مئوي فيما تكون ضعيفه النمو في 45 مئوي اما درجه الحراره المثلى لنموها (30-35) مئوي وهي مكونه للسبورات هوائية , متحركه باسواط قطبيه منتجـه لصبغات غير متالقـه(1)

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(2)

تتواجد هذه البكتريا في البيئه الطبيعـيه 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 ومعقدـه (3)

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(4) ممكن لهذه البكتريا ان تصيب الانسان والحيوان على حد سواء مسببة خراج الدماغ والتهاب العظام والتهاب السحايا (5) تبدي بكتريا *Burkholderia cepacia* مقاومه متعدده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيويه وتحدث المقاومه بابع آليات تشمل قله نفوذيه الاغشيه و انتاج الانزيمات المحلله للمضادات الحيويه مثل انزيمات البييتالاكتاميز ووجود مضخات الدفع (efflux pump) فضلا عن تحوير موقع الهدف (6) وتهدف الدراسه الحاليه لدراسه المقاومه المتعددـه للمضادات الحيويه التي تبديها عزلات بكتريا *Burkholderia cepacia* المحليه المعزوله من عينات مرضية مختلفه فضلا عن التحري عن انتاجها لانزيمات البييتالاكتاميز .

طرائق العمل

(1) العينات المرضية :

جمعت 200 عينة من التهابات المجاري البولية والتهابات الرئة و الحروق و الجروح من مرضى مراجعين لمستشفى مدبنة الطب بغداد للفترة من 1-8-2007 ولغاية 2007_12_1
شخصت عزلات من بكتريا *B cepcia* اعتمادا على الفحوصات البايوكيميائية والفحوصات المظهرية للمستعمرات على اوساط اكار ماكونكي وبحسب ما ورد في (7).

(2) اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية

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

(3) الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز

اختبرت قابليه العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز باستخدام طريقه اليود القياسيه السريعه
وبحسب ما ورد في (8)

(4) انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

تم الكشف عن قابليه العزلات عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعه الطيف وحسب الطريقه (9)
(5) دراسة المحتوى البلازميدي

درس المحتوى البلازميدي للعزلات قيد الدراسه حسب الطريقه (10).

النتائج والمناقشة

تم في هذه الدراسة الحصول على 5 عزلات تعود لبكتريا *B cepacia* من مجموع 200 عينه ادرار وقشع وجروح وحروق بنسبة عزل (2.5%) تتوافق نسبة العزل في داستنا الحاليه مع نسبة العزل القليلة التي لاحظها الباحث (11) الذي حصل على اعداد قليلة من بكتريا *B cepacia* لم تتجاوز 4% 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 (12) اختبرت حساسية عزلات الدراسة لبعض المضادات الحيوية الشائعة الاستعمال في علاج الالتهابات في المستشفيات المحليه .وقد اظهرت النتائج (جدول_ 1) مقاومه عاليه بين عزلات الدراسة للمضادات المستعمله فكانت جميع العزلات مقاومه لمضادات amoxicillin و ceftriaxone بينما جميع العزلات حساسه لمضاد الامينيم و اربع عزلات مقاومه لمضادات ciprofloxacin و gentamicin و cefotaimه و ceftazidime.

جدول (1) مقاومه عزلات الدراسة للمضادات الحيوية 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

S = حساسه R=مقاومه

ذكرت العديد من المصادر ان سبب زياده مقاومه 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 الحيويه وعوامل المناعه (13) تبدي بكتريا *B cepacia* مقاومه متعدده وغير اعتياديه لمجموعه كبيره من المضادات الحيويه مثل مضادات مجموعه الامينوكلايكوسيديه ومضادات الجيل الاول والثاني من السفالوسبورينات (14).

تم الكشف عن انتاج العزلات لانزيمات البتالاكتاميز وقد اظهرت عزلتن قابليتها على انتاج هذه الانزيمات بنسبه (40%) ، بينما لم تكن لها القابليه على انتاج البيتالاكتمايز 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 الحياة , كلية العلوم , الجامعة المستنصرية
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 of *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.

