عزل وتشخيص الانواع المتحركة من بكتريا *Aeromonas spp.* المعزولة من مصادر مختلفة

Isolation and identification of motile *Aeromonas spp.*from different sources

رشا عبد علي الخالدي سامرة يونس يوسف*
جامعة بغداد \ كلية العلوم \ قسم التقنيات الاحيائية
* جامعة دهوك \ كلية العلوم \ قسم علوم الحياة

Rasha Abid Ali Al-Khalidi Samira Y.Yousif*
College of Science/ University of Baghdad
College of science/ Dohuk University

المستخلص

تضمنت هذه الدراسة 507 عينة من مصادر مختلفة ، جمعت من المستشفيات المختلفة في مدينة بغداد ، ومن المياه والتربة ومن الاغذية المختلفة . بينت نتائج الاختبارات المظهرية والكيموحيوية عائدية 17 عزلة بكتيرية لجنس *Aeromonas* ، وشخصت هذه العزلات الى مستوى النوع اذ تضمنت 10 عزلات للنوع *Aeromonas hydrophila* ، ثلاثة عزلات للنوع *Aeromonas eucrenophila* ، وعزلتين *Aeromonas sobria* ، وعزلة واحدة لكل من : *Aeromonas caviae* ، *Aeromonas schubertii* على التوالي . اختبرت حساسية العزلات تجاه 15 مضادا حيويا وبينت النتائج ان العزلات جميعها قد اظهرت نمط المقاومة المتعددة ، اذ كانت 100% من العزلات مقاومة للامبسيلين ، والبنسيلين ج ، والامبيكلوكس ، 94% مقاومة للنكومايسين ، 76.7% مقاومة للسيفالوثين ، 52.9% مقاومة للسيفوتاكسيم ، واظهرت العزلات جميعها ما عدا عزلة واحدة من *Aeromonas eucrenophila* حساسية تجاه مضاد الميروبنيم .

Abstract

Total of 507 samples (clinical, environmental, food) were collected from different hospitals in Baghdad, water, soil, and different food stuffs. Biochemical and morphological characterization tests showed that seventeen isolates were identified as *Aeromonas spp.*These were farther characterized as *Aeromonas hydrophila* 10 isolates, *Aeromonas sobria* 2 isolates, *Aeromonas eucrenophila* 3 isolates, one isolate belongs to *Aeromonas caviae* and another one belongs to *Aeromonas schubertii.* Antibiotic susceptibility tests of all the isolates towards fifteen antibiotics agents were carried out and results showed that all isolates 100% were resistant to penicillin, ampicillin, ampiclox, 99% were resistant to lincomycin, 76.7% to cephalothin, 52.9% to cefotaxime. All isolates except one isolate of *Aeromonas eucrenophila* were sensitive to meropenem.

المقدمة

يضم جنس *Aeromonas* العديد من الانواع التي عرفت بامراضيتها للحيوانات لاسيما البرمائيات والزواحف التي حينها لم تكن تمثل أي تهديد لصحة وحياة الانسان حتى الربع الاول من القرن الماضي ، اذ عرفت حينها بامراضيتها للانسان بشكل لا يستهان به من احداث اصابات شديدة الخطورة في مختلف اعضاء الجسم . تسبب البكتريا اصابات للقناة الهضمية كما تسبب ايضا اصابات خارج معوية مهددة للحياة مثل: التهاب الجروح ، وانتان الدم فضلا عن دورها في الاصابات القلبية ، والتهابات العيون والمجاري البولية ، والمرارة ، والبريتون ، واصابات الجهاز التنفسي، والسحايا [1] . عزلت بكتريا *Aeromonas* من بيئات مختلفة وخاصة البيئة المائية ، و كذلك عزلت من مدى واسع من الاغذية النباتية والحيوانية مثل: الاسماك ، اللحوم ، الحليب ومنتجاته ، لذلك تعد المياه والاغذية مصدراً لاصابة الانسان [2] . تملك هذه البكتريا العديد من عوامل الضراوة الفعالة في اصابتها للانسان والحيوان مثل: انتاج الذيفانات والانزيمات المختلفة ، فضلا عن امتلاكها لنمط المقاومة المتعددة للعديد من المضادات الحيوية ، مما يرشحها لتكون في مصاف الممرضات الشديدة الخطورة للانسان

بحث مستل من رسالة ماجستير

والحيوان[3] . كما تتميز هذه البكتريا بانتاجها للعديد من انزيمات البيتالاكتاميز البلازميدية والكروموسومية مما يجعلها مقاومة لمضادات البنسيلينات والسيفالوسبورينات والكاربابنيم ، وهذا يجعل علاج الاصابات الناتجة من هذه البكتريا عملية صعبة ، الامر الذي يزيد من خطورتها من الناحية السريرية [4] . لذلك كان هدف الدراسة الحالية الى : عزل بكتريا *Aeromonas* وتشخيصها من مصادر سريرية وبيئية . دراسة نمط مقاومة العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية.

طرائق العمل

أ. **العزلات البكتيرية** : جمعت 507 عينة من مصادر بيئية (مياه وتربة) وسريرية (براز ، دم ، عينات الجروح ، ادرار ، مسحات العيون) وغذائية (لبن ، جبن ، قيمر ، دجاج ، لحم) . اظهرت 17 عزلة عائديتها لجنس *Aeromonas* اعتمادا على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية [5] . استخدمت عدة اوساط للعزل (وسط اكارالدم والامبسلين ، وسط اكار الدكسترين والامبسلين ، وسط اكار النشا والامبسلين ، وسط الماكونكي) .

ب. **اختبار الحساسية للمضادات الحيوية**: اختبرت حساسية العزلات تجاه 15 مضاد حيوي والتي استخدمت بشكل أقراص[6] ، تم قياس أقطار مناطق التثبيط حول كل قرص من أقراص المضادات الحيوية بواسطة المسطرة ، ومقارنتهما مع الجداول القياسية الخاصة بتقرير [7] .

النتائج والمناقشة

تشخيص العزلات . تم التحري عن وجود بكتريا *Aeromonas* في 507 عينة ، جدول (1) ، شمل 376 عينة سريرية تم جمعها من حالات مرضية مختلفة من عدة مستشفيات في مدينة بغداد ، 89 عينة بيئية مختلفة جمعت من ترب وسواقي مزارع الجادرية والرضوانية فضلا عن مياه بعض الابار ، 42 عينة من الاغذية المختلفة . استخدمت عدة أوساط لعزل بكتريا *Aeromonas* من العينات التي تم الحصول عليها ، مثل وسط ماء الببتون القاعدي والذي استخـدم وسـطاً إغنائياً لبكتريـا *Aeromonas* من العينات السريرية . وذلك لكونه يعمل على زيادة أعداد بكتريا *Aeromonas* حتى وان وجـدت بأعداد قليلـة (10) CFU لكل مليليتر ، فضلا عن قاعديته pH8.6 التي تثبط نمو اغلب أنواع الأحياء المجهرية الموجودة كنبيت طبيعي [8] ، أما الوسط الثاني فهو الوسط الاغنائي لجنس *Aeromonas* الذي استخدم وسطاً اغنائياً للبكتريا في العينات البيئية والغذائية ، لاحتوائه على أملاح الصفراء والامبسيلين التي تعد عوامل مثبطة لنمو الأجناس البكتيرية الحساسة لهذه العوامل ، كما يتميز الوسط باحتوائه على سكر المالتوز الذي تتمكن الأنواع المختلفة من بكتريا *Aeromonas* من تخميره محولة لون الوسط إلى الأصفر، كما تعـود مقاومة البكتريـا للامبسيلين لقدرتها على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز المختلفة [4] ، استخدمت أيضا عدة أوساط زرعية للعزل الأولي للبكتريا مثل وسط أكار الماكونكي المثبط للأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة غرام ، لاحتوائه على أملاح الصفراء ولأنه وسط تفريقي بين البكتريا المخمـرة لسكر اللاكتوز والبكتريا غـير المخمرة لهـذا السكر ، ظهرت المستعمرات على هذا الوسط صغيرة ذات مركز داكن غير مخمرة لسكر اللاكتوز باستثناء *Aeromonas cavia* . استخدم أيضا وسط أكار الدم والامبسيلين ، إذ يمتلك هذا الوسط العديد من المميزات التي جعلته ذا أهمية كبيرة في عزل هذه البكتريا ، فهو يتميز بعدم احتوائه على السكريات التي تسبب فقدان بعض أنواع بكتريا *Aeromonas* عند الانتخاب أساس تخمر السكريات ، فضلا عن إن بعض السكريات تمثل عواملاً مثبطة لنمو هذه البكتريا مثل اللاكتوز والزايلوز، كما إن إنتاج الحامض من تخمرها يسبب أحيانا نتيجة سالبة لفحص الاوكسيديز [9] ، كما يحتوي هذا الوسط على الامبسيلين بتركيز 20 مايكروغراماً لكل مليليتر ، إذ إن بكتريـا *Aeromonas* تقاوم هـذا المضاد الحيوي الذي يثبط نمو بعض الأحياء المجهرية الحساسة له ، ويعزى سبـب هذه المقاومة إلى قـدرة بكتـريـا *Aeromonas* على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز [5] .

جدول (1) : النسب المئوية لعزلات بكتريا *Aeromonas* من العينات المختلفة (سريرية ، بيئية ، غذائية)

	العينات	عددالعينات	عدد العزلات	نسبة العزلات من العدد الكلي لها
العينات السريرية	عينات البراز	201	7	%41.17
	عينات الدم	96	1	%5.88
	عينات الجروح	64	-	-
	عينات الادرار	9	-	-
	مسحات العيون	6	-	-
العينات البيئية	عينات المياه	73	9	%52.94
	عينات التربة	16	-	-
العينات الغذائية	العينات الغذائية الطازجة	37	-	-
	العينات الغذائية المعلبة	5	-	-
	المجموع	507	17	%100

كانت المستعمرات على هذا الوسط رصاصية اللون محللة للدم من النوع بيتا باستثناء النوع *Aeromonas cavia* الذي يتميز بعدم قدرته على تحليل الدم . يعد وسط اكار الدكسترين والامبسيلين وسطا انتخابيا وتفريقيا لبكتريا *Aeromonas*، لاحتوائه على الدكسترين الذي تخمره سلالات *Aeromonas* جميعاً ، فضلا عـن احتوائه على الامبسيلين بتركيز 10 مايكروغرام لكل مليليتر [8] ، ظهرت المستعمرات على هذا الوسط صفراء اللون لتخميرها لسكر الدكسترين . أما وسط أكار النشأ والامبسيلين فاستخدم لعزل البكتريا لقابليتها على إنتاج أنزيم الاميليز الذي يحلل النشأ الذائب في الوسط ، ولاحتوائه على الامبسيلين بتركيز 10 مايكروغرام لكل مليليتر ، ولإمكانية إجراء فحص الاوكسيديز عليه بسهولة [10] ، اذ ظهرت المستعمرات على هذا الوسط ملساء شفافة . اظهر الفحص المجهري لمسحة من جزء من مستعمرة مفردة بعد تصبيغها بملون غرام ، ان الخلايا سالبة الاصطباغ ، عصوية ذات نهايات مدورة ، مفردة او تترتب بشكل ازواج او سلاسل . أجريت العديد من الفحوصات الكيموحيوية جدول (2) ، لغرض استبعاد الأجناس البكتيرية الأخرى التي تتشابه مع بكتريا *Aeromonas* بالصفات المظهرية على الأوساط الزرعية وبعض الصفات الكيموحيوية . إذ ميزت بكتريا *Aeromonas* عن أفراد العائلة المعوية بقدرتها على إنتاج أنزيم الاوكسيديز ، وأعطت العـزلات جميعها قيد الدراسة ايجابية لهذا الفحص [5] . كمـا تـم استبعـاد جنـس*Vibrio* مـن العزلات التي تم الحصول عليها بعدما أظهرت العزلات عدم قدرتها على النمو في 6% NaCl [8] ، كذلك سالبيتها لفحص التخيط string إذ لـم يتكون خيـط ابيض متصـل ناتج مـن تحرر الدنا بعـد إضافة 0.5 % مـن ديوكسي كولايت الصوديوم . ميزت بكتريا *Aeromonas* من بكتريا *Plesiomonas* بإنتاجها لأنزيم الدينيز الذي يحلل الدنا الذائب في وسط الدينيز مكونا هالة شفافة تحيط المستعمرات المنتجة لـه بعـد إضافة بضع قطرات مـن كاشف string (HCl) . فضلا عن سالبيتها لإنتاج أنزيم الاورنيثينيز الذي يزيل مجموعة الكاربوكسيل من الحامض الاميني الاورنيثين [5] . اجري فحص تخمر السكريات تحت ظروف لا هوائية لتفريق بكتريا *Aeromonas* عن بكتريا *Pseudomonas* إذ استطاعت العزلات جميعها أن تخمـر سكر الكلوكوز لا هوائيا منتجة حامض وأحيانا حامض وغاز، في حين لا تتمكـن بكتريا *Pseudomonas* مـن تخمير السكريات [5] . إن نتائج هذه الاختبارات ساعدت في تحديد تابعية العزلات البكتيرية المعزولة لبكتريا *Aeromonas* .

جدول (2): يوضح الاختبارات التفريقية لبكتريا *Aeromonas* مقارنة مع اجناس بكتيرية اخرى

الاختبارات	*Aeromonas*	*Vibrio*	*Pseudomonas*	*Plesiomonas*
اختبار الاوكسيديز	+	+	+	+
اختبار DNase	+	-	+	-
اختبار String	-	+	-	-
النمو في 6% NaCl	-	+	-	-
فحص الاورنيثين	-	+	v	+
تخمر الكلوكوز	+	+	-	+

+ موجب - سالب v متغايرة

بالرجوع إلى النتائج المبينة في جدول (1) نلاحظ إن 17 عزلة فقط من مجموع 507 عينة أظهرت عائديتها لجنس *Aeromonas* وبنسبة عزل 3.3 %. بينما أشارت دراسات محلية أخرى إلى نسب عزل اوطا بكثير 1.8% [11] والى نسبة أعلى بكثير 8.9% حصل عليها [12] ، وتخصصت هذه الدراسات بعزل البكتريا من براز الأطفال فقط ، وذلك لكون بكتريا *Aeromonas* تصيب الأطفال دون السنتين بنسب مرتفعة بسبب عدم اكتمال وظائف جهازهم المناعي ، كما تلعب قاعدية حليب الأطفال الرضع دوراً في تشجيع نمو وتكاثر البكتريا . وتزداد هذه النسبة في دول أوربا وتكون على أقصاها في بعض دول أسيا وأمريكا الجنوبية خاصة بيرو ، وقد يعود السبب إلى اختلاف الظروف المعاشية والصحية وأيضا لزيادة تناول الأغذية البحرية مثل المحار والروبيان التي قد تكون ملوثة بالبكتريا ، كما يرتبط وجود البكتريا مع المناخ الحار إذ تصل البكتريا إلى ذروتها في الفصول الحارة . يتضح من النتائج المبينة في جدول (1) وجود بكتريا *Aeromonas* في عينات البراز بنسبة مرتفعة ، إذ تم الحصول على 7 عزلات وبنسبة عزل 41.17 % من مجموع عزلات بكتريا *Aeromonas* . أشارت العديد من الدراسات إلى قدرة بكتريا *Aeromonas* على إحداث التهابات معدية معوية تختلف في شدتها والنسبة المئوية ، لانتشارها وإن هذه الإصابات ناتجة من تناول طعام أو شراب ملوث [2] . كما يوضح جدول (1) نسبة عزل هذه البكتريا من عينات الدم التي كانت 5.8% من مجموع العزلات ، إن هذا النوع من الإصابات تعتمد على نوع الإصابة الأولية التي ربما تتطور إعتماداً على الحالة المناعية للمريض ، وأيضا علاج الإصابات قبل أن تصل البكتريا إلى مجرى الدم . حيث أشارت احدى الدراسات إلى إمكانية عزل البكتريا من حالات انتان دموي لذوي المناعة الضعيفة مثل: المصابين بالسرطان والمرضى الذين يعانون من أمراض مزمنة كتليف الكبد [13] . تشير النتائج المبينة في جدول (1) إلى إن عينات الجروح والإدرار ومسحات العيون خالية من هذه البكتريا . قد يعود سبب عدم وجودها في عينات الجروح لعدم توافر الظروف الملائمة لنمو وتكاثر البكتريا مثل: الرطوبة ، وكذلك الحالة المناعية للمريض ، أو يكون المريض الذي أخذت منه العينة قد تلقى علاجاً بالمضادات الحيوية ، فضلاً عن إن هذه العينات لم تجمع من جروح تعرضت لمياه ملوثة مثل الجروح التي تحدث في أثناء الصيد أو السباحة في مياه النهر . أما عدم وجود البكتريا في عينات الإدرار ومسحات العيون ، فقد يعود السبب إلى قلة أعداد العينات أو نتيجة لتلقي المرضى العلاج بالمضادات الحيوية . كما يوضح جدول (1) نسبة عزل بكتريا *Aeromonas* من العينات البيئية التي كانت 52.9% من مجموع العزلات . إن ارتفاع نسبة عزل بكتريا *Aeromonas* من عينات المياه قياساً ببقية العينات قد يعزى إلى ان جمع العينات قد تم في فصل الربيع والصيف ، اذ تزداد نسبة البكتريا خلال هذين الفصلين في البيئة لتوافر الظروف الملائمة من درجة حرارة ورطوبة [8،13] . لم يتم عزل البكتريا في هذه الدراسة من عينات التربة جدول (1) ، قد يعود السبب إلى احتواء التربة على مواد كيميائية مختلفة مثل المبيدات على اختلاف أنواعها والمستخدمة بكثرة من قبل المزارعين إذ من الممكن أن تؤثر هذه المواد في نمو وتكاثر البكتريا

، في حين أكدت دراسات أخرى على عزلها من التربة وبنسبة عالية [8] . كما لم يتم عزل البكتريا من العينات الغذائية الطازجة والمعلبة جدول (1)، قد يعزى السبب إلى ان أفراد هذا الجنس غير قادرة على تحمل الملوحة كما إنها تفضل الوسط القاعدي في نموها، فضلا عن كونها لا تتحمل المعاملات الحرارية للأغذية الجاهزة ، وقد تلعب المواد الحافظة دوراً في تثبيط نمو البكتريا . لم تعزل هذه البكتريا محلياً من الأغذية في حين أشارت دراسات عديدة إلى عزلها من الأغذية الطازجة وبنسب مرتفعة ، إذ عزلت من الحليب والاجبان كما عزلت من الدجاج ولحوم الأبقار والأسماك والخضروات ، وكانت أسباب عزلها ترجع لاستخدام مواد خام ملوثة بالبكتريا ، أو لتلوث هذه المنتجات ببراز الحيوانات المصابة بالبكتريا ، أو من المياه الملوثة، كما تلعب الأيدي العاملة دوراً في وصول البكتريا للمنتجات الغذائية المختلفة [2] .

تشخيص بكتريا *Aeromonas* إلى الأنواع المختلفة

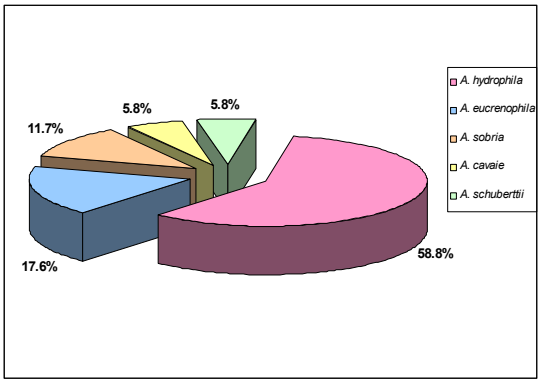
يوضح جدول (3) نتائج العديد من الفحوصات الكيموحيوية التي أجريت لتشخيص بكتريا *Aeromonas* إلى أنواعها المختلفة ، حيث كانت العزلات البكتيرية جميعها موجبة لاختبار الكاتليز والنترات والحركة والارجنين ، وكانت العزلات جميعها غير قادرة على إنتاج اليورييز ، كما تغايرت في قدرتها على إنتاج H_2S . كما يتضح أيضا من النتائج المبينة في جدول (3) إن عزلات بكتريا *Aeromonas* أظهرت تغايراً في استهلاكها للاسكيولين واللايسين والسترات وإنتاجها للاندول ، وفي اختبار المثيل الأحمر، والفوكس بروسكاور ، وتخمر السكريات (السكروز والارابينوز والمانيتول والمالتوز) ، وجاءت نتائج هذه الاختبارات متفقة مع الأخرى [5] . لم تستخدم في هذه الدراسة العدد التشخيصية التجارية مثل Api20E ، Api50E ، MB24E ، Vitek ، لان احدى الدراسات أكدت إخفاق اغلب هذه العدد في تشخيص بكتريا *Aeromonas* ، إذ يحصل التباس بين أفراد هذه البكتريا مع أجناس بكتيرية أخرى مثل *Vibrio damsla* ، *Vibrio cholera* [14] . اهتمت العديد من الدراسات بتشخيص بكتريا *Aeromonas* إلى مستوى النوع ، وذلك لان بعض أنواعها مسؤولة عن إحداث إصابات مختلفة مهددة لحياة الإنسان والحيوانات ، وبعضها الأخر تمثل أنواعا بيئية غير مرضية . تشير النتائج المبينة في جدول (3) إلى أهم الاختبارات الكيموحيوية المميزة للأنواع المختلفة من بكتريا *Aeromonas* المعزولة في هذه الدراسة . إذ تميزت بكتريا *Aeromonas hydrophila* بقدرتها على تخمر السكروز وتحليل الاسكيولين والارجنين وإنتاج H2S وكونها موجبة لفحص الفوكس بروسكاور واستهلاك السترات ، أما النوع *Aeromonas eucrenophila* تميزت بعدم قدرتها على استهلاك السترات وسالبيتها لاختبار الفوكس بروسكاور واللايسين وإنتاج H2S ومستهلكة للاسكيولين ، كما إن بكتريا *Aeromonas sobria* تميزت من أنواع بكتريا *Aeromonas* الأخرى بكونها غير محللة للاسكيولين ومخمرة للسكروز وغير مخمرة لسكر الارابينوز، أما النوع *Aeromonas caviae* فتميزت بكونها سالبة لاختبار الفوكس بروسكاور، وكونها مستهلكة للاسكيولين وغير محللة للدم على وسط أكار الدم والامبسيلين ، كما تميزت أيضا بتخميرها لسكر اللاكتوز على وسط أكار الماكونكي ، كما شخصت في هذه الدراسة بكتريا *Aeromonas schubertii* ، وتميزت بكونها غير محللة للاسكيولين وسالبة لاختبار الاندول والفوكس بروسكاور وغير مخمرة للسكروز والارابينوز والمانيتول [5] . أظهرت النتائج المبينة في شكل (1) إن بكتريا *Aeromonas hydrophila* احتلت المرتبة الأولى بين أنواع بكتيريا *Aeromonas* المعزولة من العينات التي تم الحصول عليها ، إذ شخصت 10 عزلات وبنسبة عزل 58.8 % من مجموع العزلات ، توزعت ما بين 6 عزلات من البراز ، وعزلة واحدة من الدم ، و3 عزلات من العينات المائية ، تمكنت العديد من الدراسات المحلية من عزل بكتريا *Aeromonas hydrophila* من عينات البراز وبعضها بنسب مرتفعة [11،12] أشارت دراسة أخرى إلى إن بكتريا *Aeromonas hydrophila* تكون مسؤولة عن الكثير من الأمراض التي تصيب الإنسان مثل: التهاب المعدة والأمعاء ، و التهاب الجروح ، والانتان الدموي ، وأيضا تسبب التهاب البريتون وشغاف القلب ، والتهاب الكبد والبنكرياس ، والتهاب المجاري البولية [1] ، كما تم عزلها من المياه والأغذية المختلفة [2]

جدول (3)يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية التي أجريت للتفريق بين الأنواع المختلفة لبكتريا *Aeromonas*

رقم العزلات	Lactose fermente on macConkey	β-hemolysis blood agar	Oxidase	Catalase	O/F	H_2S	6 %NaCl	String	DNase	Ornithin	Arginine	Lysine	motility	$NO_3 \to NO_2$	Esculin	Indole	VP	mR	Simmon citrate	Urease	Sucrose	Arabinose	Mannitole	Xylose	Maltose	العزلات
AR1	-	-	-	-	/-	-		-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*A.hydrophila*
AR2	-	-	-	-	/-	-		-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	*A.eucrenophila*
AR3	+	+	+	+	-/+	-	-	-	+	-	+	+	−	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	*A.schubertii*
AR4	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR5	+	+	+	+	-/+		-		+		+		−	+	+	+		+			+	+	+		+	*A.eucrenophila*
AR6	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR7	+	+	+	+	-/+	-	-	-	+	-	+	+	−	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*A.sobria*
AR8	+	+	+	+	-/+	-	-	-	+	-	+	+	−	+	-	+	+	-	+	-	+	-	+	-	+	*A.sobria*
AR9	+	+	+	+	-/+	-	-	-	+	-	+	-	−	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	*A.eucrenophila*
AR10	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR11	-	-	+	+	-/+	-	-	-	+	-	+	-	−	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.caviae*
AR12	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR13	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR14	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR15	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR16	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*
AR17	+	+	+	+	-/+	+	-	-	+	-	+	+	−	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	*A.hydrophila*

احتل النوع *Aeromonas eucrenophila* المرتبة الثانية شكل (1) ، إذ تم عزله من البيئة المائية وبنسبة 17.6% من مجموع العزلات ولم يعزل هذا النوع في أية دراسة محلية سابقة ، إلا انه عزل في دراسات عالمية ومن البيئة المائية ، كما عزل أيضا من الأسماك المصابة بأمراض جلدية [1] . احتلت *Aeromonas sobria*

المرتبة الثالثة بين العزلات ، إذ تم الحصول على عزلتين بكتيريتين من العينات المائية وبنسبة 11.7% من مجموع العزلات ، ولم تعزل *Aeromonas sobria* في أية دراسة محلية من العينات المائية ، أنما عزلت فقط من البراز وبنسبة أعلى من نسبة عزل *Aeromonas hydrophila* [11] ، كما أشارت العديد من الدراسات إلى إن هذا النوع تم عزله من حالات مرضية مختلفة ومن العينات المائية والغذائية المختلفة.احتلت كل من بكتريا *Aeromonas schubertii* ، *Aeromonas caviae* المرتبة الرابعة بين الأنواع المعزولة وبواقع عزلة واحدة لكل نوع وبنسبة 5.8% شكل (2) ، عزلت *Aeromonas caviae* في هذه الدراسة من البراز وقد عزلت مسبقا في إحدى الدراسات المحلية وبنسبة مرتفعة [11] ، كما تم عزلها أيضا من المياه و الغذاء [15] . أما *Aeromonas schubertii* فعزلت من البيئة المائية ولم يتم عزلها مسبقا في أية دراسة محلية ، أشارت بعض الدراسات إلى وجود هذا النوع في المياه ، كما تم عزله من حالات مرضية مختلفة وخاصة الانتان الدموي كما عزلت أيضا من الغذاء وبنسبة مرتفعة [15] .



شكل (1): النسب المئوية لأنواع بكتريا *Aeromonas* المعزولة من مصادر مختلفة

مقاومة بكتريا *Aeromonas* للمضادات الحيوية

تم اختبار قابلية عزلات بكتريا *Aeromonas* على مقاومة المضادات الحيوية وذلك باستخدام 15 مضاداً حيوياً ، وتم تحديد مقاومتها للمضادات الحيوية اعتماداً على قياس قطر منطقة التثبيط (بالمليمتر) ، أظهرت النتائج المبينة في جدول (4) إن الأنواع البكتيرية المعزولة جميعها كانت مقاومة لمضادات البنسيلينات التي شملت البنسيلين ج ، والامبسيلين ، والامبيكلوكس وبنسبة 100% ، باستثناء مضاد الاموكسيسيلين إذ أظهرت الأنواع *Aeromonas sobria* ، *Aeromonas cavaie* ¤ *Aeromonas schubertii* قدرتها على مقاومة مضاد الاموكسيسيلين وبنسبة 100% ، في حين أظهرت عزلات *Aeromonas hydrophila* ، *Aeromonas eucrenophila* نسبة مقاومة اوطا لهذا المضاد بلغت (30 ، 66.6)% على التوالي ، و تعد هذه النتيجة طبيعية نتيجة للاستخدام الواسع والعشوائي لهذه المضادات ، كما يعزى سبب المقاومة لهذه المضادات إلى قدرة البكتريا على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز (البنسيلينيز) التي يشفر لها كروموسوميا أو بلازميديا [16] . أظهرت النتائج المبينة في جدول (4) مقاومة الأنواع البكتيرية جميعاً والمعزولة بنسبة 100% لمضاد السيفالوثين وهو من مضادات الجيل الأول من السيفالوسبورينات باستثناء عزلات النوع *Aeromonas sobria*التي كانت حساسة لهذا المضاد ، وتعد الحساسية لهذا المضاد صفة مميزة لهذا النوع [17] . أما بالنسبة للجيل الثاني من السيفالوسبورينات ، فقد بينت النتائج في جدول (4) مقاومة 5 عزلات 50% وعزلة واحدة 10% من *Aeromonas hydrophila* لمضادي السيفيوروكسيم والسيفوكسيتين على التوالي ، بينما بلغت نسبة مقاومة *Aeromonas eucrenophila* لهذين المضادين 33% ،

جدول(4) نتائج فحص الحساسية الدوائية لانواع بكتريا *Aeromonas* المختلفة

العزلات	Penicillin	Ampicillin	Amoxicillin	Ampiclox	Cephalothin	Cefuroxime	Cefoxitin	Cefotaxime	Ceftriaxone	Ceftazidime	Aztronam	Meropenem	Neomycin	Gentamycin	Lincomycin
AR_1	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R
AR_2	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R
AR_3	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R
AR_4	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
AR_5	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
AR_6	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
AR_7	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R
AR_8	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
AR_9	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R
AR_{10}	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R
AR_{11}	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R
AR_{12}	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R
AR_{13}	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	R
AR_{14}	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R
AR_{15}	R	R	S	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	S	R
AR_{16}	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R
AR_{17}	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R

A. hydrophila   *A. sobria*   *A. caviae*   *A.schubertii*   *A. eucrenophila*

أما *Aeromona sobria* كانت حساسة لمضاد السيفيوروكسيم ومقاومة لمضاد السيفوتاكسيم وبنسبة 50% ، في الوقت الذي اظهرت فيه *Aeromonas caviae* مقاومة لمضاد السيفيوروكسيم وحساسية لمضاد السيفوتاكسيم ، في حين اظهرت *Aeromonas schubertii* مقاومتها لكلا المضادين ، وتعود هذه المقاومة إلى قدرة بكتريا *Aeromonas* على إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز من نوع AmpC التي يشفر لها كروموسومياً وبلازميدياً او عناصر قافزة [4] . أما فيما يخص المقاومة للجيل الثالث من السيفالوسبورينات والمونوبكتام ، فقد أظهرت بكتريا *Aeromonas hydrophila* مقاومة لمضادات السيفوتاكسيم والسفترياكسون والسفتازديم والازترونم وبنسب (60 ، 40 ، 40 ، 30)% على التوالي ، بينما امتلكت بكتريا *Aeromonas eucrenophila* نسبة مقاومة وصلت إلى 33% لمضادات السيفوتاكسيم والسفترياكسون والازترونم وكانت

حساسة لمضاد السفتازديم . وأظهرت *Aeromonas sobria* وبنسبة 50% مقاومتها لمضاد السيفوتاكسيم بينما كانت حساسة لبقية المضادات . أما *Aeromonas schubertii* فكانت مقاومة لمضادي السيفوتاكسيم والسفتازديم وحساسة لمضادي السفترياكسون والازترونم ، بينما أظهرت *Aeromonas caviae* حساسيتها لهذه المضادات . أدى استعمال هذه المضادات بشكل واسع إلى قدرة بكتريا *Aeromonas* على إنتاج أنزيمات بيتالاكتاميز تمنحها القدرة على مقاومة الأجيال الجديدة من السيفالوسبورينات . أما فيما يخص الميروبنيم وهو من مضادات الكاربابنيم ، فقد امتلكت عزلة واحدة فقط وهي *Aeromonas eucrenophila* قدرة على مقاومة هذا المضاد وبنسبة 33% ، تعد هذه النسبة ضئيلة قياساً مع قدرة البكتريا على إنتاجها أنزيمات بيتالاكتاميز من نوع كاربابنيميز محللة لمضادات الكاربابنيم دون غيرها . قد يعود السبب إلى الاستخدام المحدود لهذا المضاد في العلاج في قطرنا . أما فيما يتعلق بمجموعة الامينوكلايكوسيدات فقد أظهرت النتائج جدول (4) نسبة مقاومة ضئيلة وصلت إلى 10% بين عزلات *Aeromonas hydrophila* لمضادي النيومايسين والجنتامايسين واظهرت (33 ، 66) % من *Aeromonas eucrenophila* مقاومتها لهذين المضادين على التوالي ، بينما كانت 50% من *Aeromonas sobria* مقاومة لمضاد النيومايسين ، في حين اظهر كلا النوعين *Aeromonas schubertii* ، *Aeromonas caviae* حساسية لمضادي النيومايسين والجنتامايسين . إن صفة المقاومة لهذه المضادات غالبا ما يكون سببها حدوث طفرة كروموسومية تعمل على تحوير المستلم الرايبوسومي أو ما يسمى بالموقع الهدف S(30) ، أو نتيجة لوجود بلازميدات اقترانية بأحجام مختلفة تحمل الموروثات المسؤولة عن المقاومة لهذه المضادات . اما مضاد اللنكومايسين ، فقد أظهرت 100% من: *Aeromonas hydrophila*، *Aeromonas schubertii* ، *Aeromonas caviae* ، *Aeromonas eucrenophila* ، 50% من *Aeromonas sobria* مقاومة لهذا المضاد ، وتعزى هذه المقاومة إلى حدوث طفرات كروموسومية تؤدي إلى تغير الموقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد وهو الرايبوسوم البكتيري S 50 . يتضح من النتائج المبينة في جدول (4) إن الأنواع البكتيرية قيد الدراسة قد أظهرت صفة المقاومة المتعددة لأكثر من مضاد حيوي وتراوحت بين المقاومة لخمسة مضادات حيوية في العزلات *Aeromonas eucrenophila* ، *Aeromonas sobria*، *Aeromonas hydrophila* الى 14 مضاداً حيوياً كما في العزلة (AR_9) *Aeromonas eucrenophila* . إن بكتريا *Aeromonas* بأنواعها المختلفة تتميز بمقاومتها لمضادات البنسيلينات والسيفالوسبورينات ، لقدرتها على إنتاج العديد من أنزيمات البيتالاكتاميز المختلفة [17] . أصبحت مشكلة تعدد المقاومة الموجهة ضد المضادات الحيوية من المشاكل الجديرة بالاهتمام ، لما تسببه من فشل العلاج المستعمل في الحالات المرضية المختلفة ، مما يكون سببا يهدد حياة المريض .

المصادر

1. Merino, S.;Rubires, X.; Knochel, S.; and Tomas, J.M.(1995). Emergingpathogens: *Aeromonas spp*. .Int .J.Food Microbio l.28 (2) 157-68.
2. Yadav, A.S.; and Kumar, A. (2000). Prevalence of enterotoxigenic motile aeromonads in children, fish, milk and ice-cream and their public health significance. Southeast Asian J.31 (1):153-156.
3. .Sen,K.;and Rodgers, M. (2004) .Distribution of six virulence factors in *Aeromonas species* isolated from US drinking water utilities :a PCR identification. J.Appl .Microbio l.97 (5):1077-1083.
4. Fosse,T.; Morin,C. G.; Madinier,I.; and Labia, R. (2003). Sequence analysis and biochemical characterisation of chromosomal cav-1 (*Aeromonas caviae*) the parental cephalosporinase of plasmid- mediated AmpC Fox, cluster. FEMS Microbiol. Lett.222 (1):93-98.
5. Macfaddin, J.F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria.3ed Lippincott Williams and Wilkins.
6. Vandepitte, J.; Engba, K.K.; Piot, P.; and Heuck, C.C. (1991). Basic laboratory producers in clinical bacteriology

7. National Committee for Clinical Laboratrry Standards (NCCLs). (2002). Preformance standards for antimicrobial susceptibility testing: twelfth informational supplement (m100-s12). National Committee for clinical laboratory Standerd. Wayne.

8. Collee, J.; Fraser,A.; Marmion, B.; and Simmons, A. (1996). *Vibrio*, *Aeromonas* ,*Plesiomonas*, *Campylobacter, Arcobacter, Helicobacter*, *Wolinella*, in Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. Longman Singapore

9. Kay,B.A.;Guerrero, C.E.;and Sack, R.B. (1985). Media for isolation of *Aeromonas hydrophila* .J.Clin.Microbiol.22 (5):888-890.

10. Callister, S.M.; and Agger, W.A. (1987). Enumeration and characterization of *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas caviae* isolated from grocery store produce. Appl. Environ. Microbiol. 53 (2): 249-253.

11. Al-Mehdi,L.K.(1998) .Infantile bacterial diarrohea in relation to the type of feeding .College of science.Baghdad university.

12. Al-Agedi, R.AS.A. (2002). Study of some immune properity to enterotoxine isolated from *Aeromonas hydrophila*, M.Sc. College of science, Baghdad university.

13. Janda, J.M.; and Duffey, P.S. (1988). Mesophilic aeromonads in human disease: Current taxonomy, laboratory identification, and infectious disease spectrum. Rev. Infect. Dis.10 (5) 980-997.

14. Abbott, S.L.; Seli, L.S.; Catino, M.;Hartley, M.A.; and Janda, J.M. (1998). Misidentification of unusual *Aeromonas* species as members of the genus *vibrio:*a continuing problem J.Clin. Microbiol.36(4):1103-1104.

15. Demarta, A.; Huys, G.;Tonolla, M.;Swings, J.; and Peduzzi, R. (2004). Polyphasic taxonomic study of *Aeromonas eucrenophila* –like isolates from clinical and environmental sources. Syst.Appl. Microbiol. 27 (23): 343-9.

16. Bakken, J.S.; Sanders, C. C.; Clark, R. B.; and Hori, M. (1988) .B-lactam resistance in *Aeromonas spp.* Caused by inducible β-lactamases active against penicillins, cephalosporins and carbapenems . Antimicrob. Agents Chemother.32 (9); 1314-1319.

17. Carnahan, A.M.; Behram, S.; and Joseph, S.W. (1991b) .Aerokey II aflexible key for identifying clinical *Aeromonas* species. J.Clin. Microbiol.29 (12):2843-2849.

18. Rasmussen,w.;and Hoiby,N. (2004). Cefotaximases (CTX-Mases), an expanding family of extended-spectrum beta lactamases. Can.J. Microbiol.50 (3):137-65.