*مقاومة بعض أنواع المضادات الحياتية لعزلات الـ Pseudomonas aeruginosa في مستشفيات مدينة الديوانية .

زينب فالح العادلي سيوف خومان الرماحي

قسم علوم الحياة _ كلية العلوم _ جامعة القادسية قسم علوم الحياة _ كلية العلوم _ جامعة القادسية

dr.Syoof al-wan @yahoo.com Zainab-hh22@yahoo.com

الخلاصة:

تناولت الدراسة جمع عينات مرضية من مصادر مختلفة بواقع 350 عينة من مستشفى الديوانية التعليمي للمدة من تشرين الثاني 2014 الى اذار 2015 وقسمت العينات بحسب مصادر جمعها الى اربعة مجموعات (162 مسحة أذن، 98 مسحة حروق ، 50 عينة قشع ، و 40 عينة ادرار) ، اذ اظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والكيموحيوية عائدية (Pseudomonas aeruginosa ، وتم تاكيد تشخيصها بواسطة API-20E .

اختبرت حساسية العزلات تجاه 6 نوع من المضادات الحيوية بطريقة انتشار القرص لـ كيربي – باور، والعائدة لصنفين من المضادات الحيوية ، اذ بينت نتائج اختبار الحساسية الاولي لعزلات بكتيريا الزائفة الزنجارية P. aeruginosa من المضادات الحيوية ، اذ بينت نتائج اختبار الحساسية الاولي لعزلات بكتيريا الزائفة الزنجارية هذه الدراسة ان هناك 32عزلة (64%) مقاومة لمضاد واحد على الأقل من مضادات الأمينوكلايكوسيدات المستعملة في هذه الدراسة والمتمثلة بمضادات (الجنتامايسين ، التوبرامايسين ، الاميكاسين ، والنتليمايسين) ، اذ كانت اعلى نسبة للجنتامايسين (64%) ، اما اظهر مضاد السبروفلوكساسين نسبة مقاومة معتدلة (20%) ، اما النورفلوكساسين فكانت نسبته (14%) .

الكلمات مفتاحية: مقاومة، المضادات الحيوية، الزوائف الزنجارية، الديوانية.

*البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول

المقدمة:

تعد بكتيريا P. aeruginosa واحدة من اهم الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام المسببة لتفشي العدوى المكتسبة من المستشفيات (1)، اذ لوحظ في كثير من الاحيان صعوبة علاج الاصابات الناتجة عن هذه البكتيريا ، لكونها تمتلك صفة المقاومة الطبيعية بالإضافة إلى قدرتها على اكتساب المقاومة تجاه العديد من المضادات الحيوية مثل الامينوكلايكوسيدات ، الفلوروكوينولينات ، ومضادات البيتالاكتام (2).

استخدمت مضادات الأمينوكلايكوسيدات بشكل واسع في علاج الاصابات الناتجة عن البكتيريا السالبة لصبغة غرام، اذ تعطى فعلا تازريا مع مضادات البيتالاكتام . ترتبط مضادات الأمينوكلايكوسيدات بالموقع A على الوحدة الرايبوسومية الصغيرة للوحدة الثانوية S في البكتيريا معرقلة بذلك تصنيع البروتين ومؤدية إلى موت الخلية البكتيرية (3 4)، اذ تحدث المقاومة لمضادات الأمينوكلايكوسيدات من خلال عدة آليات منها الإنزيمات المحورة للأمينوكلايكوسيدات (Aminoglycosides Modifying Enzymes ، أنظمة الدفق الفعالة ، بالاضافة الى فعالية انزيم 16SrRNA . تمتلك مضادات الكوينولينات طيف واسع من الفعالية تجاه البكتيريا السالبة لصبغة غرام ، فضلا عن قابلية الاختراق الجيدة وتأثيراتها الجانبية القليلة (6) ، وعليه تناول هذا البحث دراسة مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيدات والكينولينات في عزلات الزوائف الزنجارية بكتيريا P.aeroginosa المعزولة من مستشفى الديوانية التعليمي بغية تفادي المشاكل المتعلقة بالمقاومة.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات:

جمعت 350 عينة من الحالات السريرية في مستشفى الديوانية التعليمي العام للمدة من تشرين الثاني2014 الى اذار 2015 من المرضى المراجعين والراقدين في المستشفى المذكورة وبأعمار مختلفة لكلا الجنسين ، لم تكن هناك عينات بيئية إستُخدمت المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة. وبعد اجراء الأختبارات

الزرعية و الكيموحيوية تم الحصول على 50 عزلة لبكتيريا والمحمول الكيد تشخيصها بواسطة P.aeruginosa البكتيريا لغرض عزل بكتيريا معتريا البكتيريا لغرض عزل بكتيريا معتريا المحمودة أگار الدم aeruginosa المحدود المحمود الم

تشخيص البكتيريا

شخصت المستعمرات البكتيرية النامية اعتمادا على الخصائص المظهرية ، اذ لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية : أشكالها ، لونها ، سطح المستعمرات ، وجود روائح مميزة لها ، قوامها ، شفافيتها ، نمط التحلل الدموي على وسط، نمط التحلل الدموي على وسط أكار الدم ، وتخمر اللاكتوز على وسط أكار الماكونكي (7) ، التشخيص المجهري، اذ فحصت العينات مجهريا وذلك بأخذ مسحة من المستعمرات البكتيرية النامية على الأوساط الزرعية وتثبيتها وتصبيغها بصبغة كرام لملاحظة اشكال وترتيب الخلايا البكتيرية وتفاعلها مع الصبغة (موجبة أو سالبة) ، و الأختبارات الكيموحيوية ، أجريت مجموعة من الإختبارات الكيموحيوية اللازمة لتشخيص العزلات البكتيرية قيد الدراسة منها إختبار الأوكسيديز ، اختبار الكتاليز، إختبار انتاج الهيمولايسين ، إختبار فعالية إنزيم اليوريز ، إختبار قابلية الحركة ، إختبار تخمرالسكريات وانتاج الغاز ، مجموعة إختبارات IMViC مجموعة إختبارات

إختبار فحص الحساسية:

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الأقراص إعتماداً على طريقة (11، (12) ، نقل(2-4) مستعمرات من بكتيريا P. aeruginosa إلى أنبوب إختبار يحوي 5 مل من مرق تربتون الصويا المغذي وحضنت بدرجة 37 م لمدة 8 ساعات. خفف النمو الحاصل باستعمال محلول الملح الفسلجي ، تمت مقارنة النمو في الأنبوب مع أنبوبة ماكفرلاند (0.5) القياسية ، وغمست المسحة القطنية في مرق تربتون الصويا المزروع، وأزيل الفائض بالضغط على الجوانب الداخلية للأنبوبة ، نشرت

البكتيريا على وسط مولر - هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرة، وباتجاهات مختلفة لغرض التأكد من نشر البكتيريا المراد إختبار حساسيتها بالتساوي ، وتُركت الأطباق 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لضمان إمتصاص الرطوبة، وُضعت أقراص المضادات الحيوية المبينة في جدول (1) بواقع خمسة أقراص في طبق قياس

100 ملى متر، و 12 قرص في طبق قياس150 ملى متر، والمسافة بين كل قرص وآخر 20 ملى متر من مركز القرص الأول إلى مركز القرص الآخر، حُضنت الأطباق في 37 م لمدة 18 ساعة لجميع أنواع المضادات الحيوية، ثم قيست أقطار التثبيط باستعمال الفيرنيا وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في (12).

جدول (1) المضادات الحيوية المجهزة من قبل شركة Bioanalyse

التركيز/ مايكرو غرام	الرمز	اسم المضاد الحيوي	تحت الصنف للمضاد الحيوي	صنف المضاد الحيوي
30	AK	Amikacin امیکاسین		
10	CN	Gentamicin جنتامیسین		A mino alvoquidas
10	ТОВ	توبرامايسين Tobramycin		Aminoglycosides
30	NET	i viلیمایسین Netlimicin		
5	CIP	سبروفلوكساسين Ciprofloxacin	F1 ' 1	0 : 1
10	NOR	نورفلوکساسین Norfloxacin	Floroquinolones	Quinolones

النتائج والمناقشة:

شملت الدراسة الحالية جمع 350 عينة من مصادر مختلفة في مستشفى الديوانية التعليمي خلال المدة من شهر تشرين الثاني 2014 ولغاية شهر آذار 2015 وكانت مثلت نسبة (11.4%). عملية جمع العينات بشكل عشوائي للتحري عن بؤرالتلوث ببكتيريا P. aeruginosa وما يترتب على ذلك من إجراءات تشخيصية ووقائية وعلاجية ، شملت العينات السريرية حسب مصادر جمعها اخماج مختلفة منها: اخماج الأذن الوسطى 162 مسحة وبنسبة (46.2 %) والحروق 98 مسحة وبنسبة (28%) أما العينات المأخوذة المستشفى وبنسبة (40.5 %) جدول (2).

الدراسة الإحصائية:

من اخماج الجهاز التنفسي أو القشع فكان عددها 50 عينة وبنسبة (14.2 %) و اخماج المسالك البولية 40 عينة

توزعت العينات حسب جنس المريض إلى 187 عينة من الذكور مثلت نسبة (53.4%) من العينات و 163 عينة من الإناث بنسبة (46.5 %) ، من مجموع العينات مثلت عينات المرضى الوافدين نسبة (59.4%) إذ جُمعت 208 عينة في حين جُمعت 142 عينة من المرضى الراقدين في

جدول (2) توزيع العينات السريرية حسب المصدر والجنس وحالة المرضى .

النسبة%	العدد	النوع	العينات
46.2	162	الأذن	
28	98	الحروق	
14.2	50	القشع	المصدر
11.4	40	الإدرار	
53.4	187	ذكور	
46.5	163	إناث	الجنس
59.4	208	الوافدين	
40.5	142	الراقدين	حالة المرضى

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن سلالات بكتيريا P. الفحص المجهري الخلايا البكتيرية المعزولة عصوية الشكل متحركة مفردة أو ثنائية الترتيب سالبة لصبغة غرام . بينت المرتبطة بالمستشفيات ، إذ إن من الظواهر الشائعة في الأوكسيديز واختبار الكتاليز في جميع العزلات وذلك لقدرة البكتيريا ، التي لها القابلية على استعمار مواقع مختلفة من البكتيريا على انتاج انزيمي الأوكسيديز والكتاليز . اما الجسم ، اذ تفضل المناطق الرطبة مثل : الاغشية المخاطية للانف ، الاذن ، الحلق ، الادرار ، بالاضافة الى السترات) ، كانت النتيجة موجبة في اختبار استهلاك البراز (١٤) .

العزل والتشخيص

كان الهدف الاساس من جمع العينات هو عزل بكتيريا .P وشُخصت العزلات اعتماداً على الصفات المظهرية للمستعمرات النامية إذ ظهرت على وسط أگار الماكونكي شاحبة عديمة اللون لعدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز الموجود في الوسط الزرعي ولها رائحة شبيهة برائحة العنب المتخمر بينما ظهرت مستعمراتها بلون غامق وأغلبها محاطة بهالة شفافة على وسط أگار الدم مما يدل على قدرتها على تحلل الدم . أظهرت نتائج

متحركة مفردة أو ثنائية الترتيب سالبة لصبغة غرام . بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية نتائج موجبة لإختبار الأوكسيديز واختبار الكتاليز في جميع العزلات وذلك لقدرة البكتيريا على انتاج انزيمي الأوكسيديز والكتاليز . اما بالنسبة لمجموعة إختبارات IMViC والتي شملت اختبارات : (الأندول ، احمر المثيل ، فوكس بروسكاور ، واستهلاك السترات) ، كانت النتيجة موجبة في اختبار استهلاك السترات فقط ، اتصفت جميع العزلات بعدم قدرتها على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S وانزيم اليوريز و أنها غير مخمرة للسكروز واللاكتوز ، استخدمت شرائط P. aeruginosa في تأكيد تشخيص بكتيريا API20E ، يبين (جدول 3) التشخيص المظهري والكيموحيوي للعزلات البكتيرية ، اذ كان عدد العزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام 114 عزلة وبنسبة تواجد (32.5 %) ، بينما كان عدد العزلات الخالية من النمو البكتيري او الملوثة اثناء الزرع 186 عزلة وبنسبة (53.1%) .

جدول (3) توزيع عزلات P. aeruginosa والعزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام حسب مصدر جمع العينات.

عددالعينات الخالية من النمو البكتيري	عددالعزلات السالبةوالموجبة لصبغة غرام	عددعزلات P . aeruginosa	العددالكلي للعينات	المصدر
(% 49.3) 80	(%33.9) 55	(% .16 6) 27	162	الأذن
(% 52) 51	(% 34.6) 34	(% 13.2) 13	98	الحروق
(% 58) 29	(% 30) 15	(% 12) 6	50	القشع
(% 65) 26	(% 25) 10	(% 10) 4	40	الإدرار
(%53.1)186	(% 32.5)114	(% 14.2) 50	350	المجموع

وجاءت نتائجنا مقاربة لما توصل إليه (11) ، فقد سجل عدد العزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام 112 عزلة بنسبة (31.6)) للعزلات الخالية من النمو البكتيري او الملوثة اثناء الزرع .

انتشار وتوزيع بكتيريا P. aeruginosa في العينات السريرية:

بلغ عدد عزلات بكتيريا P. aeruginosa بلغ عدد عزلات مجموع 350عينة وبنسبة تواجد بلغت 14.2 % (جدول 3) ، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (15) في مدينة ميسان ، اذ حصل على نسبة عزل 14.8% من العينات السريرية لبكتيريا P.aeruginosa وجاءت النتائج مقاربة الى ما سجله (16) في الهند ، اذ بلغت نسبة 17% من العينات السريرية لبكتيريا P.aeruginosa بينما لا تتفق نتائجنا مع ما توصل اليه (17 ، 18) الذين أشارو الى ان نسبة العزل لبكتيريا من حالات سريرية مختلفة كانت P.aeruginosa 76.2% ، 51 %على التوالي . أظهرت نتائج الدراسة P. aeruginosa الحالية أن أعلى نسبة عزل لبكتيريا كانت من اخماج الأذن الوسطى بنسبة 16.6 % (جدول (3) ، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل (19) ، الذين أشاروا الى ان نسبة عزل هذه البكتيريا كانت 16% من اخماج الأذن الوسطى في مستشفيات بغداد ، و كانت النتائج مقاربة الى ما حصل عليه (20)، اذ سجل نسبة عزل 13.9 % في مستشفيات النجف ، لا تتفق نتائجنا مع ما حصل عليه (14) ، اذ عزل بكتيريا P. aeruginosa من اخماج الأذن الوسطى بنسبة 25% في مستشفيات

الناصرية . ويمكن إن يعزى هذا الاختلاف في نسب العزل الى الاختلاف في المستوى الاجتماعي والاقتصادي للعينات ، المنطقة الجغرافية ، والثقافة الصحية لدى المصابين. اوضحت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة عزل P. aeruginosa من اخماج الحروق بلغت بكتيريا 13.2 % (جدول 3) ، كانت النتائج مقاربة الى ما توصل اليه $^{(21)}$ ، اذ سجل نسبة عزل 15% من اخماج الحروق ، اما (22) ، فقد سجلوا أعلى نسبة عزل 29% من اخماج الحروق . وتكمن خطورة نسبة العزل بدرجة الاصابة وغالبا ما تؤلف بكتيريا P. aeruginosa نسبة عالية من حالات الحروق على مستوى دول العالم ، ويرجع السبب في ذلك الى مقاومة هذه البكتيريا للمضادات الحيوية والمطهرات (23) ، فقد أشارت أحصائية منظمة الصحة العالمية (24) إلى إدراج 80% من حالات حروق الدرجة الثانية سبباً في حدوث الوفيات وبنسب عالية جداً لكون الوسائل الدفاعية للمصابين مخترقة وأقل قدرة على المقاومة. لذلك يمكن الاستنتاج بان نسبة عزل بكتيريا . aeruginosa من اخماج الحروق في الدراسة الحالية لا تخلو من الخطورة على الرغم من ان شعبة الحروق في مستشفى الديوانية التعليمي خاضعة لرقابة مشددة ، إذ إنخفض معدل التهابات الحروق للمصابين الراقدين بشكل ملحوظ لكن ما تزال العدوى البكتيرية تهدد المصابين P. aeruginosa بالحروق الشديدة .إن نسبة عزل بكتيريا من اخماج الجهاز التنفسي (القشع) كانت 12% (جدول 3) ، ويمكن عدها ضمن نطاق النسب المتعارف عليها في الدراسات الاخرى التي اجراها (20)، اذ سجل نسبة عزل 14.2% من القشع ، وفي دراسة اجريت في ايران

P. الذين أشاروا الى ان نسبة عزل بكتيريا Paeruginosa من القشع كانت 9% ، يُعزى الإختلاف في نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات الاخرى إلى اختلاف الموسم الذي جمعت فيه العينات ، التدابير الصحية ، واختلاف المرضى. تعد بكتيريا P. aeruginosa من اهم العوامل الممرضة التي تصبيب الجهاز التنفسي عند مرضي التليف الكيسى والامراض المزمنة وأمراض نقص المناعة ويحمل الاستعمار المبكر للرئة إنذارا سيئا مسببا الوفاة $^{(25)}$ لاكثر من $^{(25)}$ من مرضى الإخماج الرئوية اوضحت نتائج الدراسة الحالية أن بكتيريا P. aeruginosa هي احد المسببات الرئيسية في تكوين اخماج المسالك البولية اذ كانت نسبة عزلها من الادرار (10%) (جدول 3) ، وقد اشارت الى هذه الحقيقة انفا (²⁶⁾، بان بكتيريا P. aeruginosa الممرض الانتهازي الرابع المسبب لاخماج المسالك البولية . تتفق نتائج هذه الدراسة مع الدراسات المحلية الاخرى التي اجراها (27) ، اذ سجل نسبة عزل 10% من الادرار ، كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (²⁸⁾ ، الذين أشاروا الى ان نسبة عزل البكتيريا كانت %10.5 من الادرار في الولايات المتحدة ، لكنها لاتتفق مع ما توصل اليه (29) ، إذ

بلغت نسبة العزل من الادرار 6% ، كما تعد بكتيريا P. aeruginosa الممرض الثاني والاكثر ترددا بين البكتيريا السالبة لصبغة غرام بنسبة 16.3% للمرضى الذين يعانون من اخماج المسالك البولية في الولايات المتحدة ⁽³⁰⁾ .

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

أجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية والبالغة (6) مضادات ، اذ اختيرت هذه المضادات لشيوع استعمالها في P. الأخماج الناتجة عن الإصابة ببكتيريا aeruginosa والجدول (4) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لهذه البكتيريا تجاه المضادات المستعملة وبالإعتماد على نتائج الفحص (قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد الحيوي) ومقارنتها مع الجداول القياسية وبحسب ما جاء في(12)، وذلك لمعرفة مدى مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية المستعملة في مستشفيات مدينة الديوانية وخطورة تلك المقاومة التي تمتد لتشمل طيفاً واسعاً من المضادات المختلفة.

جدول (4) نسب عزلات P. aeruginosa الحساسة و المتوسطة الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية قيد الدراسة.

العزلات المقاومة		العزلات متوسطة الحساسية		العزلات الحساسة		المضادات المستخدمة
النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	
26	13	14	7	60	30	Amikacin
64	32	12	6	24	12	Gentamicin
48	24	18	9	34	17	Tobramycin
30	15	20	10	50	25	Netlimicin
20	10	18	9	62	31	Ciprofloxacin
14	7	22	11	64	32	Norfloxacin

عزلات P. aeruginosa لمضادات الأمينوكلايكوسيدات التي كانت والى وقت قريب العلاج الأمثل للإصابات ببكتيريا P. aeruginosa ، إذ تبين إن نسبة المقاومة في

سجلت الدراسة الحالية ارتفاع ملحوظ في نسب مقاومة العزلات قيد الدراسة مرتفعة نسبياً للمضاد الحيوى جنتامايسين حيث بلغت 64% ، تلتها نسبة مقاومة 48% لمضاد توبرامايسين ، وجاءت النتائج مقاربة الى ما سجله (27) ، اذ كانت نسبة المقاومة لمضاد جنتامايسين 60% ،

ومقاربة الى ما حصل عليه (3) ، اذ كانت نسبة المقاومة 66.6% لمضاد جنتامايسين ، وكذلك مقاربة الى ما توصل اليه (31)، اذ سجل نسبة مقاومة 50.9% لمضاد توبرامايسين ، لكنها لا تتفق مع ما توصل اليه (32) ، اذ سجل نسبة مقاومة عالية لمضاد جنتامايسين بلغت 95% ، كما لا تتفق مع ما سجلته دراسة (⁽³³⁾ للمضادين جنتامايسين وتوبرامايسين ، اذ سجلت الدراسة نسبة مقاومة 10% لكل منهما . بينما اظهرت الدراسة الحالية نسبة مقاومة لمضادى الاميكاسين والنتايمايسين بلغت 26% و 30% على التوالى . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (34)، اذ كانت نسبة المقاومة لمضاد الاميكاسين 28% ، وكانت النتائج مقاربة الى ما حصل عليه (36 ، 36) الذين أشارو إلى أنّ نسب المقاومة لمضاد الاميكاسين كانت 22% و 30% على التوالي. كما كانت مقاربة الى ما توصل اليه (14) ، اذ وجد إن نسبة المقاومة التي أبدتها P. aeruginosa تجاه مضاد النتليمايسين كانت 20% ، في حين اشار (37) في دراسته إن نسبة المقاومة لمضاد النتليمايسين بلغت 10.1% . إن الآلية الرئيسة في مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيدات تعود إلى وجود الإنزيمات المحورة للأمينوكلايكوسيدات (AMEs) ، وغالبا ما تكون مستويات المقاومة العالية ضد هذه 16S rRNA المضادات مرتبطة بانزيم المثليز methylase فضلا عن آلية الدفق وتقليل نفاذية الجدار الخارجي (38) . كما يمكن تفسير نسبة المقاومة العالية التي أبدتها عزلات P. aeruginosa لمضادات الأمينوكلايكوسيدات في الدراسة الحالية الى الإستخدام

العشوائي لهذه المضادات الحيوية إلى جانب ذلك التطور في المقاومة الذي احدثته هذه البكتيريا بسبب استخدام جرع تحت علاجية ساهمت في ظهور عزلات طافرة (39) ، وبالرغم من شيوع المقاومة العالية لمضادات الأمينوكلايكوسيدات إلا إن هذه المضادات لا زالت تستعمل في علاج الأخماج البكتيرية وخاصة الأخماج الناتجة من بكتيريا P. aeruginosa سجلت الدراسة P. aeruginosa التي ابدتها بكتيريا لمضادات الفاوروكوينولينات والتي عرفت بفعاليتها العالية في مقاومة نمو هذه البكيتريا ، اذ كانت نسبة المقاومة تجاه المضاد الحيوي سبروفلوكساسين (20%) بينما كانت نسبة المقاومة لمضاد نوروفلوكساسين (14%) . تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه (41)، اذ وجد إن نسبة المقاومة لمضاد سبروفلوكساسين (18%) ، في حين ذكر (14) ، ان نسبة المقاومة لمضاد سبروفلوكساسين ((14)%) ونسبة المقاومة لمضاد نوروفلوكساسين (30.8%) . لا تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ما اشار اليه (20) ، اذ كانت نسبة المقاومة لمضاد سبروفلوكساسين (73.4%) ونسبة المقاومة لمضاد نوروفلوكساسين (55.5 %). تعمل مضادات الفلوروكوينولينات على تثبيط بناء DNA البكتيري عن طريق إعاقة إنزيمDNA gyrase مثبطة بذلك تضاعف واستنساخ DNA ، أما مقاومة بكتيريا aeruginosa لهذه المجموعة من المضادات فتعود إلى حدوث طفرة في الإنزيم الهدف DNA gyrase أو بفعل نظام الدفق الخارجي (43).

References:

- [1] **Gawish**, A.; Mohammed, N.; El-Shennawy, G. and Mohammed, H. (2013). An investigation of type 3 secretion toxins encoding-genes of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in a university hospital in Egypt. J. of Microbio. and Infec. Dise, 3 (3): 116-122.
- [2] Cicek, A.C.; Saral, A.; Duzgun, A.O.; Cizmeci, Z.; Kayman, T.; Balci, P.O.; Dal, T; Firat, M.; Yazici, Y.; Sancaktar, M.; Osman Birol Ozgumus, O.B. and Sandalli, C. (2013). Screening of class 1 and class 2 integrons in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* collected from seven Hospitals in Turkey: A Multicenter Study. J. Med. Microb., 3:227-233.
- [3] Hamed, S.M.; Aboshanab, K.M.A.; Walid F. Elkhatib, W.F. and Ashour, M.S. (2013). Aminoglycoside resistance patterns of certain Gram negative uropathogens recovered from hospitalized Egyptian patients. British Microbiol. Rese. J., 3(4): 678-691.
- [4] Laureti, L.; Matic, I. and Gutierrez, A. (2013). Bacterial responses and genome instability induced by subinhibitory concentrations of antibiotics. Antibiotics., 2:100-114.
- [5] Vaziri, F.; Peerayeh, S.N.; Nejad, Q.B. and Farhadian, A. (2011). The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes (aac (6')-I, aac (6')-II, ant(2')-I, aph(3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*. Clinics., 66(9):1519-1522.
- [6] Anvarinejad, M.; Farshad, S.; Alborzi, A.; Ranjbar, R.; Giammanco, G.; and Japoni, A.(2011).Integron and genotype patterns of Quinolones- resistant uropathogenic *Escherichia coli*., Afr. J.Microbial. Res Italy. 5 (22): 3765-3770.
- [7]Winn, J. W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th

- ed., Lippincott–raven Publishers. Philadelphia, PP: 239–270. USA.
- **[8] Brown, A** . (2007). Bensons Microbiological application laboratory manual in general microbiology . McGraw –Hill Co.INC. USA . P:102 -263.
- [9] MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.
- [10] Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmiom, B. P. and Simmon, A. (1996). Mackie and McCarteny, Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone inc.; USA.
- [11] Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sheris, J. C.; and Truck, M.(1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493 496.
- [12] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22ed. Informational Supplement. 32(3).
- [13] Rossolini, G.M. and Mantengoli, E. (2005). Treatment and control of severe infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa*. Clin. Microbiol Infect., 11:17 32
- [14] Abdul-Wahid, A.A.(2014). Dissemination of Aminoglycosides Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Al-Nasseryia Hospitals. M.Sc. Thesis. College of Medicine. University of Kufa.
- [15] Aziz, Z. S. (2015). Study of carbapenems phenotypic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burns in Misan province. Journal of International Academic Research for Multidisciplinary.3(3): 2320-5083.
- [16] Upadhaya, S.; Shenoy, R.; Shetty, V.; Lamsal, A.; Lamichhane, P.; and Pokhrel, S. (2014). Multi-drug Resistant

- Pseudomonas aeruginosa Isolated from Intensive Care Burn Unit. International Journal of Biomedical Research, 5 (4): 0976-9633.
- [17] Avains, A.B. (2009). Identification of unusal pathogenic gram-negative aerobic and an aerobic. Afr. J. Med. Sci,24:135-139.
- [18] Jane , M. (2007) . Clinical investigation the prevalence and resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* in intensive care units in au niversity hospital . Turk . J . Med . Sci . 35 : 317-322.
- [19] Al-Jubori, S.S.; Al-Jabiri, H.A.; and Al-Kadmy, I. M.S. (2015). Molecular Detection of Aminoglycoside Resistance Mediated by Efflux Pump and Modifying Enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Iraqi Hospitals.. Int'l Conf. on Medical Genetics, Cellular & Molecular Biology, Pharmaceutical & Food Sciences.
- [20] Al-Shara, J.M.R. (2013). Phenotypic and molecular detecting of carbapenem resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Najaf Hospitals. Ph.D. Thesis. Faculty of Science. University of Kufa. Iraq.
- [21] Al-Muhannak, F.H. (2010). Spread of some extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of Gramnegative bacilli in Najaf. M.Sc. Thesis.College of Medicine.University of Kufa.
- [22] Iwalokun, B.A.; Akinsinde, K.A.; Lanlenhin, O. and Onubogu, C. (2006). Bacterio cinogenicity and production of pyocins from *Pseudomonas aeruginosa* species isolated in Lagos, Nigeria. Afr. J. Biotechnology. 5(11): 1072-1077.
- [23] Al-Shalchi, S.A.; Jubrael, J.M. and Krekor, A. (2001). The use of RAPD-PCR atyping method for epidemiological inrestigation of *Pseudomonas aeruginosa*. The second conferencein Medical and Biological Sciences, 157-158.

- [24] World Health Organization, WHO. (2002) .Prevention of hospital-acquired infections. Geneva, Switzerland . P.72.
- [25] Fergie, J.E.; Shama, S.J.; Lott, L.; Crawford, R.; and Patrick, C.C.P. (1994). *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia in immunocomporomised children: analysis of factors associated with apoor outcome. Clin. Infect. Dis., 18: 390-394.
- [26] Fayroz-Ali, J.M.H. (2012). Detection of quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from patients with significant bacteriuria in Najaf Province. Ph.D. Thesis. Sc.University of Babylon. Iraq.
- [27] Al-Kabei, M.N.H.(2009). Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages Infecting *Pseudomonas aeruginosa*. M.Sc. Thesis. College of Sciences, Al-Qadisiya University.
- [28] Raja, N.S.and Singh, N.N. (2007). Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital. J. Microbiol.Immunol. Infect.,40:45-49.
- [29] Al-Fatlawi, A.F.(2012). Detection of some Extended Spectrum Beta Lactamases Genes in *Escherchia coli* and *Klebsiella spp*. Isolated from Colon and Bladder Cancer Patiants in Al-Diwania City . M.Sc. Thesis. College of Medicine, Al-Qadisiya University.
- [30] Gaynes, R. and Edwards, J. R. (2005). Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli. Clin. Infect. Dis., 41:848-854.
- [31] Mahmoud, A. B.; Zahran, W. A.; Hindawi, G. R.; Labib, A. Z.; and Galal, R. (2013). Prevalence of multidrugresistant *Pseudomonas aeruginosa* in patients with nosocomial infections at a University Hospital in Egypt, with special reference to typing methods. Journal of Virology & Microbiology: 13.
- [32] Naqvi, Z.A.; Hashmi, K.; Rizwan, Q. and Kharal, S.A. (2005). Multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*: A

- nosocomial insection treat in burn patients. Pakistan Journal of Pharmacology., 22(2):9-15.
- [33] Varaiya A, Kulkarni K, Kulkarni M, Bhalekar P, & Dogra J. (2007) Incidence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in ICU patients. *Department of* Microbiology, S.L.Raheja Hospital, Mumbai, India.
- [34] Sivaraj, S.; Murugesan, P.; Muthuvelu, S.; Purusothaman, S. and Silambarasan, A.(2012). Comparative study of *Pseudomonas aeruginosa* isolate recovered from clinical and environmental samples against, 4 (3): 975-1491.
- [35]Haldorsen, B.C. (2011).Aminoglycoside resistance in clinical Gram-negative isolates from Norway.M.Sc. thesis in medical biology. Norway. University of Tromso.
- [36] Kim, J.Y.; Park, Y.J.; Kwon, H.J.; Han, K.; Kang, M.W. and Woo, G.J. (2008). Occurrence and mechanisms of amikacin resistance and its association with b-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: a Korean nationwide study. J Antimicrob Chemother. 62:47983.doi:10.1093.
- [37] Raja, N.S.and Singh, N.N. (2007). Antimicrobial susceptibility pattern of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a tertiary care hospital. J. Microbiol.Immunol. Infect.,40:45-49.
- [38] Aghazadeh, M.; Hojabri, Z.; Mahdian, R.; Nahaei, M.R.; Rahmati, M.;

- Hojabri, T.; Pirzadeh, T. and Pajand, O. (2014). Role of efflux pumps: MexAB-OprM and MexXY (-OprA), AmpC cephalosporinase and OprD porin in non-metallo-β-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis and burn patients. Infection, Genetics and Evolution. 24:187-192
- [39] Magnet, S. and Blanchard, J.S. (2005). Molecular insights into aminoglycoside action and resistance. Chem. Rev., 105(2):477–498.
- **[40] Poulikakos**, P. and Falagas, M.E. (2013). Aminoglycoside therapy in infectious diseases. Expert Opinion on Pharmacotherapy., 14(12):1585-1597.
- [41] DeMiguel Martinez, I.;Del Rosario Quintana, C.; Bolanos, Rivero, M. and Ramos Macias, A. (2005). Aetiology and therapeutic considerations in chronic otitis media. Analysis of a 5 years period. Acta. Otorrinolaringol. Esp. 56 (10): 459 462.
- [42] Martinez, J. L. and Baquero, F. (2002). Interactions among strategies associated with bacterial infections: Pathogenicity, epidemicity and antibiotic resistance. C. M. R. 15 (4): 647 679.
- [43] Sheng, W.H.; Chen, Y.C.; Wang, J.T.; Chang, S.C.; Luh, K.T. and Hsieh, W.C. (2002). Emerging fluoroquinolone-resistance for common clinically important gram negative bacteria in Taiwan. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 43:141–147.

*Dissemination of some Antibiotic Resistance in *Pseudomonas* aeruginosa Isolates in Al-Diwaniya Hospitals.

Zainab Falh Aladily

Syoof Khowman. Alramahy

Biology Department - College of Sciences - AL- Qadisiya University

Zainab-hh22@yahoo.com

dr.Syoof al-wan @yahoo.com

Abstract

Pseudomonas aeruginosa is one of the primary opportunistic pathogens responsible for nosocomial infections. Aminoglycosides and quinolones are an important component of antipseudomonal chemotherapy. The inactivation of aminoglycosides by modifying enzymes and 16S rRNA methylase are the most common mechanisms of aminoglycoside resistance, As for The inactivation of quinolones by occurrence of mutation encoded in the genes for the production of DNA gyrase and Topoisomerase-IV enzymes. The goal of the present study was to investigate the occurrence of aminoglycoside and quinolones resistance and the incidence of important modifying enzyme and 16S rRNA methylase genes in P. aeruginosa isolates in Al-Diwaniya Teaching Hospital.

The samples of the study were collected from various sources and they were 350 samples from ear, burn, sputum, and urinary tract infections were examined for the detection of *P. aeruginosa* in Al-Diwaniya Teaching Hospital for the period from November 2014 to March 2015, the results of cultural and biochemical tests showed that 50 isolate belong to *P. aeruginosa* and their diagnosis were confirmed by API-20E.

The antibiotic resistance profiles of the all isolates were determined by disk diffusion method of Kirby-Bauer against six antipseudomonal agents belonging to two classes. A total of 50 (14.2%) isolates of *P. aeruginosa* were identified in the study period . Thirty-two (64%) isolates were found to be resistant to at least one aminoglycosides tested; with gentamicin being the highest (64%) and amikacin (26%) the lowest. Moderate resistance rates were exhibited against ciprofloxacin (20%) and norfloxacin (14%).

Key Words: Resistance, Antibiotics, Pseudomonas aeruginosa, Al-Diwaniya.

* The Research is a part of on MS.C. Thesis in case the first researcher.