

أشكال L لنوعي *Haemophilus parainfluenzae* و *Haemophilus aphrophilus* المعزولين من المرضى المصابين بإصابات الجهاز التنفسي العلوي في مدينة الموصل

^١ أوس إبراهيم سليمان نادر و ^٢ صبحي حسين خلف و ^٣ علي صالح حسين

^١ قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

^٢ كلية التمريض ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

^٣ قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

جمعت ٢٠٠ عينة من المنطقة الأنفية - البلعومية و الفمية - البلعومية من المرضى الوافدين إلى مستشفيات السلام العام التعليمي والخنساء التعليمي للولادة بمدينة الموصل ما بين كانون الأول ٢٠٠٣ ولغاية نيسان ٢٠٠٤ ، للأعمار ما دون ٤ سنوات والى ما فوق ٤٠ سنة ومن كلا الجنسين . تمت دراسة تأثير المضاد الحيوي Vancomycin في تكوين أشكال L للجراثيم قيد الدراسة ولقد استخدم الوسط المغذي السائل (أ) بوجود تراكيز عدة من Vancomycin وعند تركيز اللقاح ١٠^٥ خلية / مل ظهر أن MIC للنوع *H. parainfluenzae* ١,٢ مايكرو غرام / مل والنوع *H. aphrophilus* ٠,٦ مايكرو غرام / مل والذي شوهدت فيه أشكال L ، عند استخدام الوسط المغذي السائل (ب) كانت MIC للنوعين عند تركيز اللقاح ١٠^٧ خلية/ مل حيث كانت ١,٢ مايكروغرام/مل و ٠,٦ مايكروغرام / مل للنوعين الأول والثاني كذلك لوحظت أشكال L عند هذا التركيز .

عند تنمية الجراثيم على الوسطين الصليبين (أ) و (ب) اللذين لقا بالتخفيفين ١٠^{-٧} و ١٠^{-٦} ، في التخفيف الأول لم تلاحظ أشكال L وذلك لعدم وجود منطقة تثبيط ولكن لوحظت في التخفيف الثاني أشكال L في منطقة التثبيط المحيطة بقرص المضاد الحيوي Vancomycin وبكمية قليلة في الوسط الصلب (أ) للنوع *H. parainfluenzae* ، ولم تظهر هذه الأشكال عند استخدام الوسط الصلب (ب) لهذا النوع وبكلا التخفيفين ١٠^{-٦} و ١٠^{-٧} ، بينما لم تظهر هذه الأشكال على كلا الوسطين الصليبين وكلا التخفيفين للنوع *H. aphrophilus* .

الكلمات الدالة: *Haemophilus aphrophilus* ، *Haemophilus parainfluenzae* ، L-Forms .

المقدمة

ويثبط أيضاً أنزيم Bacterial transglycosylase الذي يخلق طبقة الببتيدوكلايكان (١٢،١٠،٧،٦) .
ويهدف البحث إلى دراسة إمكانية تحول *Haemophilus parainfluenzae* و *H. aphrophilus* إلى أشكال L عن طريق تحفيزهما لإنتاج هذا الشكل باستخدام المضاد الحيوي Vancomycin وإجراء اختبار تأثير حجم اللقاح في التركيز المثبط الأدنى باستخدام المضاد Vancomycin مختبرياً .

المواد وطرائق العمل

جمعت ١٠٠ عينة عشوائية من المنطقة الأنفية - البلعومية Nasopharynx و ١٠٠ عينة من المنطقة الفمية - البلعومية Oropharynx للفترة ما بين كانون الأول/٢٠٠٣ ولغاية نيسان/٢٠٠٤ باستخدام مسحات قطنية معقمة (١١) . من المرضى المشخصين من قبل الطبيب المختص الذي يشك بإصابتهم من مستشفيات السلام العام التعليمي والخنساء للولادة التعليمي بالموصل .

وضعت المسحات في وسط ستيرورات الناقل Steurat Transport Medium حيث نقلت العينات إلى المختبر خلال فترة لا تتجاوز ٦ ساعات لغرض إجراء الاختبارات الخاصة ، ثم زرعت العينات على وسط آكار الدم المطبوخ وحضنت بالحاضنة في درجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤-٤٨ ساعة وبوجود ٥-١٠% CO₂ (٢،١) .

يحتوي الجهاز التنفسي للإنسان على عدد كبير ومتنوع من الأحياء المجهرية ومن ضمنها أنواع من الجراثيم التي تسبب أمراضاً منها ما يكون خطيراً على حياة الإنسان أو قد يؤدي إلى الوفاة كما تتأثر الأذن الوسطى بالجهاز التنفسي العلوي على نحو غير مباشر (٩) ، تنتقل بعدها الإصابة المجهرية من الفم إلى الجهاز التنفسي والرئتين وقد تذهب إلى مناطق أخرى من جسم الإنسان (٨) ، ومن هذه الجراثيم جنس *Haemophilus* الذي يوجد في الجهاز التنفسي العلوي ، وتستعمر أفرادها الطبقة المخاطية للإنسان والحيوان ، وتتميز بأنها مكورات عصوية صغيرة سالبة لصبغة كرام و تتميز بظاهرة تعدد الأشكال وتتمو على الأوساط الغنية (٥،٢) .

عندما تفقد هذه الجراثيم جدارها الخلوي وتتمو تتحول إلى شكل L الذي يساهم في إبقاء الأخماج التي يسببها هذا الجنس ويزيد من ثباته في الجهاز التنفسي ، وشكل L هذا وصفه معهد ليستر في لندن ، Lister Institute London لأول مرة وتتميز الجراثيم التي تصبح بهذا الشكل بأنها فاقدة لجدار الخلية الصلب ونتيجة لهذا يحدث تغير كبير في الحجم والشكل إذ تتراوح أطوالها بين ١٠-٢٠ مايكرون وأصغر حجم ٠,١ مايكرون بالطول ويتميز بمقاومته للمضادات الحيوية ولقد عزل من مرضى مصابين بأخماج جرثومية ومعالجين بمضادات حيوية ويمكن تحفيز الجرثومة على إنتاج أشكال L بتعريضها لمضاد حيوي مثبط لتخليق الجدار الخلوي مثل Penicillins, Cephalosporins و Vancomycin حيث يقوم هذا الأخير بتثبيط تخليق الجدار عن طريق ارتباطه بالجزء D-alanyl-D-alanine وبالتالي يؤدي إلى إعاقة أنزيم Transpeptidase بالارتباط ،

بعد ظهور النمو على وسط آكار الدم المطبوخ شخصت المستعمرات التي يشك بأنها تابعة للأنواع الآتية، *H. parainfluenzae* و *H. Aphrophilus* بالاعتماد على شكلها و اختبار التبعية (Sattelism) مع بكتريا *Staphylococcus aureus* و اختبار حاجتها لعاملتي X و V و اختبار اختزال النترات و اختبار الأوكسيديز و اختبار الكاتاليز و اختبار إنتاج الاندول و اختبار أنزيم اليوريز و اختبار API-NH

اختبار تأثير تركيز اللقاح على التركيز المثبط الأدنى للمضاد الحيوي Vancomycin

حضرت سلسلة تخفيف من هذا المضاد في الوسط السائل (أ) أخذ ٥ مل من التراكيز ١٠، ٥، ٢,٥، ١,٢، ٠,٦، ٠,٣، ٠,١ مايكروغرام / مل فضلاً على أنبوب سيطرة لا يحتوي على المضاد الحيوي وسحب منها ٠,٥ مل من كل تخفيف بواسطة ماصة معقمة وبيدل ب ٠,٥ مل من المعلق البكتيري المحضر مسبقاً من إضافة ١ مل من البكتريا إلى ٩ مل من وسط المرق المغذي المحضنة لمدة ٢٤ ساعة بوجود ١٠% CO₂ الذي قورنت عكارته مع الأنابيب ١ و ٢ و ٣ من أنابيب ماكفرلاند بحيث يكون تركيز البكتريا مقارب لـ ١٠^٥، ١٠^٦، ١٠^٧ كائن / مل ، بعدها حضنت الأنابيب في الحاضنة بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة بوجود ٥-١٠% CO₂ ، ثم سجلت النتيجة و ذلك عن طريق عمل مسحة من كل تخفيف وصيغه بصيغة كرام للتحري عن أشكال L و الشكل الطبيعي Normal (N) وبعدها تم قياس العكورة باستخدام جهاز المطياف الضوئي وبتول موجي ٥٢٠ نانوميتر (١٠).

اختبار تأثير أزموزية الوسط

أجرى هذا الاختبار باستخدام الوسط السائل (أ) والوسط السائل (ب) وبتركيز ١٠^٧ خلية / مل فقط لكل نوع من البكتريا وعملت مسحات لكل نوع وصيغت بصيغة كرام للتحري عن أشكال L وتقاس العكورة باستخدام الطول الموجي ٥٢٠ نانوميتر (١٠).

اختبار تأثير المضاد الحيوي Vancomycin على تكوين أشكال L لكل من *Haemophilus parainfluenzae* و *Haemophilus aphrophilus* باستخدام طريقة الأقراص

تم في هذا الاختبار تلقح كل بكتريا على وسط المرق المغذي وتحضينها في الحاضنة ٣٧م ولمدة ٢٤ ساعة وبوجود ٥-١٠% CO₂ ، بعدها نقل ١ مل من الوسط الزرع لكل نوع وأضيف إلى ٩ مل من وسط المرق المغذي لكي يصبح تخفيف البكتريا ١٠^{-١} وبعدها أخذت التخفيف وصولاً إلى التخفيف ١٠^{-٧} ، بعدها أخذت التخفيف ١٠^{-٧} و ١٠^{-٧} لكل نوع ولقحت على وسط آكار (أ) ووسط آكار (ب) ب ٠,١ مل من كل نوع من البكتريا ثم نشرت هذه البكتريا بواسطة ماسحة قطنية معقمة على سطح الوسطين أعلاه وتركت لمدة ٥ دقائق بعدها أضيفت أقراص المضاد الحيوي بوساطة ملفظ معقم وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م ولمدة ٢٤ ساعة وبوجود ٥-١٠% CO₂ ، بعدها تم التحري عن وجود مستعمرات صغيرة داخل نطاق التنشيط و عمل منها مسحات تصبغ بصيغة كرام للتحري عن أشكال L (١٠).

اختبار تأثير تركيز اللقاح على الـ MIC وعلاقته بوجود أشكال L تبين هذه التجربة حساسية البكتريا تجاه المضاد الحيوي Vancomycin وتجري باستخدام الوسط السائل (أ) وبتلاثة تراكيز للبكتريا وهي ١٠^٥ ، ١٠^٦ ، ١٠^٧ خلية / مل مع العلم أن ازموزيته هي ٣٤٠ mOsm/kg ، وباستخدام سلسلة من التخفيف المضاعفة من المضاد الحيوي ولقد ظهرت النتائج كما يأتي :

• يظهر النوع *Haemophilus parainfluenzae* على الوسط السائل (أ) وكما موضح في الجدول (١ و ٢) و الصورة (١) التي تبين أشكال L.

الجدول (١) التركيز المثبط الأدنى للنوع HPI* بالاعتماد على كمية

العكورة المقاسة بجهاز المطياف الضوئي حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin

كائن/مل	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	None	0.1µg	0.3µg	0.6 µg	1.2µg	٢,٠µg	5µg	١٠µg
10 ⁷	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+
10 ⁶	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+	+	+
10 ⁵	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-	-	-

(+) تشير إلى زيادة العكورة .
(-) تشير إلى ان العكورة قليلة جداً أو معدومة .
HPI* : *Haemophilus parainfluenzae*

الجدول (٢) الفحص المجهرى لملاحظة أشكال L وبتركيزها مقارنة

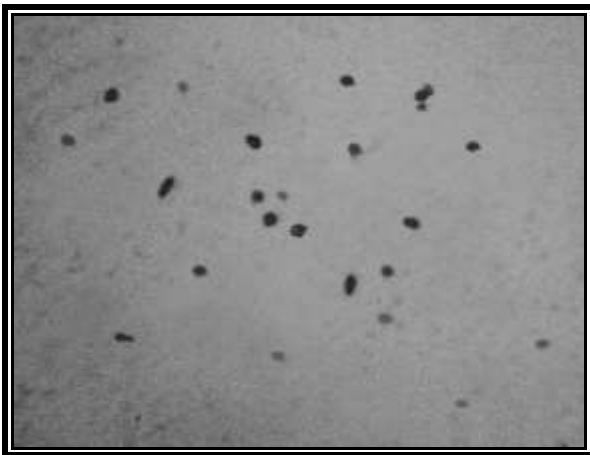
بالشكل N للنوع HPI

حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin

كائن/مل	10 ⁷	10 ⁶	10 ⁵	None	0.1µg	0.3µg	0.6 µg	1.2µg	٢,٠µg	5µg	١٠µg
10 ⁷	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L± N++	L+ N++	L++ N++	L+ N++	L+ N++	L± N+	L± N±
10 ⁶	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L± N++	L± N++	L+ N++	L++ N±	L++ N±	L++ N±	L++ N±
10 ⁵	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L- N+++	L- N++	L- N++	L± N+	L++ N-	L+++ N-	L+ N±	L± N±

(+) تشير إلى ازدياد الشكل L أو الشكل الاعتيادي N .
(-) تشير إلى قلة او انعدام أحد الشكلين .
(±) تشير إلى احتمالية وجود او عدم وجود ذلك الشكل ، أو وجوده بشكل قليل .

الصورة (١) أشكال L للنوع *Haemophilus parainfluenzae*.



الجدول (٦) الفحص المجهرى لأشكال L في النوع HPI وتركيزها مقارنة بالشكل N حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin وعلى الوسط السائل (ب).

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	L++ N±	L++ N±	L++ N±	L++ N-	L+ N+	L± N++	L± N++	L- N+++

(+) تشير إلى ازدياد الشكل L أو الشكل الاعتيادي N .

(-) تشير إلى قلة أو انعدام أحد الشكلين .

(±) تشير إلى احتمالية وجود ذلك الشكل أو عدمه ، أو وجوده قليلاً .

• النوع *Haemophilus aphrophilus* ظهرت النتيجة كما موضح في الجدول (٧ ، ٨) .

الجدول (٧) التركيز المثبط الأدنى بالاعتماد على كمية العكورة المقاسة بجهاز المطياف الضوئي بالنسبة للوسط السائل (ب) الخاص بالنوع HA حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin .

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	±	±	±	±	-	+	+	++

(+) تشير إلى زيادة العكورة .

(-) تشير إلى ان العكورة قليلة جداً أو معدومة .

(±) تشير إلى احتمالية وجود ذلك الشكل أو عدمه ، أو وجوده قليلاً .

الجدول (٨) الفحص المجهرى لأشكال L في النوع HA وتركيزها مقارنة بالشكل N حسب تراكيز

المضاد الحيوي Vancomycin .

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	L++ N±	L++ N-	L++ N-	L+ N+	L++ N-	L± N±	L± N+	L- N+++

(+) تشير إلى ازدياد الشكل L أو الشكل الاعتيادي N .

(-) تشير إلى قلة أو انعدام أحد الشكلين .

(±) تشير إلى احتمالية وجود ذلك الشكل أو عدمه ، أو وجوده قليلاً .

اختبار تأثير المضاد الحيوي Vancomycin على تكوين أشكال L لكل من *Haemophilus parainfluenzae* و *Haemophilus aphrophilus* باستخدام طريقة الاقراص

• لقع النوع *Haemophilus parainfluenzae* على الوسطين (أ) و (ب) بتخفيفين ١٠^{-٧} و ١٠^{-٦} وبعد أخذ حملة لوب من منطقة التنشيط وفحصها بالمجهر الضوئي لملاحظة أشكال L والشكل الطبيعي لها تبين ان التخفيف ١٠^{-٦} لم يظهر نطاق تثبيط ولكن عند التخفيف ١٠^{-٧} على الوسط الصلب (أ) ظهر نطاق تثبيط ، أما الوسط الصلب (ب) عند التخفيف ١٠^{-٦} و ١٠^{-٧} لم يظهر نطاق تثبيط

• النوع *Haemophilus aphrophilus* لم يظهر أي نطاق تثبيط على كلا الوسطين الصلبين و بكلا التخفيفين .

و يظهر النوع *Haemophilus aphrophilus* على الوسط السائل (أ) وكما موضح في الجدول (٣ و ٤)

الجدول (٣) التركيز المثبط الأدنى للنوع HA^٥ بالاعتماد على كمية العكورة المقاسة بجهاز المطياف الضوئي حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	+	+	+	+	+	+	++	+++
10 ⁶	+	+	+	+	+	+	++	+++
10 ⁵	-	-	-	-	-	+	++	+++

(+) تشير إلى زيادة العكورة .

(-) تشير إلى ان العكورة قليلة جداً أو معدومة .

Haemophilus aphrophilus : HA^٥

الجدول (٤) الفحص المجهرى لملاحظة أشكال L وتركيزها مقارنة بالشكل N للنوع HA حسب تراكيز المضاد الحيوي Vancomycin

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	L+ N±	L+ N±	L++ N±	L++ N±	L± N±	L± N+	L- N++	L- N+++
10 ⁶	L+ N-	L++ N±	L+ N±	L+ N±	L+ N±	L+ N±	L- N++	L- N+++
10 ⁵	L++ N-	L+ N-	L± N-	L± N-	L+ N-	L± N±	L- N++	L- N+++

(+) تشير إلى ازدياد الشكل L أو الشكل الاعتيادي N .

(-) تشير إلى قلة أو انعدام أحد الشكلين .

(±) تشير إلى احتمالية وجود أو عدم وجود ذلك الشكل ، أو وجوده بشكل قليل .

اختبار تأثير ازموزية الوسط السائل (أ) والوسط السائل (ب) على أشكال L

اجري هذا الاختبار باستخدام الوسط السائل (ب) الذي ازموزيته ١٤٤ mOsm/kg باستخدام المضاد الحيوي Vancomycin ولكن هنا يستخدم حجم اللقاح ١٠^٧ كائن/مل فقط وأظهر الوسط السائل (أ) أن الـ MIC للنوع *H. parainfluenzae* بالنسبة لهذا الحجم من اللقاح هو ١,٢ مايكرو غرام/مل التركيز المثبط الأدنى.

أما النوع *H. aphrophilus* فعند هذا الحجم من اللقاح كان الـ MIC ٠,٦ مايكرو غرام / مل.

أما على الوسط السائل (ب) فكانت النتائج بالشكل التالي :

• النوع *Haemophilus parainfluenzae* ظهرت النتيجة كما موضحة في الجدول (٥ ، ٦)

الجدول (٥) التركيز المثبط الأدنى بالاعتماد على كمية العكورة المقاسة بجهاز المطياف الضوئي بالنسبة للوسط السائل (ب)

كائن/مل	١٠ µg	5 µg	٢,٥ µg	1.2 µg	0.6 µg	0.3 µg	0.1 µg	None
10 ⁷	-	-	-	-	±	±	+	++

(+) تشير إلى زيادة العكورة .

(-) تشير إلى ان العكورة قليلة جداً أو معدومة .

(±) تشير إلى احتمالية وجود ذلك الشكل أو عدمه ، أو وجوده قليلاً .

المناقشة

بمقدار الضعف من النوع الثاني ، وهنا تجدر الإشارة إلى ان الحل الوسط في اختيار الدواء أو المضاد الحيوي يتضمن اختيار وسط ازموزي بازموزية معينة تساعد على بقاء الشكل الاعتيادي أكثر من الشكل L بالتالي يأتي دور المضاد الحيوي ليقضي على معظم الشكل الاعتيادي ويكون ذا تأثير أكبر في الجرثومة .

اختبار تأثير ازموزية الوسط السائل (أ) و (ب) على أشكال L

من ملاحظة نتيجة هذا الاختبار تبين ان التركيز المثبط الأدنى في الوسط السائل (أ) كان تقريباً مشابهاً لما حصل عليه في الوسط السائل (ب) ، مع اختلاف بسيط هو أن في الوسط السائل (أ) كان هنالك تقارب بين تركيزين بالنسبة للنوع *H. parainfluenzae* وهما ١,٢ و ٠,٦ مايكروغرام / مل بينما عند الوسط السائل (ب) كان ١,٢ مايكروغرام / مل ، والنوع *H. aphrophilus* عند الوسط السائل (أ) أيضاً أعطى تركيزين هما ٠,٦ و ٠,٣ مايكروغرام / مل وعند الوسط السائل (ب) ٠,٦ مايكروغرام / مل مع العلم بان حجم اللقاح كان ١٠^٧ كائن / مل ، هذه النتيجة متطابقة مع البحث الذي أجراه الباحث Roberts وزملاؤه (١٩٧٤)(١٠) عندما درسوا الازموزية على هذين الوسطين للنوع *Haemophilus influenzae* وتبين ان التركيز المثبط الأدنى كان ما بين ١,٢ و ٠,٦ مايكروغرام / مل وان الوسط السائل (ب) هو أقل إظهاراً للعكورة من الوسط السائل (أ) ، وبينوا ان الوسطين السائلين (أ) و (ب) حتى لو أعطوا أقل كمية للعكورة عند استخدام لقاح بكتيري قليل الكثافة ممكن ملاحظة وجود أشكال L . إن أشكال L صعبة الإنماء ويقتضي نموها وجود وسط ذي ازموزية خاصة (٥).

اختبار تأثير المضاد الحيوي Vancomycin على تكوين أشكال L لكل من *Haemophilus parainfluenzae* و *Haemophilus aphrophilus* باستخدام طريقة الأقراس

إن نتيجة هذا الاختبار توضح ان وسط الآكار (أ) عند التخفيف ١٠^{-٧} للنوع *Haemophilus parainfluenzae* أظهر وجود عدد قليل من أشكال L ضمن منطقة التثبيط، بينما النوع *Haemophilus aphrophilus* لم يظهر لديه أي شكل من أشكال L على هذين الوسطين وبالتخفيفين كليهما ، وقد يعود السبب في ذلك إلى أن هذا النوع لا يتأثر بالمضاد الحيوي Vancomycin ، ان وجود أشكال L على الوسط الصلب (أ) وبهذا التخفيف الذي ذكرناه أعلاه بالنسبة للنوع *H. parainfluenzae* يعكس الشبه بينه وبين النوع *H. influenzae* حيث لوحظت أشكال L في مناطق التثبيط تعود لهذا النوع بأعداد قليلة أيضاً وهذا ما ذكره الباحث Roberts وزملاؤه (١٩٧٤)(١٠) في دراسته هذه الأشكال للنوع *H. influenzae* .

اختبار تأثير تركيز اللقاح على الـ MIC وعلاقته بوجود أشكال L

أعطى حجم اللقاح ١٠^٥ خلية / مل للنوعين أقل كمية من العكورة وكانت عند التراكيز ١,٢ و ٠,٦ مايكروغرام / مل للنوعين *H. parainfluenzae* و *H. aphrophilus* على التوالي ، كما لوحظ تكون أشكال L لهما وهي مقارنة للنتيجة التي حصل عليها الباحث Roberts وآخرون (١٩٧٤)(١٠) عندما درسوا قدرة ثبوت أشكال L للنوع *Haemophilus influenzae* في الأوساط الازموزية وعلاقتها بالحساسية تجاه المضاد الحيوي Penicillin ، وأوضحوا بان التركيز المثبط الأدنى لهذا النوع كان ٠,٦ مايكروغرام / مل وهذا يتطابق مع النوع *Haemophilus aphrophilus* ومتقارب مع النوع *Haemophilus parainfluenzae* ومما تجدر الإشارة إليه أن الباحثان Greenwood و O'Grady (١٩٧٢ ، ١٩٦٩) (٤,٣) قد درسوا أشكال L للنوعين *Proteus mirabilis* و *Escherichia coli* ولاحظوا بان النوع *E. coli* قد تحلل بسرعة في الوسط الذي كانت ازموزيته ٢٣٤ mOsm/kg بينما بقي النوع *P. mirabilis* ثابتاً ولكنه تحلل عند الوسط الذي ازموزيته ١٥٤ mOsm/kg وهنا تجدر الإشارة إلى ان الحاجة إلى وجود وسط ذو ازموزية معينة تفيد في اجراء اختبارات الحساسية للبكتريا تجاه المضادات الحيوية وبالتالي معرفة أي مضاد أعطى تركيزاً مثبطاً أدنى وعند الفحص بالمجهر يجب ان نلاحظ وجود أقل كمية من أشكال L وهذا العدد القليل يفيد في اختيار الدواء الأكثر تأثيراً عليها ، ان لأشكال L دور في حدوث الانتكاسة في فترة النقاهة وخاصة عند بعض الأنواع التي يعود فيها الشكل L إلى الشكل الطبيعي له (١٠) .

عندما تفقد البكتريا جدارها الخلوي نتيجة التحلل بفعل أنزيم Lysozyme او عن طريق اعاقه عملية تخليق طبقة الببتيدوكلايكان بواسطة بعض المضادات الحيوية ، تنتج البروتوبلاست بالنسبة للبكتريا الموجبة لصبغة كرام والسفيريوبلاست بالنسبة للبكتريا السالبة لصبغة كرام وعند قدرة الجرثومة على النمو و الانقسام وهي فاقدة للجدار بهذه الحالة سوف تكون أشكال L ، قد تعود أشكال L إلى طبيعتها بعد ازالة العامل الذي سببها وهذا يرجع إلى وجود بقايا من طبقة الببتيدوكلايكان التي كانت موجودة أصلاً والتي تمثل البادئ الطبيعي الذي يخلق الجدار الخلوي الجديد (5) .

مما تجدر الإشارة إليه ان ازموزية القشع ما بين ١٠٨-٣٦١ mOsm/kg بمتوسط ٢٢٧ mOsm/kg ، وان أشكال L للنوع *Haemophilus influenzae* تستطيع البقاء في هذه الظروف البيئية ضمن الافرازات التنفسية ، وتسبب أشكال L الأخماج المزمنة حيث تصبح معزولة ومحمية في ناطق مختلفة من الجسم ، ومنذ أن حدثت الأخماج بهذه الأشكال أصبحت ذات علاقة بالمقاومة للمضادات الحيوية ، وأظهرت مشكلة جديدة وهي كيفية انتخاب المضاد الحيوي في علاجها (٥,١٠).

ومن البحث يتبين ان النوع *H. parainfluenzae* كان أكثر ثباتاً من النوع *H. aphrophilus* حيث ان التركيز المثبط الأدنى له كان أعلى

References

1. Alexander, S. K. and Strete, D. (2001). Microbiology: A photographic Atlas for the Laboratory. Benjamin

Cummings, An imprint of Addison Wesley Longman, Inc. pp. 125-126.

2. Collee, G. J.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone. pp. 449-455.
3. Greenwood, D. and O'Grady, F. (1969). A comparison of the effects of ampicillin on *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. J. Med. Microbiol. 2: 435-441.
4. Greenwood, D. and O'Grady, F. (1972). The effect of osmolality on the response of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* to penicillins. Brit. J. exp. Path. 53: 457-464.
5. Jawetz, E.; Melnick, J. L.; Adelberg, E. A.; Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2001). Medical Microbiology. 22nd ed. Appleton and Lange. USA. pp. 242-244.
6. Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Dowell, V. R.; Janada, W. M.; Sommers, H. M. and Winn, W. C. (1997). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed. Lippincott-Raven Publishers. USA. pp. 1383-1384.
7. Levinson, W. and Jawetz, E. (2000). Medical Microbiology and Immunology. 6th ed. The McGraw-Hill Companies. USA. pp. 126-127.
8. Mojon, P. (2002). Oral health and respiratory infection. J. Can. Dent. Assoc. 68(6): 340-345.
9. Robert, M. C. (1997). Mechanisms of antibiotic resistance in oral bacteria. APUA. News Letter. 15(2): 1,4-6.
10. Roberts, D. E.; Ingold, A.; Want, S. V. and May, J. R. (1974). Osmotically stable L forms of *Haemophilus influenzae* and their significance in testing sensitivity to penicillins. J. Clin. Path. 27: 560-564.
11. Vandepitte, J.; Engbaek, K.; Piot, P. and Heuck, C. (1991). Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. WHO. pp. 15-108.
12. Walter, J. B. and Israel, M. S. (1974). General Pathology. 4th ed. Churchill Livingstone. London. pp. 644-645.

L Forms for *Haemophilus parainfluenzae* and *Haemophilus aphrophilus* Isolated From Patients with Upper Respiratory Tract Infections in Mosul City

¹ Aws Ibrahim Sulaiman Nadir, ² Subhi Hussein Khalaf and ³ Ali Salih Hussein

¹ Department of Biology, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

² College of Nursery, University of Mosul, Mosul, Iraq.

³ Department of Biology, College of Education, University of Tikrit, Tikrit, Iraq.

Abstract

Two hundred samples were collected from naso-pharyngeal area and oro-pharyngeal areas from patients admitted to AL-Salam General Hospital and AL-Khansaa Teaching Hospital delivery at Mosul city from January 2003 till April 2004. Their ages ranged between 4>40 years for both sexes.

To study the effect of this antibiotic on the formation of the L-shape for the microorganism under study, the liquid medium (A) containing different concentration of Vancomycin and using the bacterial suspension containing 10⁵ cfu/ml and the result showed that the MIC for H. parainfluenzae was 1.2µg/ml and for H. aphrophilus was 0.6µg/ml, L-shapes were seen in these concentrations while when the liquid medium (B) used the bacterial concentration of 10⁷ cfu/ml, the MIC was 1.2µg/ml and 0.6µg/ml for H. parainfluenzae and H. aphrophilus ,respectively L-forms also seen in these concentrations.

When the solid media (A) and (B) were inoculated with 10⁻⁷ in the presence of Vancomycin , L-shape were seen in the inhibition zone round the antibiotic in a low concentration on the solid medium (A) for H. parainfluenzae, while these shapes were absent using the solid medium (B) for this bacteria in using both concentrations 10⁻¹ and 10⁻⁷, and it is absent for H. aphrophilus using the two solid media and the two concentrations.